

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dottorato di ricerca in:
PRODUTTIVITÀ DELLE PIANTE COLTIVATE
Curriculum: *Biologia delle specie mediterranee*
(XXVI ciclo: 2005-2008)

LUCIA RAGUSA

Attività per l'innovazione dei prodotti orticoli per
tratti funzionali

Dissertazione finale

Tutor: *Chiar.mo Prof. Ferdinando Branca*

Coordinatore: *Chiar.ma Prof.ssa Daniela Romano*

INDICE

<i>Presentazione</i>	<i>pag.</i>	4
1. Parte Generale	“	9
1.1 Gli ortaggi e la salute umana	“	9
1.2 Innovazione di prodotto	“	24
1.2.1 La biodiversità orticola spontanea e coltivata	“	24
1.2.2 Le colture ortive maggiori	“	36
1.2.3 Le colture ortive minori	“	40
1.2.3.1 Il Cavolo da foglia	“	43
1.3 I prodotti di IV gamma	“	49
1.3.1 Caratteristiche del prodotto	“	53
1.3.2 Effetti della temperatura e dell'atmosfera di conservazione del prodotto	“	64
1.3.3 Tecnologie di confezionamento	“	76
1.3.4 I Germinelli	“	83
1.4 Composti antiossidanti e funzioni nutraceutiche	“	89
1.4.3 I Glucosinolati	“	94
1.4.4 I Polifenoli	“	100
1.4.3 I Carotenoidi	“	110
1.4.4 Le Vitamine	“	117
2 Parte Sperimentale	“	124
2.1 Premesse ed obiettivi generali	“	124
2.2 Articolazione delle prove	“	128
2.2.1. Analisi della diversità bio-morfologica delle principali tipologie di cavolo da foglia diffuse in Europa	“	133
2.2.1.1. Presentazione della problematica	“	133
2.2.1.2. Materiali e metodi	“	136
2.2.1.3. Risultati e discussione	“	138

2.2.2. Analisi della diversità bio-morfologica e nutraceutica delle principali tipologie di cavolo da foglia diffuse nelle aree di maggiore diffusione della coltura in Europa	pag.	156
2.2.2.1 Presentazione della problematica	“	156
2.2.2.2 Materiali e metodi	“	158
2.2.2.3 Risultati e discussioni	“	164
2.2.3. Valutazione agronomica di due tipologie differenziali di cavolo da foglia coltivate in Sicilia	“	202
2.2.3.1 Presentazione della problematica	“	202
2.2.3.2 Materiali e metodi	“	204
2.2.3.3 Risultati e discussione	“	207
2.2.4. Valutazione delle principali caratteristiche del cavolo da foglia prodotto in IV gamma in rapporto ad alcune alcune variabili di processo	“	219
2.2.4.1 Presentazione della problematica	“	219
2.2.4.2. Materiali e metodi	“	221
2.2.4.3. Risultati e discussioni	“	224
2.2.5. Valutazione delle principali caratteristiche di germinelli di specie ortive diverse in rapporto ad alcune variabili di processo	“	251
2.2.5.1. Presentazione della problematica	“	251
2.2.5.2. Materiali e metodi	“	252
2.2.5.3. Risultati e discussioni	“	255
2.3. Sintesi conclusiva	“	302
Riferimenti bibliografici	“	307

PRESENTAZIONE

Il presente elaborato descrive le attività di studio e di ricerca svolte, nel corso del triennio 2008-2011, nell'ambito del XXIV corso di dottorato di ricerca in "Produttività delle piante coltivate", curriculum "Biologia delle specie mediterranee", dell'Università di Catania.

L'argomento affrontato, a suo tempo sottoposto all'approvazione del Collegio dei docenti del corso di dottorato, riguarda le strategie da attivare per sostenere l'innovazione dei prodotti orticoli per tratti nutraceutici. La scelta è apparsa coerente con i contenuti del dottorato in parola, orientato verso l'approfondimento delle conoscenze sulle relazioni tra i fattori ambientali ed i processi di crescita e di sviluppo delle piante che più direttamente soddisfano diverse esigenze dell'uomo. Le attività sono state svolte presso la sezione di OrtoFloricoltura del DISPA che fin dalla sua costituzione ha posto particolare attenzione alla valorizzazione del ricco patrimonio genetico che contraddistingue l'orticoltura siciliana.

La crescente attenzione posta dai consumatori sull'innovazione del prodotto orticolo per tratti salutistici ha fatto concentrare la nostra attenzione sul variegato patrimonio orticolo, costituito da una ampia gamma di specie, spesso neglette o sottoutilizzate, che possono sostenere il processo di innovazione in orticoltura. La tradizione orticola del nostro Paese ci aiuta in tale compito in quanto è ricca di specie minori, utilizzate soprattutto nel passato, e di specie spontanee che occasionalmente oltre ad essere raccolte e consumate dalle comunità locali vengono sporadicamente introdotte in coltura.

Le attività di ricerca hanno preso in considerazione lo studio dell'innovazione di prodotto avvalendosi sia dell'articolato germoplasma diffuso in coltura nell'Isola che delle moderne tecnologie di trasformazione alimentare. Per quanto riguarda l'ampia agrobiodiversità diffusa nell'isola l'attenzione è stata posta sul cavolo da foglia (*Brassica oleracea* var. *acephala*) mentre per quanto riguarda le moderne tecnologie l'attenzione è stata posta sulla IV gamma.

Il cavolo da foglia è sporadicamente coltivato da amatori negli orti familiari del nostro Paese, mediante l'impiego di tipologie diversificate, che nella maggior parte dei casi utilizzano materiali di propagazione autoprodotti che ben

conoscono le modalità di coltivazione e di raccolta della pianta, e di utilizzo del prodotto. Il cavolo da foglia è una variante sottospecifica della ben più nota *Brassica oleracea* che annovera altre varianti ben conosciute quali il cavolfiore (*B. oleracea* var. *botrytis*), il cavolo broccolo (*B. oleracea* var. *italica*), il cavolo cappuccio (*B. oleracea* var. *capitata*), il cavolo verza (*B. oleracea* var. *sabauda*), il cavolo di Bruxelles (*B. oleracea* var. *gemmifera*) e il cavolo rapa (*B. oleracea* var. *gongylodes*). Tale specie assume particolare interesse in Europa in quanto nell'articolato contesto ambientale che esprimono i diversi Paesi è stata accertata una ampia variabilità genetica tale da ritenerla originaria dell'ambiente mediterraneo, che ne rappresenta il centro di origine e di diversificazione (Vavilov, 1926). L'ampio polimorfismo espresso da *B. oleracea* in Sicilia, sembra giocare un ruolo determinante nell'origine e diversificazione oltre che del cavolo da foglia anche del cavolfiore e del cavolo broccolo. Tale diversità riscontrata nella nostra Isola è sostenuta principalmente dal sistema di auto-incompatibilità genetica, che contraddistingue la pianta che rende la fecondazione incrociata quasi obbligatoria per molti genotipi della specie, ma anche dalla presenza di diverse specie spontanee del genere *Brassica* contraddistinte dallo stesso corredo cromosomico ($n=9$). L'azione combinata dei suddetti fattori biologici ha favorito e continua ancora ad agevolare il flusso genico tra i genotipi coltivati, e tra questi e quelli spontanei che si rinvengono in diversi territori siciliani, determinando una pluralità di combinazioni geniche che sostengono l'ampia diversità dei genotipi di *B. oleracea* osservata in Sicilia.

Si ritiene pertanto molto probabile che nel Mediterraneo siano state avviate le prime fasi del processo di domesticazione di *Brassica oleracea* e che il cavolo da foglia rappresenti il primo risultato del processo di selezione dell'uomo che ha permesso successivamente l'origine e la diversificazione del cavolo broccolo prima e successivamente del cavolfiore.

Tale ipotesi sembra avvalorata dall'enorme variabilità che si registra in questa regione per le suddette colture che trovano riscontro e sostegno nelle tradizioni culinarie per la specificità dei corrispondenti prodotti contraddistinti da tratti morfologici ed organolettici differenziati.

Queste cultivar sono ancora oggi riprodotte dagli stessi coltivatori ed esprimono spesso un'elevata difformità agronomica che, se da un lato si concilia

con le esigenze dei mercati locali, mal si adatta con le esigenze del mercato globalizzato. Tale difformità, inoltre, impedisce l'utilizzazione dei prodotti da parte dell'industria di trasformazione; per il coltivatore locale, nell'attuale congiuntura economica, appare di maggiore interesse il collocamento del prodotto sul mercato locale o di nicchia, che esprime un particolare gradimento nei confronti dello stesso.

L'interesse per lo studio del cavolo da foglia è sostenuto oltre che dall'ampia diversità diffusa nella nostra regione, poco valorizzata nel miglioramento genetico di *B. oleracea*, anche dalle recenti acquisizioni scientifiche che evidenziano la ricca disponibilità di composti antiossidanti che sostengono la valenza nutraceutica del prodotto. L'interesse per queste ultime caratteristiche consente di elencare il prodotto del cavolo da foglia tra i cibi funzionali (*functional food*) che oltre a svolgere la tradizionale funzione alimentare svolgono quella preventiva e/o terapeutica nei confronti di diverse patologie umane. Tra le patologie in grado di controllare, quella che sembra destare maggiore attenzione è il cancro; in particolare le sostanze che svolgono questo importante controllo sono i composti glucosinolati e specificatamente la glucorafanina che si idrolizza formando il sulforafane, isotiocianato con elevata attività antitumorali. L'incremento del contenuto di tali composti nei giovani germogli e foglie di cavolo da foglia, al pari di quando sta avvenendo per cavolo broccolo e cavolfiore, è un importante obiettivo del miglioramento genetico per contribuire all'innovazione di prodotto attraverso la qualificazione della coltura.

Nell'ambito di tale quadro di riferimento è sembrato opportuno analizzare la diversità bio-morfologia delle principali tipologie di cavolo da foglia diffuse in Europa per ottenere prodotti utilizzati sia per l'alimentazione umana che per quella animale. Per i tipi maggiormente diffusi nella penisola italiana e in quella iberica, che rappresentano le aree geografiche europee di maggiore diffusione della coltura e di utilizzazione del prodotto, è stata studiata la collezione di accessioni di cavolo da foglia presente nella sezione Ortofloricoltura del Dipartimento di Scienze delle Produzione Agricole e Alimentari (DISPA) dell'Università di Catania. Per tali tipi sono state studiate le caratteristiche bio-morfologiche e nutraceutiche del prodotto al fine di individuare i tipi che presentano tratti agronomici e tecnologici di pregio che possano sostenere

l'innovazione di prodotto in orticoltura. Per due tipologie di cavolo da foglia diffuse in Sicilia, che presentano tratti bio-morfologici e nutraceutici differenziali sono state valutate le principali caratteristiche agronomiche in funzione della densità colturale.

Se da un lato l'innovazione di prodotto in orticoltura è basata sulla individuazione di specie minori e spontanee, o su entità sottospecifiche poco diffuse di specie già ampiamente utilizzate, dall'altro trae supporto dalle nuove tecnologie di trasformazione che consentono la piena valorizzazione di specie che forniscono prodotti poco adatti alla manipolazione ed alla conservazione in quanto sono tradizionalmente destinati al consumo fresco ed ai mercati locali. Negli ultimi decenni la tecnologia della IV gamma ha permesso di migliorare il mantenimento delle caratteristiche qualitative in fase post-raccolta di molte specie e cultivar minori non adeguatamente valorizzate per il consumo fresco. E' il caso di tutte le specie che forniscono prodotti rappresentati da organi vegetativi che per caratteristiche organografiche sono soggette ad attività metaboliche molto intense che determinano la rapida riduzione del turgore cellulare ed il rapido incremento della fibra. Un caso emblematico è rappresentato dalla rucola, che negli anni '90 ha fatto evidenziare la crescita esponenziale della superficie coltivata e delle corrispondenti produzioni, soprattutto perché la tecnologia di IV gamma è riuscita a contrastare i processi di senescenza dei tessuti della foglia che la rendono non commercializzabile già dopo pochi giorni dalla raccolta. A sostenere tale tecnologia sono le richieste del consumatore di prodotti pronti all'uso che ben si adattano ai ridotti tempi disponibili per la preparazione dei cibi imposti dai ritmi di vita della società odierna. Nel contempo la crescita del mercato della ristorazione collettiva ha trovato utile supporto dai prodotti di IV gamma che hanno permesso di diversificare l'offerta dei profili dietetici proposti.

Sulla base di tali considerazioni è stata avviata una linea di ricerca che ha preso in considerazione l'innovazione dei prodotti orticoli tramite l'adozione delle moderne tecnologie di IV gamma. In tale contesto il cavolo da foglia è stato studiato per la produzione di germogli e di foglie in IV gamma e sono state valutate diverse specie per la produzione di germinelli.

Per quanto riguarda il cavolo da foglia sono stati indagati gli effetti del genotipo, della temperatura e dell'atmosfera di conservazione sulla variazione

delle principali caratteristiche dei germogli e delle foglie in rapporto al tempo di conservazione.

Le caratteristiche di rusticità delle piante di cavolo da foglia consentono di ipotizzare la sua coltivazione in diversi ambienti mediante l'adozione di metodi e tecniche a basso impatto ambientale e con modesti apporti di mezzi chimici. È pertanto ipotizzabile per il cavolo da foglia la coltivazione con metodi biologici che permettano di valorizzare meglio le caratteristiche salutistiche del prodotto evitando l'utilizzo di pesticidi. Il prodotto biologico offerto da tale coltura consentirebbe, inoltre, di soddisfare una interessante nicchia di mercato che potrebbe individuare nella Sicilia una area di produzione particolarmente vocata.

Sulla base di tali considerazioni è stato ritenuto importante individuare, caratterizzare e migliorare il ricco germoplasma di cavolo da foglia tradizionalmente diffuso in coltura in Sicilia negli orti familiari e suburbani, al fine di offrire un contributo allo sviluppo della corrispondente filiera produttiva in diversi comprensori dell'Isola.

Con riferimento ai germinelli l'attenzione è stata posta oltre che sulla specie, e in alcuni casi sulle cultivar, anche sulla temperatura e sull'atmosfera di conservazione. Per quanto riguarda gli aspetti biologici sono state prese in considerazione 18 specie al fine di valutare il processo di germinazione e le principali caratteristiche morfo-biologiche e nutraceutiche dei germinelli. Per le specie che sono apparse più interessanti sono stati avviati specifici approfondimenti sull'andamento del processo di germinazione in rapporto alla temperatura al fine di definire meglio le caratteristiche del prodotto.

1. PARTE GENERALE

1.1. Gli ortaggi e la salute umana

Le nuove esigenze del consumatore ed il crescente interesse del mercato per tipologie innovative di prodotto hanno determinato negli ultimi decenni una particolare attenzione della ricerca sul miglioramento delle caratteristiche tecnologiche delle produzioni agricole.

Tra le caratteristiche ricercate dal consumatore nei prodotti agricoli emergono quelle che sostengono le virtù salutistiche degli stessi. Ciò è conseguenza delle moderne diete alimentari che hanno determinato la diffusione, soprattutto nei Paesi più sviluppati, di patologie cronico-degenerative dell'organismo umano (Ness e Powles, 1997). In questi Paesi, infatti, è stata registrata negli ultimi decenni una graduale crescita della spesa sanitaria che ha favorito un incremento dei costi per l'assistenza dei pazienti affetti da malattie cronico-degenerative. Le cause sono da ricercare nell'invecchiamento della popolazione e nella messa a punto di tecnologie sanitarie sempre più costose per sostenere le maggiori aspettative di vita della popolazione.

Numerosi studi condotti su diversi gruppi di popolazioni nel mondo, hanno documentato che l'insorgenza del cancro dipende da fattori di rischio associati allo stile di vita, come ad esempio una prolungata esposizione al fumo di sigaretta o a sostanze cancerogene presenti nell'ambiente e negli alimenti, ad una vita sedentaria e ad un'alimentazione ricca di calorie, zuccheri semplici, proteine, cibi raffinati, e povera di alimenti naturali. Il cancro può essere prevenuto evitando i comportamenti appena citati o aumentando l'esposizione a fattori benefici. Studi epidemiologici effettuati in tutto il mondo hanno dimostrato l'efficienza di numerosi composti di origine naturale nel prevenire l'insorgenza delle neoplasie maligne (Kaur e Kapoor, 2001).

Alti consumi di prodotti ortofrutticoli ostacolano la comparsa di gran parte dei tumori come quelli della bocca, della laringe, dell'esofago, dello stomaco e dell'intestino. Frutta ed ortaggi contengono sostanze fitochimiche che non svolgono una funzione nutritiva ma si comportano come scudi protettivi per il nostro organismo, poiché sono in grado di prevenire i danni al DNA associati alla

degenerazione di composti reattivi dell'ossigeno, inibire l'attivazione metabolica dei cancerogeni, modulare le attività degli enzimi detossificanti, inibire processi infiammatori e di proliferazione cellulare, indirizzando le cellule cancerose in meccanismi molecolari che portano all'arresto del ciclo cellulare o alla morte apoptotica.

L'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) ha stimato che ogni anno diciassette milioni di persone muoiono a causa di cardiopatie, ictus cerebrale, diabete, cancro, etc. Tra tutte queste condizioni patologiche, le disfunzioni cardiovascolari rappresentano la prima causa di morte dei Paesi occidentali; recentemente, purtroppo, un elevato tasso di mortalità, che non ha subito sostanziali cambiamenti nell'ultimo ventennio, vede come causa la contrazione di neoplasie maligne. Ogni anno *l'American Cancer Society* rende noti i dati statistici sui tumori che colpiscono la popolazione (incidenza, mortalità e grado di sopravvivenza) raccolti da centri, associazioni e registri istituiti su tutto il territorio statunitense.

Anche in Italia si registra tale tendenza che sembra essere correlata con la variazione della dieta alimentare che nel corso degli ultimi trent'anni è profondamente cambiata. Lo sviluppo dell'economia, i grandi mutamenti sociali, la spinta a raggiungere un più elevato tenore di vita, hanno fatto emergere la tendenza a consumare con maggior frequenza e in più larga misura quei generi alimentari un tempo considerati rari e pregiati. La possibilità di nutrirsi con una maggiore varietà e ricchezza di cibi ha portato indubbi benefici, con la scomparsa pressoché totale delle cosiddette carenze nutrizionali.

Per contro, la prevalente tendenza a mangiare più del necessario, spesso accompagnata da notevoli squilibri fra le varie componenti della dieta, ha portato gli italiani ad essere maggiormente esposti ad altri gravi rischi, come la maggiore diffusione di patologie quali l'obesità, l'ipertensione, l'arteriosclerosi, il diabete, ecc. Tutto ciò si è verificato, paradossalmente, come conseguenza dell'abbandono di quella dieta italiana tipicamente mediterranea che, per contro altri Paesi sviluppati hanno preso come modello di sana alimentazione. L'adozione, o comunque il recupero, di un adeguato comportamento alimentare si rende, dunque, necessario per prevenire e curare malattie, evitando, oltretutto, inutili sperperi per l'economia familiare (Pronk *et al.*, 2004).

La dieta mediterranea è caratterizzata dall'elevata presenza di prodotti ortofrutticoli tradizionalmente raccolti da piante coltivate negli orti familiari e suburbani delle diverse comunità rurali, notoriamente ricchi di specie e cultivar locali propagate dagli stessi agricoltori. Tali prodotti non presentano spesso una elevata qualificazione commerciale ma rispondono soprattutto ai gusti ed alle conseguenti richieste del mercato locale. Altri alimenti presenti nella dieta mediterranea provengono da piante diffuse allo stato spontaneo che spesso presentano principi attivi fitochimici farmacologicamente attivi, rappresentati soprattutto da polifenoli, saponine, lignine, tannini, etc. Molti di questi composti hanno spesso sapore amaro o sono astringenti e per tale motivo il processo di domesticazione di molte specie ha preso in considerazione la riduzione o la loro totale eliminazione (Fogliano, 2009).

I frutti e gli ortaggi consumati in passato erano molto diversificati e comunque caratterizzati da gusti molto lontani rispetto a quelli ai quali siamo ormai abituati ad assaporare nelle nostre tavole. E' il caso classico dei turioni di asparago coltivato (*Asparagus officinalis* L.) che viene comunemente consumato in Italia anche se nelle regioni meridionali del nostro Paese vengono ancora preferiti i turioni di diverse specie spontanee di asparago (*A. acutifolius*, *A. albus*, *A. stipularis*) per il loro sapore amaro che viene solo parzialmente stemperato nella preparazione di diversi piatti tipici. Per molti ortaggi quali la cicoria, la lattuga, il carciofo, il cavolo broccolo, etc., è evidente che le caratteristiche organolettiche molto distintive sono state spesso attenuate per soddisfare le esigenze di mercati sempre più ampi e globalizzati, oggi più che mai dominati dalla Grande Distribuzione Organizzata (Saccardo e Crino, 2003).

Oltre alle sostanze citate, i vegetali sono ricchi di molecole prive di valore nutrizionale ma aventi potenti attività biologiche. Tali componenti sono denominati sostanze fitochimiche e comprendono decine di migliaia di composti appartenenti a molteplici classi chimiche e a famiglie botaniche differenti. I composti fitochimici sono un gruppo disomogeneo di sostanze accomunate dalle seguenti caratteristiche:

- appartengono al regno vegetale;
- sono sostanze organiche a basso peso molecolare;

- non sono sintetizzate dall'uomo e non sono indispensabili per l'organismo;
- spesso presentano azione protettiva sulla salute se assunti a livelli significativi;
- presentano meccanismi d'azione complementari e sovrapponibili.

Tali sostanze esercitano diverse funzioni biologiche quali l'attività antiossidante, la modulazione degli enzimi detossificanti, la stimolazione del sistema immunitario, la riduzione dell'aggregazione piastrinica, la modulazione del metabolismo ormonale, la riduzione della pressione sanguigna, l'attività antibatterica e antivirale (Carratù e Sanzini, 2005).

Studi epidemiologici ed esperimenti effettuati su modelli animali, hanno dimostrato che molte di queste sostanze fitochimiche inibiscono i processi di cancerogenesi. Nel 1992 Wattenberg, dell'Università del Minnesota, sulla base dei differenti meccanismi molecolari con cui tali composti esercitavano le loro proprietà chemiopreventive, classificò queste sostanze naturali in tre distinte categorie:

1. composti che prevengono la formazione di sostanze cancerogene;
2. agenti bloccanti, che impediscono la formazione di sostanze cancerogene attraverso meccanismi di inibizione e/o meccanismi che ne inducono l'eliminazione;
3. agenti soppressori che ostacolano la formazione di neoplasie in cellule precedentemente esposte a dosi elevate di sostanze tossiche (Wattenberg, 1992).

Il nostro sistema immunitario è un potente mediatore del nostro stato di salute. Attraverso cellule specializzate definite linfociti, riesce a neutralizzare e distruggere virus e batteri. Una delle sue caratteristiche fondamentali è quello di essere finemente regolato e di essere in perfetto equilibrio con l'ambiente. Un'alimentazione sbilanciata, una vita sedentaria, la mancanza di esercizio fisico e lo stress cronico, tendono a disgregare l'immunità aumentando le probabilità di andare incontro a infezioni o al contrario di sviluppare patologie autoimmunitarie (artrite reumatoide, sclerosi multipla, tiroiditi ecc.), allergie e intolleranze.

Studi epidemiologici hanno messo in luce l'inversa associazione tra una dieta ricca di ortaggi e malattie come quelle cardiovascolari (Dauchet *et al.*, 2006;

He *et al.*, 2006) e tumorali (Riboli e Norat, 2003); è da considerare che prove cliniche che hanno utilizzato antiossidanti “nutrizionali” come vitamine C ed E hanno riportato un risultato ambiguo (Emmert e Kirchner, 1999; Hercberg *et al.*, 1999).

Tali composti assieme ad altri, quali le vitamine, i carotenoidi, i glucosinolati, etc., assumono oggi grande interesse perché esprimono proprietà antiossidanti, cioè inibiscono l'attivazione o la propagazione di reazioni a catena di ossidazione dei radicali liberi, inibendo le catene di iniziazione o rompendo le catene di propagazione, riducendo nel complesso i processi di ossidazione nel corpo umano (Namiki, 1990). Ciò avviene per esempio con la vitamina E ed i carotenoidi che ingeriti con l'alimentazione permettono di contrastare lo stress ossidativo grazie alla mancata costituzione dell'ossigeno singoletto (Krinsky, 2001; Shi *et al.*, 2001).

Del resto un numero sempre più rilevante di principi attivi impiegati in farmacologia sono estratti da piante oppure ottenuti con processi semisintetici da precursori derivati da piante. Studiosi di diverse discipline che hanno per obiettivo la salute dell'uomo pongono l'attenzione sul concetto di “functional food” ovvero dei “cibi funzionali”. Con questo termine vengono definiti i prodotti alimentari che oltre a rappresentare i tradizionali componenti della dieta alimentare sono veri e propri serbatoi di composti nutraceutici ovvero che hanno una funzione sulla salute umana. Tra questi vi sono i composti antiossidanti che svolgono un'azione chemiopreventiva nei confronti di diverse malattie cronico-degenerative. Questa classe di molecole risulta essere di notevole interesse, sia in dietologia che in farmacologia, in quanto oltre a dimostrarsi efficaci sono generalmente prive di tossicità e facili da utilizzare come integratori alimentari (Chambers e Lobb, 2007).

Oltre alle motivazioni di ordine tecnologico, biochimico e sanitario appena ricordate ve ne sono altre che inducono a porre attenzione sul miglioramento genetico delle piante agrarie, visto anche in chiave di individuazione di valide alternative alla coltivazione di specie vegetali tradizionali. Infatti, un numero crescente di agricoltori si sta rivolgendo a mercati diversi da quelli tradizionali, per esempio quelli dei prodotti di alta qualità, quali i prodotti “biologici”, quelli derivanti dalla produzione di piante officinali destinati sia al consumo diretto, sia

a quello industriale estrattivo. Tenuto conto di ciò, il nuovo concetto “nutraceutical”, unitamente a quello della sostanza di origine vegetale, da utilizzarsi direttamente come farmaco, merita di essere esplorato in tutte le sue sfaccettature: tecnologico, biochimico, di ricerca di nuove specie vegetali, di miglioramento genetico e di tecniche colturali. A questo riguardo si registra l'interesse anche dell'utilizzo negli USA del principio attivo tal quale come nel caso del sulforafane e del taxolo; il primo viene richiesto per la prevenzione dei tumori al colon-retto, il secondo per la cura del tumore al seno. La crescente diffusione dei tumori nelle popolazioni occidentali ed i recenti progressi nella comprensione dei meccanismi molecolari della carcinogenesi, hanno indotto a sviluppare specifiche strategie di chemioprevenzione che si prefiggono l'obiettivo di prevenire, ritardare o contrastare la comparsa della patologia tumorale (Jeffery e Keck, 2008). L'*American Institute for Cancer Research* ed il *World Cancer Research Fund* hanno reso noto che oltre il 30% dei tumori maligni potrebbe essere ridotto o annullato, aumentando il consumo dei prodotti ortofrutticoli nella dieta e molti studi epidemiologici hanno dimostrato una correlazione negativa tra l'assunzione di frutti ed ortaggi e le malattie cronic-degenerative (Papap, 1999). In Italia, il Ministro della Sanità ha di recente dichiarato che ogni anno vengono diagnosticati 300.000 nuovi casi di tumore nella popolazione e 150.000 sono gli individui che muoiono a causa di questa patologia. La crescente diffusione di questa patologia degenerativa nella popolazione, ed i recenti progressi nella comprensione dei meccanismi molecolari della cancerogenesi, hanno indotto a sviluppare la chemioprevenzione quale promettente strategia per ritardare o contrastare la comparsa della patologia (Jeffery e Keck, 2008).

Molti studi epidemiologici hanno indicato che un'elevata assunzione di ortaggi è associata ad una riduzione del rischio di alcune malattie croniche, come arteriosclerosi e cancro (Gosslau e Chen, 2004; Gundgaard *et al.*, 2003; Hashimoto *et al.*, 2002; Kris-Etherton *et al.*, 2002; Law e Morris, 1998; Temple, 2000). Effetti protettivi sembrano essere determinati dai trattamenti combinati con selenio (50 mg), β -carotene (15 mg) e vitamina E (tocoferolo, 30 mg), che riducono l'incidenza e la mortalità del cancro all'esofago ed all'intestino (Greenwald *et al.*, 2001; Virtamo *et al.*, 2003). E' stato evidenziato che le donne sono maggiormente colpite dal cancro al seno, ai polmoni, al colon, all'utero, alle

ovaie ed alla pelle, mentre gli uomini sono maggiormente soggetti al cancro alla prostata, ai polmoni, al colon ed alla pelle (ACS statistics, 2004; Berrino *et al.*, 2003). Età e patrimonio genetico determinano la suscettibilità a queste malattie, ma la maggior parte dei tumori sono considerati prevenibili con la dieta e con uno stile di vita che consente di prevenirne la formazione degli stessi (Borek, 1997). Una riduzione del rischio di cancro al seno è stata correlata con l'assunzione di carote e di ortaggi ricchi di carotenoidi (Smith-Warner e Giovannucci, 1999).

La riduzione del rischio di cancro alla prostata pare sia correlata con l'assunzione di ortaggi appartenenti alle *Brassicaceae* (Cohen, *et al.*, 2000). Anche ortaggi afferenti al genere *Allium* quali aglio e cipolla, contengono elevate quantità di antiossidanti organosulfurici; l'aglio possiede anche elevate quantità di selenio e riduce il rischio di cancro alla prostata e quello gastrointestinale (Steinmetz e Potter, 1996; Greenwald, *et al.*, 2001; Borek, 2001). Il tè verde è particolarmente ricco di polifenoli che consentono di ridurre significativamente il rischio di cancro al seno e alle ovaie nelle donne (Wu, *et al.*, 2003; Zhang, *et al.*, 2002). Il cavolo da foglia, ad esempio, è caratterizzato da un sapore molto intenso e possiede una maggiore capacità antiossidante rispetto ai più comuni ortaggi utilizzati quotidianamente. Esso rappresenta insieme a diverse specie spontanee del genere *Brassica*, alcuni dei quali non eduli, il progenitore di molte colture ortive quali il cavolfiore, il cavolo broccolo, il cavolo di Bruxelles, il cavolo cappuccio, il cavolo rapa, il cavolo verza, etc (Cao *et al.*, 1996).

Molti metaboliti secondari sono maggiormente presenti in alcune specie piuttosto che non in altre; antocianine e carotenoidi, ad esempio, sono presenti soprattutto solo nei corimbi pigmentati del cavolfiore violetto e svolgono attività antiradicalica, in altre parole bloccano i radicali liberi coinvolti nei processi ossidativi del metabolismo animale e quindi anche umano (Acciarri *et al.*, 2004).

Grazie a degli studi è stato osservato che una dieta povera di selenio è legata ad un aumento dell'incidenza di cancro; controlli clinici hanno dimostrato effetti positivi su uomini con cancro alla pelle che assumevano 200 mg di selenio al giorno per 4-5 anni (Clark, *et al.*, 1996). Un'analisi su un campione di pazienti ha dimostrato che il selenio riduce significativamente l'incidenza di cancro alla prostata per almeno il 50% (Duffield-Lillico, *et al.*, 2003). Tale azione pare sia rafforzata mediante l'assunzione di selenio e di vitamina E, che può essere nelle

sue forme α e γ tocoferolo, ed è soprattutto quest'ultimo che manifesta una forte azione come protettore (Helzlsouer, *et al.*, 2000).

Il β -carotene non dimostra particolari effetti chemoprotettivi, ma al contrario effetti pro-ossidativi, anche se assieme ad altri carotenoidi dimostra effetti positivi nel ridurre l'insorgenza di rischio di cancro al seno. E' stata dimostrata una riduzione del 50% di insorgenza di cancro in donne con elevati livelli di β -carotene, licopene e carotene totale, in confronto a donne che assumono basse quantità di questi micronutrienti (Sato *et al.*, 2002). Diversi studiosi sostengono che un'elevata assunzione di pomodoro e di prodotti ricchi di licopene sono significativamente associati ad una riduzione di rischio di tumore alla prostata (Campbell, *et al.*, 2004). Il licopene è un potente antiossidante e il più abbondante carotenoide presente nella prostata assieme ad altri carotenoidi come fitofluene, β e γ carotene (Borek, 2005). Correlazioni negative tra livello di licopene nel plasma ed il rischio di cancro alla prostata sono state osservate soprattutto in uomini anziani che non facevano registrare pregresse malattie tumorali in famiglia (Wu, *et al.*, 2004), conferendo l'efficacia dell'assunzione di licopene nel controllo di tumori sporadici rispetto a quelli di tipo ereditario (Borek, 2005).

Studi recenti indicano che le vitamine svolgono un ruolo importante. In particolare le ricerche si sono concentrate sulle vitamine B6 e B12. È stato notato che queste due vitamine presenti soprattutto nei cereali integrali, uova e latte, svolgono una potente stimolazione contro tutte le infezioni virali e batteriche. Gli anziani vanno incontro spesso ad un loro deficit in quanto la maggiore atrofizzazione dello stomaco compromette l'assorbimento di queste vitamine. La vitamina E è stata associata ad una minore incidenza del cancro alla prostata. L'assunzione di vitamina E (10-40 mg al giorno) e vitamina C (60-500 mg al giorno) dimostrano un'associazione inversa (Fleishhauser, *et al.*, 2003).

E' stata osservata una correlazione positiva tra la densità dei capillari del muscolo e alcune sostanze fitochimiche che indirettamente migliorano l'attività complessiva dell'insulina. Questa azione indiretta viene stimolata per esempio dall'ippocastano, dal mirtillo, dal ginkgo biloba, e da diverse preparazioni a base di antociani. Per quanto riguarda il diabete l' Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) lo classifica tra le prime malattie di rilevanza socio-sanitaria sia

per la sua elevata diffusione che per le gravi complicazioni patologiche che può determinare. Nei paesi industrializzati il 3-4% della popolazione è affetto da tale patologia e per circa l'1-2% la malattia non è ancora diagnosticata, in quanto per lungo tempo questa può essere asintomatica. In Italia i diabetici sono circa 2 milioni mentre in Germania circa 4 milioni ma si prevede il raddoppiamento dei casi nel prossimo ventennio (Passa, 2002). I dati disponibili circa il costo del diabete nel nostro Paese, sono scarsi e informazioni di estremo interesse ci vengono dagli U.S.A. e da alcuni paesi europei, che da anni valutano i costi di numerose patologie per poter programmare l'erogazione delle prestazioni sanitarie. In U.S.A. dei costi annui diretti della sanità (assistenza ambulatoriale, autocontrollo, ricoveri ospedalieri, farmaci, ecc.) la maggior componente è quella che deriva dall'elevato tasso di ospedalizzazione. A tali costi vanno aggiunti quelli indiretti (perdita di ore lavorative, disabilità, invalidità, morte prematura, ecc.). Quindi complessivamente il costo dell'assistenza ai pazienti diabetici, che rappresentano, risulta essere 4 o 5 volte superiore a quello della popolazione non diabetica. Buona parte di questi costi concorrono anche a far lievitare i costi indiretti ed in periodi di crisi economica potrebbe prevalere la tentazione di tagli indiscriminati alla sanità da parte degli amministratori (Skyler e Oddo, 2002).

L'uso di piante medicinali per la cura del diabete è oggi sostenuto non tanto dalla necessità di trovare alternative ai farmaci, al fine di ridurre il livello di glucosio nel sangue, ma di riscoprire l'impiego delle piante spontanee e dei corrispondenti alimenti che tradizionalmente sono stati utilizzati in passato. Tali prodotti possono rappresentare oggi componenti dietetiche valorizzabili oltre che a fini terapeutici anche per quelli alimentari. Collip individuò nel 1923 una serie di piante che contengono sostanze che agiscono come insulino-simili anche se risultano essere meno efficaci dell'insulina pancreatico che egli chiamò glucochinine. A tali sostanze si aggiunsero i guanidinderivati, come per esempio la sintalina, che determinano una marcata riduzione dei livelli di glicemia nel plasma. Tra le piante che posseggono tali composti possiamo citare il mirtillo (*Vaccinium myrtillus*), il fagiolo (*Phaseolus vulgaris*), la cipolla (*Allium cepa*). Nonostante la scoperta di tali sostanze, che possono essere assunte mediante tisane antidiabetiche, l'uso prolungato può comportare livelli elevati di acetone o polinevrite diabetica. Le glucochinine non sono innocue perché influenzano il

metabolismo glucidico attraverso un'azione tossica sul fegato; la somministrazione prolungata di tisane di foglie di mirtillo produce gravi intossicazioni da idrochinone. Per contro i decotti di baccelli di fagiolo consentono di evitare tali rischi giungendo a ridurre il livello di glucosio nel sangue.

L'inulina è un polisaccaride, formato fondamentalmente da fruttosio, che rappresenta le sostanze di riserva di alcune piante utilizzate per l'alimentazione quali la patata americana (*Ipomea batatas*), il carciofo (*Cynara cardunculus* L. ssp. *scolymus*), la cicoria (*Cichorium intybus*), il topinambur (*Helianthus tuberosus*), la scorzonera (*Tragopogon porrifolius*), etc. Essa è insapore o leggermente dolce e l'organismo umano non la utilizza benché riesce ad attenuare la fame. Il topinambur è utilizzato quale sucedaneo dello zucchero per i diabetici (Roberfroid, 2007).

Un'altra specie utilizzata per estrarre un dolcificante per diabetici è la *Stenia rebaudiana*. Essa contiene il glucoside steroide a cui si attribuisce un potere dolcificante trecento volte superiore a quello del comune saccarosio e viene parecchio utilizzato in alimenti e le bevande soprattutto nei paesi dell'America meridionale. Da una ricerca effettuata di recente sono state censite 1.123 specie utilizzate per la cura del diabete. Su 295 piante valutate *in vitro* l'81% sono risultate potenzialmente utili per la cura del diabete con più di 200 estratti fitochimica che sono risultati ipoglicemizzanti. Comunque, la maggior parte delle piante esaminate possono essere pericolose in quanto l'effetto ipoglicemizzante può essere causato da tossicità epatica o metabolica. Per contro, vi sono piante che hanno un effetto ipoglicemizzante, compatibile ed efficace nella cura del diabete, che comunemente utilizziamo a scopo alimentare sconoscendone le virtù terapeutiche. Le sostanze fitochimiche utili per la cura del diabete possono stimolare direttamente la secrezione di insulina e migliorare la funzionalità dei suoi recettori. Alcune spezie quali la cannella, il trifoglio, l'alloro, hanno dimostrato di innescare *in vitro* l'attività dell'insulina. Tale effetto ipoglicemizzante è stato riscontrato anche con l'utilizzo di ginepro, ginseng, alcuni funghi, aneto, cetriolo, lagenaria. Il grano saraceno ed il pungitopo agiscono significativamente sulla regressione della retinopatia diabetica probabilmente a causa di un miglioramento della circolazione locale nella retina. Questi trattamenti consentono, inoltre, di ridurre i valori di trigliceridi e di

colesterolo nel sangue e di innalzare quelli del colesterolo HDL. Anche i composti antiossidanti possono giocare un ruolo fondamentale nella cura del diabete aiutando a mantenere l'integrità delle membrane cellulari prevenendo la perossidazione degli acidi grassi polinsaturi e consentendo in tal modo all'insulina di svolgere le sue normali funzioni. Un'elevata presenza di fibre nella dieta è raccomandata ai diabetici. In particolare, sono le fibre solubili, presenti in molti frutti, ortaggi e semi, rappresentate da pectine, gomme, mucillagini, che incrementano la viscosità del cibo nell'intestino, rallentando e/o riducendo l'assorbimento del glucosio. A questo riguardo una dieta ricca in ortaggi crudi o leggermente trasformati conferisce benefici al diabetico. Alcuni ortaggi che presentano elevate quantità di fibre solubili sono l'okra, la rapa, la pastinaca (Diakoumopoulou, *et al.*, 2005; Muaka *et al.*, 2010).

Il fumo delle sigarette è una tra le maggiori sorgenti di stress ossidativo. Il fumo non solo incrementa il livello di radicali liberi, ma anche impoverisce l'organismo di antiossidanti, specialmente vitamine E e C (Borek, 2005). Accanto all'azione fondamentale svolta dagli enzimi ad attività antiossidante, quali la superossido dismutasi e la glutatione perossidasi, diversi composti sono in grado di interagire con le specie reattive dell'ossigeno e di svolgere un effetto regolatore, tra questi si possono ricordare in particolare le vitamine C ed E, l'acido urico, il selenio, l'acido α -lipoico, i carotenoidi ed i flavonoidi (Rice-Evans e Packer, 1997).

Una miscela contenente entrambi gli antiossidanti acqua-solubile e lipidi-solubili è capace di ridurre il livello di radicali liberi sia nella fase acquosa che in quella lipidica (Chen e Tappel, 1996).

Fra le diverse molecole di origine vegetale con un'interessante attività biologica si possono annoverare i flavonoidi, glucosidi eterociclici aromatici, derivanti dal cromone. Essi hanno effetti antinfiammatori ed antiallergici. Questi composti sono normalmente assunti nella dieta alimentare, essendo presenti anche in quantità relativamente elevate in molti vegetali che vengono consumati allo stato fresco. Per alcuni di questi come la quercetina, il camferolo e la miricetina sono stati dimostrati effetti di inibizione dell'induzione tumorale cancerosa in animali da laboratorio. Infine, certi flavonoidi come la quercetina inibiscono le reazioni di ossidazione e la citotossicità delle lipoproteine di bassa

densità. In teoria, queste proprietà hanno conseguenze positive anche nella prevenzione delle malattie cardiovascolari (Prior, e Guohua, 2000).

Tra le sostanze antiossidanti, antinfiammatorie ed antiangiogeniche, è stata posta particolare attenzione sugli isotiocianati (ITCs) e sui loro precursori, i glucosinolati (GLs), abbondanti nella famiglia delle *Brassicaceae* che comprendono colture quali cavolo broccolo, cavolfiore, cavolo cappuccio, cavoli (rosso, bianco, cinese, ecc.), germinelli di Bruxelles, ecc. Numerosi studi hanno evidenziato che il consumo di ortaggi del genere *Brassica* diminuisce il rischio di sviluppare il cancro ed evidenze sperimentali su modelli animali, hanno dimostrato che l'effetto anticancerogeno è attribuibile soprattutto ai prodotti di idrolisi dei GLs, gli Isotiocianati. Alla famiglia delle *Brassicaceae*, si includono differenti generi, questi vegetali posseggono entrambi gli antiossidanti e le proprietà anticarcinogeniche (Cohen *et al.*, 2000; Chu *et al.*, 2002; Keum *et al.*, 2004; Paolini, 1998; Plumb *et al.*, 1996; Verhoeven *et al.*, 1997).

Le proprietà antiossidanti, antiradicaliche e antitumorali di tutte le *Brassicaceae*, sono conferite dalla presenza di composti bioattivi, i quali svolgono la funzione preventiva di alcune patologie dell'uomo oltre a quella alimentare. I composti bioattivi che svolgono la funzione preventiva sono: fitoestrogeni, glucosinolati, vitamina C, flavonoidi, cisteina e i suoi derivati solforati, antociani e carotenoidi.

La conoscenza attuale sulla presenza dei glucosinolati o dei relativi prodotti di degradazione in un dato vegetale o prodotto trasformato è ancora insufficiente. Soprattutto non si hanno precise informazioni circa il loro metabolismo nell'organismo umano e sulle molecole finali del *pathway* metabolico che possono raggiungere i tessuti target o specifiche cellule per esercitare gli effetti tossici o benefici. I glucosinolati sono gruppi di metaboliti secondari costituiti da un glicone comune (Carratù e Sanzini, 2005). Alcuni glucosinolati sono stati associati ad effetti tossici o antinutrizionali se inclusi in mangimi animali, mentre nelle *Brassicaceae* svolgono la funzione di difesa delle piante contro attacchi virali, batterici e fungini (Lewis e Fenwick, 1987; Rosa *et al.*, 1994; Jongen, 1996; Wallsgrove *et al.*, 1999; Engel *et al.*, 2002). Glucosinolati indolici come la glucobrassicina, e quelli alifatici come sinigrina e gluconapina, conferiscono l'aroma al prodotto, tale da influenzare la scelta del

consumatore (Baik *et al.*, 2003; Schonhof *et al.*, 2004). Gli isotiocianati, hanno dimostrato in modelli animali attività chemioprotettiva, sono infatti in grado di bloccare la carcinogenesi chimica (Carratù e Sanzini, 2005). A tutt'oggi sono disponibili circa 18 glucosinolati (GLs) che possono essere trasformati sia nei corrispondenti isotiocianati (ITC) con mirosinasi purificata da semi di *Sinapis alba*, sia in desulfoglucosinolati (DS-GLs) con sulfatasi purificata da un prodotto commerciale. L'attività biologica di alcuni ITC ottenuti dall'idrolisi enzimatica dei corrispondenti GLs, oltre ad essere stata saggiata nei confronti di patogeni fungini del post-raccolta e di nematodi del terreno è stata valutata, *in vitro*, anche nei confronti di alcune linee di cellule tumorali. Studi effettuati su ratti utilizzando *Brassicaceae* eduli dimostrano che esiste un effetto significativo di protezione contro la cancerogenesi indotta. Questi risultati sono confermati anche da studi epidemiologici realizzati rilevando dati riguardanti il consumo dei principali prodotti orticoli di *B. oleracea*. Un'analisi dei sistemi endogeni, sul metabolismo dei composti xenobiotici tossici e cancerogeni, rivela che quest'ultimi possono essere modificati mediante opportuni regimi alimentari a base di ortaggi contenenti glucosinolati. Alcune di queste modificazioni non sono ancora comprese a fondo. Infine, è stato dimostrato che nessuna di queste modificazioni è stata riscontrata in ratti privati di flora intestinale. Questo risultato dimostra l'importanza di questi microrganismi nel contesto delle varie interazioni che producono la protezione contro le molecole xenobiotiche da parte dei glucosinolati e dei loro prodotti di degradazione (Bernardi *et al.*, 2004; Schlathölter e Petersen, 2004).

Importante è sottolineare la perdita delle componenti antiossidanti presenti in frutta e ortaggi in seguito alla loro trasformazione, infatti è risaputo come la cottura può determinare nell'alimento la perdita di tali molecole e impoverirli quindi con riferimento ai benefici che possono conferire, ovvero quelli che sono stati ampiamente esposti in questo paragrafo (Fogliano, 2009).

Alcuni cibi contengono più di cento antiossidanti, la capacità totale antiossidante di un determinato alimento può risultare dall'integrazione e dall'azione sinergica di differenti composti (Danesi e Bordoni, 2008).

Diversi fattori, dal genotipo alle tecniche colturali (fertilizzazione, umidità, suolo, ecc.), possono determinare variazioni sulla concentrazione di metaboliti

secondari nelle piante, che esercitano, come abbiamo detto, attività antiossidante (Kalt, 2005).

E' risaputo che la qualità nutrizionale degli ortaggi dipende non solo dal contenuto dei nutrienti ma anche dalla modalità di raccolta, dalle condizioni di conservazione post-raccolta, dai processi di trasformazione e preparazione (Howard *et al.*, 1999; Nursal e Yücecan, 2000). Processi industriali sugli ortaggi come, scottatura, sterilizzazione e congelamento, ma anche cottura domestica, diminuiscono il contenuto, la composizione dei composti antiossidanti e l'attività antiossidante (Borek, 1997; Borek, 2004).

Alcuni antiossidanti come licopene ed acido ascorbico possono essere distrutti dalla lunga conservazione o da una cottura prolungata, altri come i polifenoli contenuti nel frumento o nel tè risultano essere più stabili; ancora operazioni come il taglio e affettazione possono indurre ad un rapido esaurimento enzimatico (Borek, 1997; Borek, 2004).

In generale, gli ortaggi cotti contengono meno antiossidanti di quelli crudi, poiché i processi di trasformazione possono esporre gli stessi all'ossigeno.

Frutta e ortaggi trasformati presentano una diminuzione del valore nutrizionale rispetto agli stessi allo stato fresco principalmente a causa della riduzione del contenuto di vitamina C (Dewanto *et al.*, 2002). Cottura e congelamento riducono generalmente i composti antiossidanti, ed i consumatori reputano gli ortaggi crudi maggiormente nutritivi rispetto a quelli cotti o congelati (Danesi e Bordoni, 2008). Gli ortaggi vengono trasformati per poter aumentare la loro shelf-life, ma per fare ciò la loro integrità strutturale è frequentemente alterata. Una diminuzione dei nutrienti può verificarsi durante i processi di sterilizzazione, pastorizzazione e deidratazione, ma anche durante lo stoccaggio e la cottura casalinga (Kalt, 2005).

La perdita di antiossidanti naturali potrebbe essere minimizzata o compensata dalla formazione di non-nutrienti antiossidanti come i prodotti della reazione di Maillard (Nicoli *et al.*, 1997).

Non solo frutta e ortaggi ma anche diversi prodotti come ad esempio latte o i prodotti lattiero-caseari contengono diversi antiossidanti come la caseina e la lattoferrina (Calligaris *et al.*, 2004; Steijns e van Hooijdonk, 2000).

Ogni composto antiossidante è in grado di espletare la sua attività secondo meccanismi diversi e con una diversa efficienza a seconda della sua struttura chimica e dell'ambiente in cui si trova. Per questo motivo una valutazione integrata del potenziale antiossidante può rivelarsi più importante della concentrazione dei singoli antiossidanti. Da qui l'esigenza di valutare la Capacità Antiossidante Totale di un alimento (TAC) cioè la capacità di un alimento di preservare un substrato ossidabile, inattivare una specie radicalica o ridurre un ossidante. Sulla base delle reazioni chimiche coinvolte, i principali saggi per la determinazione della capacità antiossidante possono essere suddivisi in due categorie: saggi basati sul trasferimento di un singolo elettrone (ET, electron transfer), e saggi basati sul trasferimento di un atomo di idrogeno (HAT, Hydrogen Atom Transfer). I primi misurano la capacità di un antiossidante di ridurre un ossidante il quale, in seguito alla reazione, subisce un cambiamento di colore. Tra questi vi sono, ad esempio, il metodo TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) ed il metodo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). I metodi basati sul trasferimento di un atomo di idrogeno, invece, solitamente sfruttano un generatore sintetico di radicali liberi, una sonda molecolare ossidabile ed un antiossidante, quale ad esempio il metodo ORAC (OxygenRadical Absorbance Capacity) ed il metodo TRAP (total radical-trapping antioxidant parameters). In ogni caso tutte le metodologie misurano la capacità di scavenging degli antiossidanti nei confronti dei radicali e non la loro azione preventiva volta ad impedirne la formazione (Huang, 2005).

1.2 Innovazione di prodotto

1.2.1 La biodiversità orticola spontanea e coltivata

Le specie d'interesse agrario sono arrivate ai giorni nostri attraverso un lungo processo di domesticazione delle specie spontanee, che un tempo rappresentavano l'unica fonte di cibo per l'uomo insieme alla selvaggina. Numerosi gusci e semi di frutti raccolti, come il corniolo (*Cornus mas*), la occiola (*Corylus avellana*), la mela selvatica (*Malus sp.*), la mora (*Rubus fruticosus*) e il sambuco (*Sambucus nigra*), sono stati rinvenuti nei pressi di alcuni villaggi risalenti al Mesolitico nel Nord Italia, suggerendo l'ipotesi che tali prodotti era attivamente raccolti in natura a scopo alimentare (Castelletti, 2001). L'avvento delle attività agricole (VIII-VII millennio a.C.) non fece abbandonare del tutto la fitoalimurgia, come dimostra l'abbondante presenza di ritrovamenti di ortaggi spontanei in siti del Mesolitico e del primo Neolitico. In base a questi reperti è possibile ipotizzare una continuità del sistema caccia-raccolta per l'approvvigionamento del cibo ed il ruolo fondamentale svolto dai frutti e dalle specie spontanee per l'alimentazione umana. Con l'avvio delle attività agricole, l'uomo iniziò a prediligere specie che garantivano rese adeguate e di facile coltivazione, escludendo quelle che oggi sono definite spontanee ed infestanti; com'è noto, pertanto, si assistette grazie alle attività agricole, al passaggio dallo stato nomade a quello stanziale ed alla crescita delle prime comunità (Montanari, 2005).

In questo modo, l'uomo si garantì una maggiore quantità e continuità di approvvigionamento alimentare, assicurando sostentamento alle comunità rurali. Tuttavia, non sempre il prodotto era sufficiente a soddisfare i fabbisogni alimentari per cui al verificarsi di carestie dovute ad episodi di vario genere, si assisteva ad un ritorno alla raccolta in natura di specie spontanee ed alla caccia della selvaggina.

Va quindi sottolineato che l'agricoltura permise lo sviluppo e l'evoluzione di specie vegetali, da spontanee a domestiche, individuate dall'uomo come redditizie e di facile coltivazione. L'attività di selezione effettuata dall'uomo, che è

proseguita nei millenni successivi ha consentito lo sviluppo di specie orticole come ad esempio il cavolo rapa (*Brassica rapa* L.) e la carota (*Daucus carota* L.).

Fra i criteri di selezione delle piante spontanee vi è stato quello di abbassare o eliminare quasi del tutto i livelli di alcaloidi tossici per l'uomo rendendo così commestibili alcune specie (Kaplan, 1965).

L'evoluzione delle colture è proseguita ed ha trovato un importante supporto dalle attività di miglioramento genetico e dalle diversificate tecnologie che via via sono state perfezionate o messe a punto a seguito di recenti acquisizioni genetiche e/o allo sviluppo di nuove tecnologie.

I centri di origine e diversificazione delle piante sono stati individuati in Asia, nel bacino del Mediterraneo, regione dei Balcani, nel Medio Oriente, in America centrale e meridionale, ed in Africa, e comunque in aree geografiche caratterizzate da climi temperati (Vavilov, 1926). Nel corso degli anni i centri di origine indicati da Vavilov furono soggetti a modifiche, ma tutte le classificazioni finora esposte indicano il bacino Mediterraneo quale importante area di origine di molte delle attuali specie di interesse orticolo (Zhukovskij, 1968).

Secondo Vavilov (1926) le specie che sicuramente hanno avuto origine nel bacino del Mediterraneo sono state: *Allium cepa* L.; *Allium kurrat* Schweinf.; *Allium porrum* L.; *Allium sativum* L.; *Anethum graveolens* L.; *Anthriscus cerefolium* Hoffm.; *Apium graveolens* L.; *Asparagus officinalis* L.; *Beta vulgaris* L.; *Blitum rubrum* Rchb.; *Brassica campestris* L.; *Brassica napus* L.; var. *rapifera* Metzg.; *Brassica oleracea* L.; *Cichorium indivia* L.; *Cichorium intybus* L.; *Crambe maritima* L.; *Cynara scolymus* L.; *Lactuca sativa* L.; *Lepidium sativum* L.; *Pastinaca sativa* L.; *Petroselinum sativum* L.; *Portulaca oleracea* L.; *Ruta graveolus* L.; *Rheum officinale* Boill.; *Rumex acetosa* L.; *Satureja hortensis* L.; *Scolymus hispanicus* L.; *Smyrniolum olusatrum* L.; *Tragopogon porrifolium* L.

Guardando ancora al passato, verso antiche culture e Paesi, si nota che le erbe spontanee entrano a far parte anche della religione. Un esempio può essere rappresentato dalla cultura ebraica, in cui le erbe, quelle amare, costituiscono un elemento fondante della ritualità del giorno di Pasqua. Nel libro dell'Esodo (12-8), il Signore descrive al profeta Mosè come dovrà essere la cena prima della partenza dall'Egitto:

“In quella notte ne mangeranno la carne arrostita al fuoco; la mangeranno con azzimi e con erbe amare”.

Per l'Antica Roma, pane ed erbe dell'orto - come pure il vino e l'olio - erano segno di civiltà. Tutto ciò che proveniva dall'incolto o non identificato come “civile”, era da scartare dalla tavola del cittadino romano. Gli agronomi romani distinguevano le piante selvatiche in tre categorie: quelle che crescevano al di là dell'area coltivata, quelle che si coltivavano nel terreno a pascolo e quelle che crescevano sul maggese (Marcone, 1997). L'uso di erbe spontanee era limitato a chi viveva ai confini delle città e all'uso in farmacopea, grazie alle loro proprietà curative.

A quel tempo, però, molti scrittori romani, come Catone nel caso del cavolo, elogiavano i prodotti dell'orto, evitando di nominare tutto ciò che proveniva dal selvatico. Il processo di domesticazione di erbe e frutti non era ancora concluso: la coltivazione dell'asparago risale infatti all'epoca romana. Questo alimento risultava essenziale per i contadini:

“La natura aveva creato gli asparagi selvatici, in modo che chiunque potesse raccogliarli qua e là dove spuntavano: ecco che compaiono gli asparagi coltivati e Ravenna ne produce di tali che raggiungono il peso di una libbra” (Plinio, XIX, 54).

Con l'evolversi dell'agricoltura, tramite nuovi metodi di coltivazione e l'introduzione di nuove specie o nuovi tipi coltivati, l'utilizzo di erbe selvatiche era da considerare un'eccezione limitata a periodi di carestia o penuria o semplicemente perché “non costava nulla”, senza contare che per chi viveva immerso nella natura, era di quotidiana abitudine imbattersi in foglie tenere, germogli succulenti, radici saporite.

Se non altro è da considerare che le erbe entrarono in cucina prima per soddisfare un bisogno alimentare, la fame; successivamente, dopo averne apprezzato il sapore, divennero ingredienti preziosi che arricchivano una dieta povera di sapori e varietà.

In alcuni Paesi in via di sviluppo le specie spontanee rappresentano una fra le principali fonti alimentari soddisfacendo in parte le esigenze nutrizionali delle popolazioni; queste regioni del pianeta rappresentano fra l'altro importanti aree di conservazione di ancestrali delle odierne piante coltivate.

La preoccupazione per la fame nel mondo, infatti, nonostante le continue evoluzioni e progressi dell'agricoltura, non ha mai abbandonato l'uomo: i metodi di conservazione, la diversificazione colturale e/o varietale o i metodi di coltivazione non allontanarono, e non allontanano tutt'oggi, lo spettro di carestie che continuarono a minacciare la sopravvivenza dei popoli delle regioni più depresse della Terra. Sopraffatto dalla carenza alimentare l'uomo cercava i più svariati rimedi, come suggeriva il "De Alimenti Urgentia" di Giovanni Targioni-Tozzetti, del 1767. L'opera consigliava al popolo in preda alla fame, dovuta a guerre e carestie, di placarla rivolgendosi a ciò che si poteva raccogliere in natura. E' proprio in questo libro che l'autore definì il termine Alimurgia, coniato appositamente per indicare lo studio delle soluzioni da ricercare in caso di necessità alimentare (*alimenta urgentia*).

Il termine venne riproposto più tardi da Oreste Mattiolo *et al.*, nel libro "Phytoalimurgia Pedemontana" (1918), che aggiunsero il prefisso *fito-*, precisando la derivazione vegetale degli alimenti usati in alimentazione in caso di necessità.

L'alimurgia oggi non sembra più essere una necessità, almeno per la nostra società moderna, eppure molti studiosi e appassionati vogliono dare nuovamente un ruolo importante alle erbe spontanee. Riconosciute le proprietà nutraceutiche di molte specie grazie all'apporto di sali minerali, vitamine e antiossidanti, si ricerca sempre di più la figura di *functional food* nei cibi affidando al contempo a questi anche la memoria storica e culturale del passato rurale.

Nei Paesi sviluppati la raccolta delle specie spontanee non è sempre semplice a causa dell'elevato impatto ambientale dei sistemi agricoli intensivi che hanno contribuito e contribuiscono allo loro più o meno lenta scomparsa.

Fortunatamente l'uso di essenze spontanee in cucina rappresenta ancor'oggi una realtà "viva" di molte aree rurali del nostro paese. Un esempio è rappresentato da una delle specie maggiormente ricercate ed apprezzate in Veneto: il *pissacan* (*Taraxacum officinale*), utilizzato dalla sapienza popolare in ogni sua parte, le foglie lessate, le radici tostate per il caffè ed il nettare dei fiori per il miele.

In Sicilia sono presenti molte specie selvatiche parentali di alcune specie ortive coltivate (Branca, 1992a,b, 2000) appartenenti a diverse famiglie; tra quelle

maggiormente presenti si annoverano: *Asteraceae* (19%), *Brassicaceae* (8%), *Apiaceae*, *Lamiaceae* e *Liliaceae* (7%), *Fabaceae* (6%), *Poligonaceae* e *Chenopodiaceae* (4%) (Machackova, 2001; Bianco e Machackova, 2002). Esempi tipici sono *Cynara cardunculus*, (*Asteraceae*), un parentale del carciofo coltivato, di cui i capolini piccoli e spinosi sono talvolta venduti nei mercati locali; i germogli e semi di finocchio selvatico (*Foeniculum vulgare* ssp. *vulgare* var. *dulce*, Umbellifere), raccolti ed utilizzati per preparare piatti con sapori tipici; i bulbi di *Leopoldia comosa*, apprezzati dall'industria, e varie specie di asparagi (*A. acutifolius*, *A. albus*, e *A. stipularis*), il cui sapore amaro lo rende più apprezzato della specie coltivata (*A. officinalis*). Alcune specie selvatiche occasionalmente poste in coltura sono la borragine (*Borago officinalis*, *Boraginaceae*), le cui foglie bollite sono utilizzate in zuppe, ed il capperò (*Capparis rupestris*, *Capparidaceae*), in cui fiori, apici vegetativi e giovani frutti sono usati come condimento (Bianco, 1989; Branca, 2000).

Un contributo piuttosto particolare della biodiversità vegetale siciliana è rappresentato da gruppi varietali caratterizzati da tratti qualitativi di pregio molto apprezzati dai consumatori locali (tab. 1). Questi comprendono varietà locali di alcune specie del genere *Brassica* come cavolfiore, cavolo broccolo, cavolo rapa rosso, e cavolo da foglia (Branca e Iapichino, 1997; Branca, 2006). Molte di queste colture hanno rivestito da sempre un ruolo di elevata importanza nel panorama orticolo siciliano grazie alla loro popolarità a livello di mercato locale, tuttavia, non è escluso il rischio di scomparsa di molti prodotti tipici per via della sempre più incessante modificazione del contesto agro-economico e sociale delle aree a maggiore dedizione orticola in cui il panorama varietale è sempre più rivolto ad ibridi F1 maggiormente performanti rispetto alle varietà tradizionali. In questi agro-eco-sistemi, che fin'ora si sono basati sull'uso di molte varietà tradizionali, è presente il rischio di erosione genetica determinata da incroci occasionali con cultivar commerciali per via della particolare biologia florale di molte specie. A Catania, ad esempio, diverse aree peri-urbane, un tempo importanti per la coltivazione di prodotti locali, sono ridotte a pochi ettari (La Malfa e Branca, 2001) nonostante vi sia un rinnovato interesse da parte dei consumatori verso prodotti che evocano l'idea di genuinità e prodotti tipici

(Branca, 2002). A tale proposito potrebbe essere utile la conservazione *ex situ*, mentre per altri la conservazione *in situ* (Negri *et al.*, 2007).

I metodi di conservazione *ex situ* prevedono la conservazione statica dei semi che sono il principale materiale di propagazione. Essi vengono disidratati al di sotto del 5% di umidità e conservati a -20°C (Roberts, 1973; Roos, 1989). *Ex situ* è pure la crioconservazione a -196°C, in azoto liquido, di sospensioni cellulari e di colture di calli (Withers, 1985); con tale tecnica però la percentuale di materiale che riesce a sopravvivere non supera il 50-80% (Watanabe *et al.*; 1985).

Un metodo alternativo può essere la conservazione delle specie spontanee *in vitro*, che consiste nel propagare di continuo le piantine. La ricerca e rivalutazione dei progenitori allo stato spontaneo delle specie coltivate assume particolare rilievo anche ai fini del miglioramento genetico.

La conservazione *in situ* e la protezione delle specie spontanee, rappresentano i mezzi efficaci per mantenere la variabilità esistente all'interno delle specie coltivate (Baker, 1972).

La flora spontanea ha costituito e continua a costituire un patrimonio cui l'agricoltura attinge per individuare nuove specie da coltivare, per prelevare germoplasma da utilizzare nel miglioramento genetico, per studiare il percorso evolutivo compiuto da alcune piante oggi coltivate e, infine per raccogliere piante e prodotti di interesse alimentare. Con riferimento alle piante che forniscono prodotti riconducibili per caratteristiche merceologiche agli ortaggi, le motivazioni di questo accresciuto interesse sono ben note: richiamo alla naturalità, attesa di un più elevato valore nutrizionale e dietetico, e di un migliore profilo igienico sanitario dei prodotti, rispetto a quelli simili da specie più o meno affini. L'utilizzazione di queste specie per finalità alimentari si pone quindi oggi in una nuova ottica, che esula dall'approccio suggestivo basato sulla raccolta allo stato spontaneo. Un approccio più razionale può essere rappresentato dalla introduzione in coltura di tali specie, ora spontanee, adattando i protocolli colturali alle loro caratteristiche morfobiologiche ed alle esigenze del consumatore. La coltivazione di tali specie, sicuramente più rustiche rispetto a quelle coltivate, potrebbe essere effettuata in aree marginali per caratteristiche pedologiche (Branca, 2001).

Il consumatore oggi è alla ricerca di alimenti denominati “salutari”, ecco quindi che le specie spontanee possono riacquistare valore e posizioni nella classifica dei prodotti maggiormente acquistati. Infatti, il fruitore attuale beneficia di alimenti che si prestano al suo modo di vivere, frenetico e caotico, ciò spiega la nascita dei prodotti di IV e V gamma. Negli ultimi anni, però, si è verificato un eccessivo consumo di tali prodotti ed il consumatore sta ritornando a seguire quella “dieta mediterranea” invidiata da tutti gli altri Paesi. A tal riguardo si possono valorizzare le specie spontanee, infatti, molte di esse contengono sali minerali, proteine e vitamine A e C (Souci *et al.*; 1986; Schneider e Reinartz, 1987; Fritz, 1989), un aspetto negativo è la presenza di nitrati che possono comportare qualche problema alla salute umana (Schneider e Reinartz, 1987). Queste specie sono ricche anche di composti antiossidanti.

Secondo Thompson (1985) le principali fasi da attuare per introdurre in coltura nuove specie sono le seguenti:

- raccolta del germoplasma;
- valutazione del germoplasma;
- valorizzazione ed utilizzazione del germoplasma;
- costituzione di varietà e valutazione agronomica;
- commercializzazione.

Il lavoro che queste specie spontanee richiedono è articolato poiché vi è la raccolta e la caratterizzazione del materiale genetico, occorre notare come esse si rapportino all'ambiente di coltivazione e dalla sua eventuale utilizzazione.

Un esempio attuale di riscoperta delle piante spontanee è quello della Puglia che in questi ultimi anni ha voluto riqualificare le piante spontanee eduli e recuperare la biodiversità vegetale. Questo interesse per la loro valorizzazione è dovuto al fatto che sin dai tempi antichi le specie spontanee erano utilizzate nella cucina dell'Italia meridionale, come pietanze o come ingrediente. Alcuni esempi sono la cicoria selvatica (*Cichorium intybus*), la ruchetta (*Diplotaxis tenuifolia*), la ruchetta violacea (*Diplotaxis eruoides*), l'asparago selvatico (*Asparagus acutifolius*).

Indagini effettuate da diversi autori (Bianco, 1989; Branca, 1992a) hanno portato all'individuazione di circa 400 specie censite di interesse alimentare diffuse in Italia allo stato spontaneo. Di queste, molte sono occasionalmente

coltivate: *Foeniculum vulgare*, *Brassica fruticulosa*, *Borago officinalis*, *Capparis spinosa*. Rilevante è il panorama delle specie spontanee le cui strutture sono utilizzate come ortaggi: *Cynara cardunculus*, *Foeniculum vulgare*, *Leopoldia comosa*, *Asparagus* spp., etc.

Queste specie sono utilizzate nella medicina popolare ed alcune di esse sono oggetto di indagini da parte del mondo scientifico pubblico e privato per l'estrazione di numerosi principi attivi. Per molte di esse il consumo, oltre ad esplicare la funzione alimentare, favorisce l'assunzione di principi attivi che svolgono azione antinfiammatoria intestinale, carminativa, depurativa, dissetante, diuretica, lassativa, antibatterica, antivirale (Yukawa *et al.*, 1996; Dhiman e Chawla, 2005; Zaidi e Crow, 2005), antiossidante (Di Venere *et al.*, 2004; Jiang *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2006).

Una specie di particolare interesse è stata la ruchetta (*D. tenuifolia*), il suo passaggio da pianta selvatica a specie ortiva è stato possibile grazie ad una specifica attività sementiera. Dalla raccolta delle sue foglie è possibile creare un prodotto di IV gamma mediante l'utilizzo di confezioni salva freschezza (Sportelli, 2009).

Le specie da orto, come tutte quelle di interesse agrario hanno preso e continuano a prendere origine da quelle spontanee attraverso il processo di domesticazione. L'adattamento della specie ad un nuovo ambiente o alla coltivazione è stato reso possibile anche dalle mutazioni che hanno determinato variazioni dei principali tratti biologici, morfologici e fisiologici della pianta. Il processo di domesticazione attuato in tempi e con metodologie diverse ha determinato la configurazione di nuove colture che progressivamente hanno determinato l'attuale quadro biologico dell'orticoltura. I principali motivi di interesse per le piante spontanee in agricoltura possono essere diversi in rapporto ai luoghi, ai periodi storici, alle condizioni sociali, economiche e culturali.

L'interesse per le piante spontanee è sostenuto principalmente dall'ampio patrimonio genetico utilizzabile ai fini del miglioramento genetico, dalla diversificazione degli assortimenti orticoli, dal cambiamento dei gusti del consumatore, dall'evocazione di ambienti puliti e genuini, dalla presenza di metaboliti secondari di interesse salutistico con attività farmacologica, dalla

possibilità di attivare processi allelopatici per il controllo di organismi patogeni (biofumigazione) e dalla possibilità di valorizzare le esigue risorse idriche.

Esistono criteri proposti per considerare le specie ortofrutticole maggiori, minori, molto minori ed ipominori, che contemplano il consumo medio giornaliero che, per le maggiori viene indicato $>7,5$ g/uomo. Un altro parametro è la superficie coltivata o la produzione ottenuta, che per le maggiori viene considerata superiore a 10.000 ha e 200.000 t. Per le colture molto minori il limite è inferiore a 600 ha (Conti, 2006). E' chiaro che stabilire valori legati alla superficie e alla produzione fa sorgere numerosi dubbi perché nel corso del tempo, una specie può ricadere ora in una categoria ora in un'altra.

Così ad esempio, il cocomero, nel 1979 è considerato maggiore (24.000 ha), mentre nel 2007 minore (9.900 ha); stesso ragionamento per la fava fresca che fa registrare una superficie coltivata di 19.000 ha nel 1978 e di 9.800 ha nel 2007. Per le specie coltivate in pien'aria ed in serra (tabb. 2 e 3), allo scopo di riportare le variazioni avvenute sono riportati i dati riferiti all'ultimo trentennio (Bianco, 2009).

Per le colture in pien'aria, valori decrescenti delle superfici (dal 1978 al 2007) sono stati osservati per il cavolfiore e cavolo broccolo, indivia e scarola, cavolo cappuccio, sedano, aglio e scalogno, bietola da coste e da orto, spinacio e patata; per fava e cocomero la superficie si è più che dimezzata rispetto al 1979. Al contrario per il prezzemolo i valori sono quasi raddoppiati, mentre per le altre specie non sono state registrate apprezzabili variazioni o l'andamento è stato variabile nei tre decenni. Per le specie allevate in serra, tranne che per il peperone e melanzana, in cui si registra una riduzione di superficie nell'ultimo decennio, per tutte le altre si rileva un aumento nel trentennio. In particolare per spinacio la superficie è quadruplicata e per radicchio, sedano e valerianella è triplicata. Inoltre per le ortive minori da taglio prodotte in serra, (Pimpini *et al.*, 2005) si stimano per ruchetta 1.108 ha, per valerianella 331 ha, per spinacio 169 ha, per bietola o erbette 55 ha e per la rucola 7 ha.

Tab. 1 - *Elenco dei prodotti orticoli siciliani presentati nella decima edizione dei prodotti orticoli tradizionali italiani (G.U. 145/2010)*

Tipologia	Prodotto
Officinali	alloro
	origano
	rosmarino
Ortive	anguria di Siracusa
	capperi
	capperi e cucunci
	carciofo spinoso di Palermo o Menfi
	carciofo violetto catanese
	carota di Ispica
	cavolfiore violetto "natalino"
	cavolo broccolo o "sparacello" palermitano
	cavolo rapa di Acireale "trunzu di aci"
	cipolla di Giarratana
	fagiolo di Polizzi
	fava di Leonforte
	fragola o fragolina di Maletto
	fragolina di Ribera
	fragolina di Sciacca
	melone invernale giallo "cartucciaru" verde "purceddu"
	melone giallo (<i>Cucumis melo</i> var. <i>inodorus</i>), melone giallo di Paceco, melone d'inverno
	zucchina di Misilmeri detta "friscaredda"

Tab. 2 – Superficie (ha) destinata in pien'aria in Italia alle specie ortive minori (Bianco, 2009)

Specie	Anni		
	1978	1988	2007
Aglio e scalogno	5.725	3.645	3.141
Asparago	5.416	4.929	5.419
Batata	1.004	1.275	430
Bietola da costa	3.850	3.324	2.872
Bietola da orto	1.730	531	429
Carciofo	52.359	49.831	50.120
Cavolfiore e C. broccolo	28.421	25.252	22.511
Cavolo di Bruxelles	175	386	344
Cavolo cappuccio	7.779	4.977	4.364
Cavolo verza	8.967	5.493	5.349
Cetriolo da mensa	2.907	859	1.139
Cetriolo sottacet	1.910	277	337
Cima di rapa	9.419	11.280	9.329
Cocomero	23.943	13.974	9.901
Fava fresca	19.891	13.475	9.792
Finocchio	16.496	22.706	23.426
Indivia e scarola	13.009	12.134	10.966
Melanzana	12.261	9.717	11.904
Prezzemolo	727	731	1.382
Porro	1.151	469	630
Radicchio e cicoria	13.627	15.900	15.199
Rapa	3.784	1.513	2.726
Ravanello	627	943	803
Sedano	4.643	4.114	3.829
Spinacio	8.934	7.102	6.478
Totale ortaggi	456.614	498.832	469.565

Tab. 3 – Superficie (ha) destinata in serra in Italia alle specie ortive minori. I valori in corsivo si riferiscono al 1999 (Bianco 2009)

Specie	Anni		
	1978	1988	2007
Asparago	235	569	1.169
Barbabietola da orto	8	38	38
Basilico	46	87	199
Bietola da costa	123	85	111
Cetriolo da mensa	304	452	662
Cocomero	1	688	1.240
Finocchio	4	18	31
Indivia e scarola	17	178	256
Melanzana	681	1.800	1.074
Prezzemolo	31	49	88
Radicchio	31	87	253
Ravanello	38	84	91
Sedano	119	87	285
Spinacio	23	45	171
Valerianella	27	156	464
Altri ortaggi	41	1.254	1.762

1.2.2. Le colture ortive maggiori

Con il termine di ortive “maggiori” si intendono quelle specie vegetali che sono largamente coltivate e prodotte nel territorio.

La diversità biologica presente nel regno vegetale è il risultato di un lungo e continuo lavoro di naturale evoluzione che ha permesso alle piante di adattarsi e vivere in condizioni climatiche differenti e di resistere agli attacchi dei fitofagi e dei parassiti. L'umanità è intervenuta in questo processo di diversificazione, selezionando i tipi di piante più idonei alla coltivazione ed ai gusti del consumatore. Gli incroci realizzati sulle piante sono rivolti ad ottenere un incremento della produzione, una migliore qualità ed una protezione delle piante da fitofagi e parassiti.

Il risultato ottenuto negli ultimi 50 anni è stupefacente, se pensiamo che la percentuale dell'incremento della produzione agricola ha superato la percentuale dell'incremento della popolazione. Il successo raggiunto in agricoltura fra 1950 e il 1960 è conosciuto con il termine di *green revolution*, il processo di rivoluzione dell'agricoltura che ha trasformato diversi Paesi da importatori ad esportatori di prodotti agricoli. Per contro, però, il rinnovamento della configurazione dell'agricoltura ha determinato alcuni aspetti negativi, come un'eccessiva produzione di alimenti nei Paesi sviluppati, eccessivi costi dell'energia richiesta per l'adozione delle moderne tecniche colturali, negativo impatto ambientale a causa dell'incremento dell'utilizzo dei mezzi chimici di produzione ed un ridotto numero di genotipi utilizzati; quest'ultimo aspetto ha determinato l'opportunità di avviare specifici programmi tesi alla conservazione ed alla salvaguardia della biodiversità (Frusciante, *et al.*, 2000).

Durante l'ultimo secolo, coltivazioni intensive attuate con metodi e tecniche colturali sempre più sofisticate hanno determinato la riduzione della diversità genetica di molte specie ortive (Peron, 1992; Sun e Hang, 1998). L'umanità ha utilizzato circa 7000 specie di piante per alimentari, curarsi e per altre necessità, ed altre 70000 specie sono conosciute per alcune parti commestibili (Principe, 1991). Una piccola parte di queste specie è attualmente coltivata, e solo 150 di esse sono coltivate su larga scala, e circa 82 specie

forniscono il 90% di fabbisogno alimentare mondiale (Prescott-Allen e Prescott-Allen, 1990).

Esempi di ortive “maggiori” sono afferenti alle famiglie delle *Solanaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Chenopodiaceae*, ma molte afferiscono alla famiglia delle *Brassicaceae*.

L'Italia è infatti il centro di diversificazione genetica di alcune *Brassicaceae* coltivate, come cavolfiore e cavolo broccolo. Il cavolfiore rappresenta una tradizionale coltura ortiva diffusa in Sicilia, dove peraltro sembra si sia diversificata in diversi tipi e forme spesso intermedie con quelle del cavolo broccolo, da cui si ipotizza che abbia preso origine. La diversità genetica che si riscontra in Sicilia è di grande interesse da parte della comunità scientifica nazionale ed internazionale che già da alcuni decenni ha posto l'attenzione sullo studio e sulla valutazione delle diverse cultivar diffuse sull'Isola. I tipi di cavolfiore a corimbo pigmentato, diffusi unicamente in Italia, consentirebbero di ampliare la gamma cromatica del prodotto contribuendo ad ampliare la richiesta di mercato. Tali tipologie, inoltre, sono oggetto di grande attenzione per la valenza salutistica che esprimono che è sostenuta da diversi composti antiossidanti. Tale aspetto è particolarmente avvertito per il cavolfiore violetto che trova la sua area di tradizionale coltivazione nella Sicilia centro orientale ed in particolare nella provincia di Catania. Il cavolo broccolo possiede un panorama contrassegnato da tipologie molto diversificate tra loro. Per il cavolo broccolo, come tipologie siciliane, sono presenti due raggruppamenti *cavolo broccolo asparagio* e *cavolo broccolo a testa*. Al primo gruppo fanno parte i broccoli a foglia, al secondo solo il broccolo a testa, caratterizzato dalla produzione di un solo corimbo di colore principalmente verde (Viani, 1929).

L'ampia variabilità interspecifica ed intraspecifica riscontrata in Sicilia per il genere *Brassica* fa ritenere l'Isola un centro di origine e diversificazione primario per *B. oleracea* (Gray, 1989; Gomez Campo e Gustafsson, 1991).

La coltivazione del cavolfiore, sulla base di dati statistici FAO (2004), è estesa su 893.200 ha in tutto il mondo, la produzione totale è pari a 16.432.000 t e la produzione unitaria media è di 18,4 t ha⁻¹. L'Italia a livello mondiale occupa il quarto posto dopo Cina, India e Francia (Ferrari e Di Cesare, 2001). Nell'ultimo ventennio (1983-2004) la diffusione della coltura è stata in continua crescita, le

superfici si sono quasi raddoppiate (+ 91%) mentre la produzione ha manifestato un incremento del 145%.

La coltivazione del cavolo broccolo in Italia interessa una superficie pari a 11.000 ettari concentrati maggiormente nel sud. La produzione annua totale è tra 120.000 e 130.000 tonnellate. I principali paesi europei interessati a questa coltura sono Spagna, Inghilterra e Polonia.

In Italia la ricchezza del germoplasma autoctono è molto presente grazie all'elevata varietà di cultivar, alla diversità dei sistemi colturali e dei paesaggi. Oggi non si parla più di agricoltore, ma di *breeder* che può essere privato o pubblico, il cui obiettivo è quello di soddisfare la domanda proveniente dai mercati nazionali ed internazionali creando dei genotipi idonei (Inglese e Caruso, 2006).

La biodiversità diventa allora risorsa solo se la società la riconosce come tale e ne distingue i tratti qualificanti (Marino, 2002).

In base alle diverse condizioni ambientali le specie vegetali, così come quelle animali, tendono a selezionarsi naturalmente e a definire adattamenti e tolleranze nei confronti di diverse forme di stress, dando luogo agli ecotipi (Azzi, 1967). Si è arrivati pertanto all'esistenza di tipi o forme locali che riuniscono le caratteristiche di produttività con quelle di resistenza alle condizioni pedoclimatiche (Scarascia Mugnozza e Swaminathan, 1997). Di contro le varietà migliorate, per via della selezione, maggiormente rivolta verso *performances* produttive, risultano avere una base genetica più ristretta (Lo Verde, *et al.*, 1997).

Salvaguardare la biodiversità varietale non rappresenta soltanto un'esigenza primaria per il miglioramento genetico, ma risponde soprattutto all'esigenza di non alterare eccessivamente quegli equilibri biologici che la natura faticosamente ha predisposto per la sopravvivenza delle specie (De Giorgio, 1997).

Salvaguardare le specie può avere una sua valenza economica, infatti i contributi diretti ed indiretti dell'ambiente e della biodiversità all'economia di una nazione sono stati di notevole interesse per molti studiosi. Ci sono stati molti tentativi per quantificare i benefici economici diretti derivanti dalle risorse naturali e i benefici indiretti derivanti dalla protezione degli ecosistemi. I benefici economici diretti derivanti dal mantenimento della biodiversità possono

riguardare il valore estetico e ricreativo, i benefici derivanti dal mantenimento degli ecosistemi o dalla riduzione dei parassiti e delle malerbe (Ehrenfeld, 1981).

L'importanza della biodiversità per l'agricoltura e per la medicina è spesso sottovalutata. Infatti, quando si realizzano degli incroci ai fini del miglioramento genetico di una coltura si ricorre spesso a materiali non ancora utilizzati (Santopolo, 1997).

L'adozione e l'attuazione della conservazione della biodiversità sostenibile sono fondamentali per sostenere le aree protette. Ma lo sviluppo di strategie efficaci per raggiungerli è problematica. Questo è spesso causa di una conoscenza limitata circa l'impatto delle politiche di conservazione della biodiversità sul sostentamento delle popolazioni indigene (Brown e Goldstein, 1984; Aylward, 1991; Ezebilo, 2010).

1.2.3 Le colture ortive minori

Diverse sono le specie di interesse ortivo sottoutilizzate, dette anche “minori” per la modesta superficie sulla quale sono coltivate, sulle quali è posta particolare attenzione della ricerca scientifica per sostenere l'innovazione di prodotto del settore orticolo, appaiono. Nella Bibbia vengono citati diverse piante ortive , quali aneto, aglio, capperi, cicoria, coriandolo, fava, indivia, menta, origano, porro, senape, tarassaco. Diversi Autori Romani fanno diversi cenni sull'utilizzo di anice, asparago, basilico, bietola da orto, cardo, carciofo, carota, cavolo da foglia, cetriolo, cipolletta, cren, crescione di fontana, cumino, fagiolino dall'occhio, fragolina di bosco, lagenaria, lambascione, porro, prezzemolo, rapa, ravanello e sisaro.

Molte specie ortive minori sono giunte fino a noi in quanto parecchi attori della conservazione, non necessariamente agricoltori a tempo pieno, hanno saputo mantenerle nel tempo, spesso migliorandone, attraverso la semplice selezione visiva e sensoriale, le caratteristiche morfologiche e gustative.

Il Ministro della Sanità, di concerto con il Ministro delle Politiche Agricole e Forestali, il 16/09/1999 ha emanato un D.M. pubblicato nella G.U. del 26/11/1999 n. 278 in cui vengono definite le “utilizzazioni minori di interesse agricolo”.

Secondo Gengotti *et al* (2003) alcune specie ortive minori quali basilico, prezzemolo, ravanello, rucetta e valerianella sono caratterizzate da elevato valore aggiunto, rigidi standard estetici, da un breve e intenso ciclo colturale.

Le colture cosiddette molto minori danno origine però, in alcune realtà regionali, a redditi elevati e ad un notevole numero di occupati, come nel caso della menta in Piemonte dove si stimano oltre 400 ha coltivati, con un PIL di 1,8 milioni di euro, o il basilico in Liguria che rappresenta il 16% della produzione, con circa 600 addetti occupati fra produzione primaria e la trasformazione dello stesso per la preparazione del pesto. Così anche il capperi nelle isole di Pantelleria ed Eolie (circa 150 ha) determina circa 880.000 euro di PILi, la rucetta in Campania, dove si coltiva su 850 ha in ambiente protetto e il prodotto viene destinato prevalentemente alla IV gamma.

Viani (1929), nell'ampio trattato di orticoltura descrive 169 specie e menziona 42 colture che considera ortive minori e che, a 80 anni di distanza,

sono ancora coltivate su limitate superfici. Tra esse si ricordano: nasturzio tuberoso, aglio d'India, porrandello, cipolletta vivace, erba cipollina, origano, erba S. Pietro, melissa, minutina, pimpinella, portulaca, rucola, salsola, santoreggia, spinacio della Nuova Zelanda e timo.

Di recente Piazza (2003) afferma che alcune specie ortive minori, come ad esempio ravanello, porro, cicoria witloof, ruchetta, valerianella, radicchio e scalogno, possono diventare una buona opportunità di reddito, purché si punti a caratterizzare i prodotti con opportune confezioni e servizi del post-raccolta, mettendo in luce, per chi produce e chi vende, la professionalità di tutti gli operatori e la bellezza del territorio. Con la comparsa sul mercato delle cultivar ibride F1, si è assistito ad una progressiva riduzione dell'impiego di molte specie ortive minori che rischiano la scomparsa, come sta accadendo con la pastinaca in Sicilia.

Il MiPAAF nel D.M. n. 350 (08/09/1999) riporta gli elementi necessari per l'individuazione dei prodotti tradizionali come previsto dal D. Leg. N. 173 del 30/04/1998. Per l'iscrizione nell'elenco, oltre alla descrizione del prodotto, l'area geografica interessata ed i metodi di produzione, è indispensabile che la coltivazione e l'impiego culinario risultino attuati da almeno 25 anni. Le specie ortive minori inserite nell'elenco nazionale dei prodotti agroalimentari sono 49, per un totale di 206 popolazioni locali. Al primo posto si classifica il carciofo con 26 presenze, pari al 13% del totale, localizzate principalmente in Campania e Toscana. Segue l'asparago con 22 entità (di cui 9 in Veneto e 5 in Piemonte), l'aglio con 13 presenze in 11 regioni, il radicchio con 9 delle quali il 67% in Veneto, il cardo con 8 (38% in Piemonte) e il cavolo broccolo con diverse tipologie distribuite in 7 regioni.

E' interessante sottolineare la presenza di specie che assumono importanza in ristrette aree come il capperò in Sicilia e Puglia, il carosello esclusivamente in Puglia; il fagiolino dall'occhio è segnalato in Campania, Liguria e Piemonte, la scorzonera in Toscana e la scorzobianca in Piemonte, il sedano rapa nella provincia autonoma di Trento, lo zafferano principalmente in Toscana ed il rafano soprattutto nelle regioni del Nord Est. Tra le specie commercializzate dopo essere state essiccate compaiono l'origano e la mentuccia. Per i prodotti sott'olio, asparago, carciofini, melanzana, tallo dell'aglio rosso di Procedo, cicorie

selvatiche, germogli di pungitopo, di tamaro, di vitalba, lambascioni, cardi selvatici e salicornia. Tra gli ortaggi utilizzati in seconda gamma per la preparazione di conserve sottaceto sono segnalati capperi, finocchio marino e infiorescenza tenera di finocchio selvatico. Tra le specie sottoposte a diversi tipi di fermentazione si citano i crauti (*B. oleracea* var. *capitata*) e la rapa di brovada (*B. rapa*) cioè il raonzolo plumbeo. Infine vengono riportati i prodotti preparati con ricette tradizionali come i cavoli ripieni, gli involtini di melanzana e la vellutata di asparago e gli asparagi in agrodolce. Tra le regioni in testa nell'elencazione di tali prodotti tradizionali, si osservano il Veneto, con 32 popolazioni locali riferite a 15 specie, a cui segue la Toscana, con 30 popolazioni attribuite però a 21 specie, il Piemonte, con 23 e 15 specie, Campania con 21 e 14 specie e la Liguria con 15 e 11 specie. Tutte le altre regioni mostrano valori inferiori a 15 popolazioni.

1.2.3.1 Il Cavolo da foglia

Le diverse tipologie di cavolo da foglia diffuse nel mondo afferiscono alla varietà botanica *acephala* della specie *Brassica oleracea* L., afferente alla famiglia delle *Brassicaceae*, che esprime una elevata diversità genetica attestata dalle altre varietà botaniche che hanno dato origine a specifiche colture quali il cavolfiore, cavolo broccolo, cavolo rapa, cavolo cappuccio, cavolo verza, cavolo di Brussels, delle quali si utilizzano organi differenti della pianta (Spooner et al., 2003).

La particolare biologia florale della pianta, condizionata da meccanismi di auto incompatibilità genetica, ha agevolato la ricombinazione dei diversi profili genetici determinando la formazione di nuovi tipi che sono stato oggetto di selezione in diverse aree geografiche del mondo. Tale processo di ricombinazione è stato, ed è tuttoggi, particolarmente intenso nel bacino del Mediterraneo, dove *B.oleracea* si incrocia naturalmente con le diverse specie spontanee di *Brassica* (n=9), che ne rappresenta il centro di origine e di diversificazione della specie (Gray, 1989; Ordas e Cartea, 2008; Branca, 2008).

Il cavolo da foglia si contraddistingue dalle altre varietà botaniche della stessa specie per il ciclo biologico poliennale e per una prolungata fase vegetativa della pianta condizionata dal soddisfacimento delle esigenze in freddo della pianta. Presenta fusto eretto più o meno ramificato, alto fino a due metri, di cui si utilizzano i germogli con foglie di color verde scuro, lisce e bollose. La differenziazione dell'infiorescenza avviene in maniera irregolare e non ostacola in maniera definitiva il processo di emissione di nuovi organi vegetativi. La poliennialità e la rusticità del cavolo da foglia hanno determinato la denominazione di cavolo vecchio e/o di cavolo forte con la quale viene indicata la pianta in Sicilia. Dal punto di vista agronomico i tratti biologici della pianta si rivelano utili sia per l'alimentazione umana che per quella animale. Le foglie, contraddistinte da un accentuato aroma, rappresentano uno degli ingredienti tradizionali dell'alimentazione mediterranea e sono utilizzate spesso assieme a semi di leguminose o come condimento per la pasta.

La coltivazione del cavolo da foglia, che rappresenta una delle colture tradizionali dell'orticoltura familiare del bacino del Mediterraneo, si riscontra

spesso su piccole superfici, in prossimità dei fabbricati rurali, inframmezzata ad impianti arborei quali la vite, il mandorlo e l'ulivo. Tale configurazione si riscontra spesso sulle aree collinari e montane della Sicilia, quali le pendici dell'Etna, e nelle isole minori (figg. 1-2).

L'espressione fenotipica della pianta, nell'insieme assimilabile a quella del cavolo broccolo, manifesta differenze che possono essere legate ora all'isolamento spaziale tra le diverse popolazioni, costituite sempre da un limitato numero di individui, ora da incroci casuali con altre piante di colture afferenti a *B. oleracea* intensamente coltivate o a diverse specie spontanee di *Brassica* (n=9) diffuse nell'Isola.

L'innovazione della coltura non prescinde pertanto dallo studio delle caratteristiche differenziali dei materiali genetici coltivati e dall'individuazione dei genotipi più interessanti da utilizzare per il miglioramento della coltura (Branca *et al.*, 2010).

Il cavolo da foglia è caratterizzato da un sapore molto intenso e possiede una maggiore capacità antiossidante rispetto ai più comuni ortaggi utilizzati quotidianamente (Monteiro e Rosa, 2008). Esso rappresenta insieme a diversi cavoli selvatici, molti dei quali non eduli, il precursore di molte colture ortive quali il cavolfiore, il cavolo broccolo, il cavolo di Bruxelles, il cavolo cappuccio, il cavolo rapa, il cavolo verza, etc.

Il cavolo da foglia presenta tratti interessanti dal punto di vista agronomico quali il vigore, la resistenza, la rusticità e l'elevata resa della pianta (Bradshaw e Mackay, 1985). Negli ultimi decenni, l'obiettivo principale nella coltivazione di cavoli da foglia è stato rappresentato dal miglioramento dell'uniformità della coltura e dalla riduzione dei tempi di entrata in produzione della pianta. L'uniformità è comunemente raggiunta con la costituzione di ibridi F1 ottenuti con l'incrocio di linee pure. Tuttavia, l'uniformità della coltura si raggiunge spesso a scapito dell'ampia base genetica, con evidenti rischi di ridurre la tolleranza nei confronti dei principali fattori di stress biotico (Ordás e Cartea, 2008).

Il cavolo da foglia destinato all'alimentazione umana è di solito utilizzato dopo cottura, processo che intenerisce le foglie, decompone gli zuccheri e produce un aroma caratteristico (Ordás e Cartea, 2008).

Il cavolo da foglia viene utilizzato anche come foraggio, da destinare soprattutto ai ruminanti, per l'elevata digeribilità della biomassa raccolta, e per tale caratteristica è stato scelto e inserito nei programmi di allevamento e di nutrizione di questi animali (Bradshaw e Mackay, 1985; Bradshaw, 1987)

La tendenza del mercato sempre più attento verso i cibi funzionali sta determinando l'esigenza di attivare nuove linee di ricerca per valorizzare le caratteristiche nutraceutiche di molti prodotti orticoli, e fra questi di molte *Brassicaceae*. Sotto questo aspetto il cavolo da foglia sta assumendo sempre più maggiore popolarità grazie al suo elevato valore nutrizionale e alle proprietà antiossidanti di molti dei suoi metaboliti secondari.

Un altro obiettivo del miglioramento genetico è rappresentato dalla individuazione di fonti di resistenza ai principali agenti patogeni. Fra le malattie più diffuse in tutto il mondo il marciume nero (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) e il Clubroot (*Plasmodiophora brassicaceae* Woron.) sono considerate fra le più preoccupanti per il genere *Brassica*. Entrambe sono difficili da prevenire con le normali colturali ed i trattamenti mezzi chimici di controllo sono generalmente poco efficaci. L'individuazione di geni per la resistenza a fitofagi e parassiti rappresenta un primo passo per lo svolgimento di programmi di miglioramento genetico di queste colture, determinando al contempo una riduzione dell'impatto ambientale e dei costi di produzione. Elevati sforzi sono stati fatti negli ultimi decenni per aumentare la tolleranza di queste colture verso il marciume nero e la peronospora. La resistenza contro il marciume nero è stata individuata in diversi genotipi di *B. oleracea*, e tra le cultivar commercialmente disponibili ve ne sono anche di cavolo da foglia (Hansen e Earle, 1995; Taylor *et al.*, 2002; Tonguç e Griffiths, 2004). Tuttavia nessuna di queste fonti ha fornito una chiara modalità di come la pianta sia resistente alla malattia ed il suo profilo genetico complica il suo utilizzo per la produzione di varietà ibride resistenti. Anche se sono disponibili diverse evidenze scientifiche sulla resistenza contro Clubroot (Crute *et al.*, 1980; Crute, 1986; Crisp *et al.*, 1989; Dias *et al.*, 1993; Monteiro e Rosa, 2008), i risultati riguardanti l'ottenimento di una cultivar resistenti sono stati in gran parte deludenti tranne alcuni casi che hanno riscosso un certo successo (Ordás e Cartea, 2008).

Le proprietà antiossidanti, antiradicaliche e antitumorali di tutte le *Brassicaceae*, sono conferite dalla presenza di composti bioattivi che attribuiscono a questi ortaggi l'appellativo di "alimenti funzionali", i quali svolgono la funzione non solo alimentare ma anche quella preventiva nei confronti di diverse patologie dell'uomo.

L'importanza delle risorse genetiche per il miglioramento delle colture è al giorno d'oggi universalmente riconosciuto. Nelle banche del germoplasma è attualmente conservato il *gene pool* da cui i selezionatori ottengono la variabilità per i loro programmi di miglioramento. Per molte specie, ed in particolare per *B. oleracea*, sono prese in grande considerazione non solo le varietà coltivate, ma anche i parentali diffusi allo stato spontaneo (Branca, 2008; Branca, 2010).

Dal 1982 il Consiglio internazionale per le risorse fitogenetiche (ora International Plant Genetic Resources Institute, IPGRI) ha finanziato diverse missioni per l'individuazione e la raccolta di specie spontanee del genere *Brassica*. I campioni di seme raccolti nell'ambito di queste attività sono conservati presso l'Università Politecnica di Madrid (Spagna), l'Università di Tohoku (Sendai, Giappone), l'Università di Catania, e nella banche del germoplasma dei Paesi nei quali sono stati raccolti (Chiang *et al.*, 1993; Branca, 2008; Branca, 2010).

La valutazione di tali materiali è propedeutica a qualsiasi attività di miglioramento genetico di tale coltura al fine di individuare le accessioni che esprimono i tratti agronomici e tecnologici di pregio.

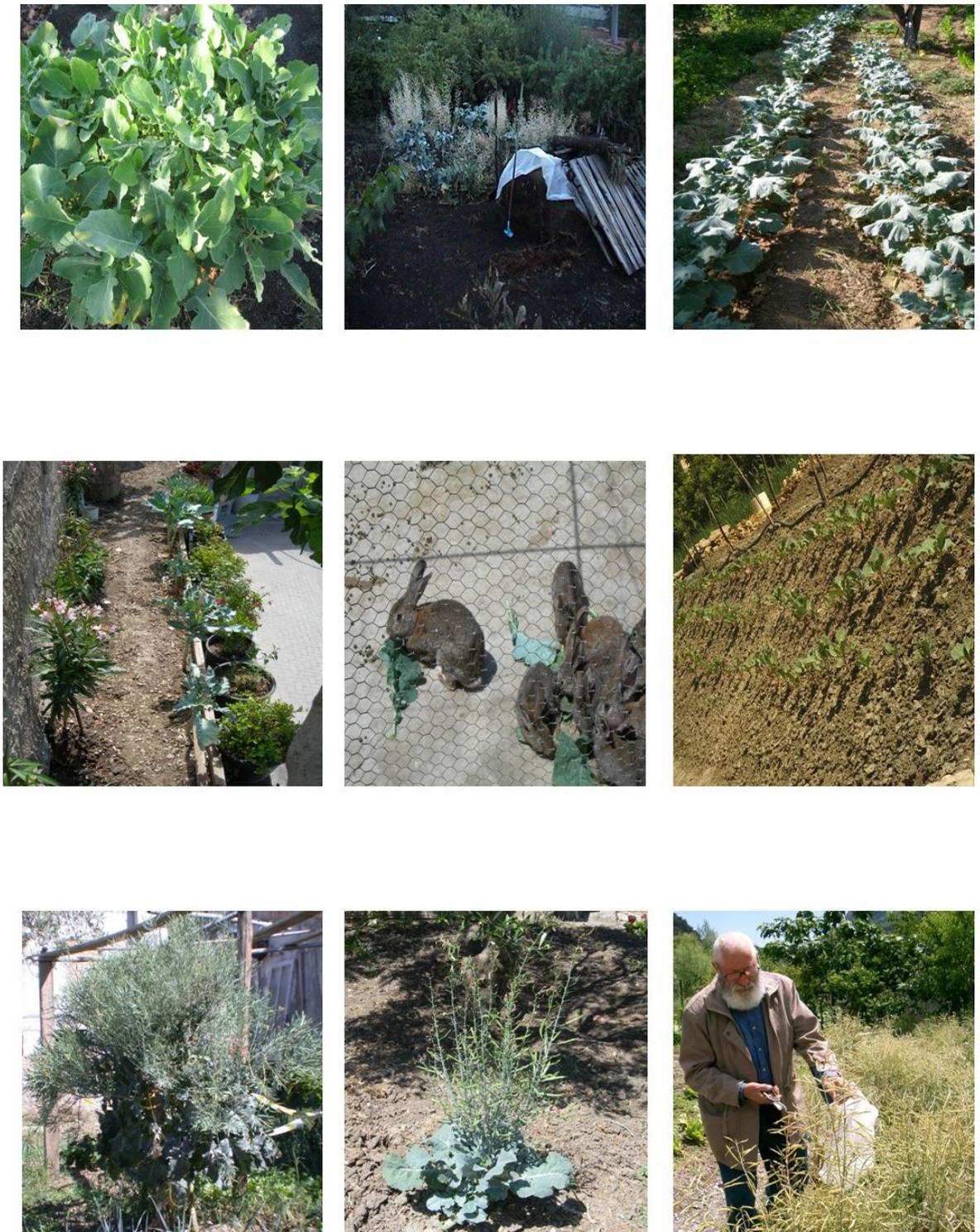


Figura 1 – Diffusione del cavolo da foglia negli orti familiari



Figura 2 – Diffusione del cavolo da foglia in orti suburbani

1.3 I prodotti di IV gamma

L'uomo sin dall'antichità ha trovato sostentamento alimentare da prodotti offerti dal mondo vegetale per il loro interesse nutrizionale che ha avuto e continua ad avere un'importanza materiale per la nostra sussistenza.

La FAO (Food and Agriculture Organization) e il WHO (World Health Organization) hanno avviato negli ultimi decenni diversi programmi volti a sostenere diete virtuose tese a prevenire e combattere le malattie alimentari. Per contro, le moderne diete alimentari diffuse nei Paesi sviluppati registrano un più o meno costante incremento di malattie cardiovascolari e dell'obesità in conseguenza dell'assunzione di elevate quantità di grassi e di proteine che possono essere contrastate mediante l'assunzione di frutta e ortaggi notoriamente poveri di grassi e ricchi di fibre ed altre sostanze nutraceutiche, specialmente se consumati freschi.

Già da alcuni decenni l'attenzione della ricerca è stata posta sulla scorta di molteplici acquisizioni scientifiche, su diversi prodotti ortofrutticoli che assieme a derivati del frumento e dell'olivo e di alcune leguminose da granella sostengono la dieta mediterranea.

L'ampia gamma di forme, colori, sapori, aromi e consistenza dei prodotti ortofrutticoli stimola l'attrazione da parte del consumatore e quindi del mercato che negli ultimi decenni è sempre più attento all'innovazione di prodotto e di processo (Allende *et al.*, 2006).

Tali prodotti vengono raccolti allo stadio di maturazione commerciale quando la qualità visiva e le caratteristiche organolettiche sono gradevoli e rispondono alle esigenze dei consumatori. La percentuale di deterioramento post-raccolta varia in rapporto al loro metabolismo. Quando il periodo di tempo che intercorre tra raccolta e consumo è breve la variazione delle principali varianti della qualità sono modeste, ma spesso tale arco temporale è notevole e comunque in grado di deteriorare il prodotto.

Nel corso dell'evoluzione dell'uomo sono aumentate le distanze dal luogo di produzione a quello di consumo e di conseguenza anche i tempi, ecco perché le filiere agroalimentari hanno sentito il bisogno di migliorare le tecnologie di conservazione in post-raccolta in modo da prolungare l'integrità del prodotto nel

tempo evitando il deterioramento delle caratteristiche. A tale fine è necessario valutare gli effetti dei fattori che causano il deterioramento della qualità e rendono il prodotto non commerciabile.

Le principali problematiche da affrontare durante la fase post-raccolta dei prodotti ortofrutticoli riguardano:

- 1) la perdita di produzione non commercializzabile per via del deterioramento fisico e microbiologico del prodotto;
- 2) la perdita di qualità del prodotto conseguente a cambiamenti fisiologici che comportano variazioni ai tratti organolettici, nutrizionali e mercantili (Nicola *et al.*, 2006).

Giornalmente si registra una considerevole perdita dei prodotti ortofrutticoli in fase di post-raccolta in conseguenza dei processi metabolici degradativi che spesso si evidenziano durante la fase di commercializzazione del prodotto.

Per individuare strategie tecnologiche innovative per la conservazione del prodotto in fase post-raccolta è apparso utile un approccio interdisciplinare che analizzasse gli effetti dei protocolli di coltivazione, delle operazioni di raccolta e delle tecniche di post-raccolta e di commercializzazione del prodotto, allo scopo di contenere il deterioramento dello stesso consentendone una maggiore *shelf-life*.

Anche se alcuni prodotti ortofrutticoli presentano una struttura ed un metabolismo simile, le loro risposte a specifiche condizioni di conservazione in post-raccolta sono differenti. Queste variazioni di risposta possono essere significative alle fasi di maturazione, all'areale di produzione ed alle stagioni.

Particolare attenzione è stata inoltre posta sulle condizioni termometriche che contraddistinguono l'ambiente di conservazione e sulle principali manipolazioni di prodotto. Il ritmo dei processi metabolici si riduce con il diminuire della temperatura fino a raggiungere condizioni ottimali appena al di sopra del punto di congelamento (Garcia *et al.*, 2005).

Altro importante fattore ambientale che condiziona la conservazione è la tipologia di atmosfera nella quale il prodotto è posto. Mantenere un'elevata umidità relativa nell'atmosfera è necessario per minimizzare la perdita di acqua e per tale motivo il prodotto è posto in una confezione sigillata.

L'impiego di atmosfere modificate o controllate che utilizzano quantità elevate di CO₂ e ridotte di O₂, consente di ridurre i processi catabolici che si innescano nei tessuti del prodotto (Charles *et al.*, 2005).

Il recente sviluppo di film plastici con variabile permeabilità ai gas e la valutazione di differenti miscele di gas che permettono di modificare l'atmosfera di conservazione hanno riaperto l'interesse alla conservazione con questa metodologia (Brody *et al.*, 2001).

La presenza di etilene è stata preoccupante per gli effetti sui prodotti climaterici a causa della senescenza e della maturazione, ma sui frutti aclimaterici vi è un rinnovato interesse.

I principali problemi in post-raccolta derivano da disordini fisiologici causati da condizioni ambientali prima e dopo la raccolta, ad esempio la crescita di batteri e muffe.

Le tecnologie di post-raccolta devono essere poco invasive e di basso costo. La qualità è legata alla redditività e ciò richiede una conoscenza di tutti i fattori che possono garantirla.

Due recenti innovazioni in post-raccolta fanno riferimento a:

- 1) l'applicazione delle biotecnologie al miglioramento genetico finalizzato alla costituzione di genotipi che superino facilmente specifici problemi in post-raccolta
- 2) l'adozione di trattamenti minimali su frutta ed ortaggi che sottoposti a taglio o leggermente trasformati sono facilmente utilizzati dal consumatore

(Wills *et al.*, 1998).

La frutta e gli ortaggi di IV gamma sono i prodotti freschi, fisicamente modificati nella loro forma originale, ottenendo così il 100% di prodotto commestibile che successivamente viene confezionato, miscelato e frigoconservato (IFPA, 2005). Secondo l'International Fresh-Cut Produce Association (IFPA), i prodotti di IV gamma sono stati disponibili fin dagli anni '30 presso la distribuzione al dettaglio, quando prima erano indirizzati solamente alla ristorazione collettiva.

L'industria della IV gamma è oggi in continua crescita grazie anche alla tendenza verso un consumo di prodotti maggiormente salutari rispetto ai comuni

snack (Gilbert, 2000; Ragaert *et al.*, 2004). Organizzazioni come WHO (World Health Organization), FAO (Food and Agriculture Organization), USDA (United States Department of Agriculture) e EFSA (European Food Safety Authority) raccomandano l'incremento del consumo di frutta e ortaggi per ridurre il rischio di malattie cardiovascolari e tumori (Allende *et al.*, 2006).

Oggi giorno questi prodotti pronti all'uso sono presenti nelle case e nei luoghi di lavoro e di istruzione determinando un miglioramento complessivo della qualità nutrizionale degli snack, spesso indicati quali cause di obesità e di malattie nutrizionali ampiamente diffuse nelle popolazioni dei Paesi occidentali (Olivas e Barbosa-Cánovas, 2005). Altro punto di forza dei prodotti di IV gamma è l'assenza di materiale di scarto costituito dalla buccia (Garcia e Barrett, 2005).

Le donne sembrano essere più propense all'acquisto dei prodotti di IV gamma rispetto agli uomini per il loro facile e rapido utilizzo in cucina; fra i prodotti pronti all'uso le insalate continuano ad essere i più graditi (Sonti *et al.*, 2003; Bhagwat, 2006).

Le industrie dei prodotti di IV gamma, dato l'incremento dei consumi, stanno puntando sulla ricerca e sullo sviluppo, sulla tecnologia di confezionamento, sulla trasformazione e sulla refrigerazione. La frutta di IV gamma sta aumentando la sua produzione e commercializzazione, anche se gli ortaggi dominano per il momento questo settore (Martín-Belloso e Soliva-Fortuny, 2011).

Recentemente c'è stato un incremento di produzione dei prodotti pronti all'uso in tutto il mondo specialmente negli Stati Uniti dove apparivano nei mercati al dettaglio nel 1940; tali prodotti tuttavia a quell'epoca erano disformati e con una *shelf-life* piuttosto limitata. A circa metà degli anni '70 le catene di fast food iniziarono ad usare lattuga e cipolla tagliate e pronte all'uso mentre dalla metà degli anni '80 in poi iniziarono a diffondersi i prodotti di IV gamma anche nei locali pubblici sostituendo i prodotti inscatolati. (Garrett, 2002). La maggiore espansione del consumo di frutta e ortaggi di IV gamma è stata registrata negli Stati Uniti nel settore del fast food a seguito della loro introduzione nei menù di McDonald's e Burger King.

In Nord America i prodotti di IV gamma hanno fatto registrare una fatturazione di circa 15 miliardi di dollari l'anno rappresentando circa il 15% del

mercato agroalimentare (Scott, 2008). Miscela di frutti e ortaggi come quelle a base di melone, ananas, o ancora carote, funghi sono le più diffuse negli Stati Uniti (Perishables Group, 2008).

In Europa i prodotti di IV gamma furono introdotti in Francia all'inizio del 1980 da Florette Group. Da qui iniziò l'esportazione dei prodotti pronti all'uso verso Paesi come Regno Unito, Italia e Svizzera. I prodotti di IV gamma sono stati adottati da ogni Paese secondo le preferenze dei consumatori, la produzione, la distribuzione e la legislazione. In Spagna questi prodotti furono introdotti nel 1989 da Vega Mayor che li diffuse in Portogallo; oggi la Spagna rappresenta il Paese Europeo leader nel settore dei prodotti di IV gamma (Martín-Belloso e Soliva-Fortuny, 2011).

Nel mercato Europeo la distribuzione dei prodotti di IV gamma è differente tra i vari Paesi e la loro diffusione è ampia in diverse catene di supermercati mentre in alcune di esse vengono ancora considerati delle novità.

Nel 2004 il Regno Unito rappresentava il Paese leader nel settore di produzione di IV gamma con 120.000 tonnellate di prodotto, seguito dalla Francia con 77.000 tonnellate e dall'Italia con 42.000 tonnellate (Nicola *et al.*, 2006). Recentemente i Paesi con la più elevata crescita nel settore della IV gamma sono Germania, Olanda, Spagna e Regno Unito (Garner, 2008).

Il consumo medio dei Paesi europei è di 3 Kg pro capite di prodotto all'anno, ma vi è una sostanziale differenza all'interno dei Paesi, infatti nel Regno Unito è di 12 Kg, in Francia di 6 Kg ed in Italia di 4 Kg (Martín-Belloso e Soliva-Fortuny, 2011).

I Paesi dell'est europeo, grazie al miglioramento delle condizioni economiche stanno guardando con grande interesse a questo settore.

I prodotti di IV gamma furono introdotti in Korea ed in Giappone rispettivamente nel 1990 e nel 1980. Inizialmente, in entrambi i Paesi, il principale uso era nelle mense scolastiche e nei ristoranti, ma nei recenti anni è in aumento anche nei supermercati (Kim e Jung, 2006).

La Korea è uno dei Paesi che maggiormente ha accettato i prodotti pronti all'uso. Il Giappone copre il 66% del mercato dei prodotti di IV gamma (Kim, 2007) e nel prossimo futuro sarà la Cina il maggiore consumatore di questi prodotti (Zhang, 2007).

1.3.1 Caratteristiche del prodotto

Gli ortaggi sono rappresentati da una articolata gamma di specie afferenti a diverse famiglie botaniche che forniscono uno specifico gruppo botanico ed esibiscono un'ampia varietà di strutture della pianta che si possono raggruppare nei seguenti:

- 1) organi ipogei (radici, bulbi, tuberi, etc.)
- 2) organi vegetativi (germogli, foglie)
- 3) organi riproduttivi (infiorescenze, fiori, frutti e semi)

(fig. 3)

Generalmente sul frutto si forma uno strato ceroso che funge da rivestimento, e quando giunge a maturazione si evidenzia una marcata riduzione della traspirazione, gli organi sotterranei invece non producono questo rivestimento per cui potrebbero essere conservati ad elevata umidità relativa per minimizzare la perdita di acqua.

Generalmente le infiorescenze posseggono una bassa riserva di carboidrati in comparazione con i frutti e possono essere paragonati agli organi vegetativi (Wills *et al.*, 1998).

Le cellule delle piante sono delimitate da pareti cellulari più o meno rigide che sono costituite da diversi polimeri come le sostanze pectiniche, le emicellulose, le lignine e alcune proteine.

La parete cellulare è permeabile ad acqua e soluti e le principali funzioni sono quelle di:

- racchiudere il contenuto cellulare e mantenere i rapporti con le cellule adiacenti;
- sostenere la struttura cellulare ed i tessuti della pianta.

All'interno del plasmalemma è presente il citoplasma e diversi organelli tra i quali i vacuoli che contengono vari soluti come zuccheri, amminoacidi, acidi organici e sali, e sono circondati da una membrana semipermeabile, il tonoplasto. Insieme con il plasmalemma, che è semipermeabile, il tonoplasto è responsabile del mantenimento della pressione idroscopica della cellula, permettendo il passaggio di acqua ma restringendo il movimento di soluti o di

macromolecole, come proteine ed acidi nucleici, determinando la turgidità cellulare.

Il citoplasma comprende una matrice fluida di proteine, altre macromolecole e vari soluti. Un importante processo che si verifica in questa parte fluida è la rottura delle riserve depositate, come i carboidrati mediante la glicolisi e la sintesi delle proteine.

Il citoplasma contiene, come dicevamo prima, diversi organelli che svolgono funzioni importanti:

1. Il nucleo è l'organello più grande. Esso è il centro di controllo e contiene il DNA, è coperto da una membrana porosa che permette il passaggio dell'mRNA presente nel citoplasma.
2. I mitocondri consentono la respirazione enzimatica del ciclo dell'acido tricarbossilico (TCA) e rappresentano i centri della respirazione mediante il trasporto di elettroni attivati dall'adenosina trifosfato. I mitocondri utilizzano i prodotti della glicolisi per produrre energia utile per la vita della cellula e dell'organismo nel suo insieme.
3. I cloroplasti sono contenuti nelle cellule verdi, dove essi rappresentano l'apparato fotosintetico in quanto contengono la clorofilla e l'apparato fotochimico che converte l'energia solare in energia chimica.
4. I cromoplasti si sviluppano principalmente da cloroplasti maturi, quando la clorofilla è degradata e contengono carotenoidi.
5. Gli amiloplasti sono il sito di accumulo dei granuli di amido.
6. L'apparato di Golgi è rappresentato da una serie di vescicole piastrate, sede di sintesi e di secrezione di enzimi cellulari.
7. Il reticolo endoplasmatico è un sistema di cisterne e canalicoli delimitati da membrane di natura lipoproteica e consente il trasporto di secrezioni proteiche sintetizzate dai ribosomi.
8. I ribosomi sono i siti della sintesi proteica, sono strettamente ancorati al reticolo endoplasmatico anche se ve ne ritrovano liberi nel citoplasma. I ribosomi contengono acidi ribonucleici e proteine.

(fig. 4)

(Raven *et al*, 2002).

Molti frutti e ortaggi contengono più dell'80% di acqua, alcuni addirittura ne contengono il 95%, per contro i tuberi contengono circa il 50% di acqua mentre i semi circa il 20%. Il contenuto di acqua dipende dalla disponibilità di acqua nei tessuti al momento della raccolta (Gehhardt *et al.*, 1982).

I carboidrati sono generalmente i più abbondanti costituenti dopo l'acqua. Loro possono essere presenti attraverso un'ampia variazione di peso molecolare, da zuccheri semplici a polimeri complessi con più di 100 unità monomeriche di zucchero. Il contenuto di carboidrati nel prodotto è in genere pari al 2-4% e i principali zuccheri presenti nella frutta e negli ortaggi sono il saccarosio, il glucosio ed il fruttosio, presenti in rapporti diversi a seconda del prodotto. I frutti tropicali e subtropicali hanno la maggiore quantità di zuccheri, il sapore dolce, infatti, è una preferenza di gusto innata nell'uomo. L'uomo può digerire ed utilizzare zuccheri e lieviti e trarne energia, e gli ortaggi con elevati livelli di amido sono importanti per contribuire alla richiesta giornaliera di energia da parte dell'uomo (McCarthy e Matthews, 1984).

La fibra è costituita prevalentemente da cellulosa, sostanze pectiniche ed emicellulose, ma anche da lignina. La fibra non è digerita dall'uomo poiché non possiede gli enzimi necessari a rompere i legami che uniscono le unità monomeriche. Inizialmente si pensava che la fibra non fosse necessaria all'organismo umano, ma ben presto ci si rese conto che invece è utile per contrastare diverse malattie, specialmente quelle indotte dal miglioramento della ricchezza (obesità, diabete, appendicite, cancro al colon, malattie cardiache, etc.) (Haytowitz e Matthews, 1984).

I lipidi contenuti nella frutta e negli ortaggi generalmente sono meno dell'1%, eccezioni in tal senso sono rappresentate da l'avocado e l'oliva che ne contengono rispettivamente il 20% ed il 15%. Il basso contenuto di lipidi in frutta e ortaggi è un fattore positivo per combattere il rischio di malattie cardiovascolari (McCarthy e Matthews, 1984).

Frutta e ortaggi contengono elevati livelli di acidi organici e gli eccessi vengono immagazzinati nei vacuoli. Gli acidi dominanti di solito sono l'acido citrico e l'acido malico. Oltre alla loro importanza biochimica, gli acidi organici, contribuiscono ad attribuire un certo sapore, specialmente nei frutti.

Molto presenti in frutta e ortaggi sono le vitamine; la vitamina C ad esempio è un costituente minore ma è importante nella nutrizione umana per prevenire lo scorbuto. La richiesta giornaliera di questa vitamina è di 50 mg e molti prodotti contengono questa quantità in meno di 100 g di tessuto. Anche la vitamina A e l'acido folico sono molto presenti e la richiesta giornaliera è soddisfatta per il 40% dell'assunzione di ortofrutta; la vitamina A è utile alla salute degli occhi ed una sua carenza porta alla cecità. Il retinolo è il composto attivo della vitamina A, ma non è presente nei prodotti, però carotenoidi come β -carotene possono essere convertiti in retinolo dall'uomo. Solo circa il 10% dei carotenoidi presenti in frutta e ortaggi sono precursori della vitamina A. Il licopene del pomodoro è un carotenoide che non attiva la vitamina A. L'acido folico è coinvolto nella sintesi dell'RNA ed una deficienza porta all'anemia, una sua carenza durante i primi mesi di gravidanza è associata alla comparsa nel feto della spina bifida. Gli ortaggi da foglia sono una buona fonte di acido folico.

Il minerale maggiormente presente nella frutta e negli ortaggi è il potassio presente con più di 200 mg su 100 g di prodotto. I livelli più elevati sono presenti negli ortaggi da foglia che contengono circa 1200 mg su 100 g di prodotto (Gehhardt *et al.*, 1982; Haytowitz e Matthews, 1984).

Tutti i frutti e gli ortaggi contengono sostanze volatili. Questi composti non sempre sono importanti dal punto di vista alimentare (normalmente sono meno di 10 mg su 100 g di prodotto), ma servono a conferire l'aroma caratteristico dei frutti e di alcuni ortaggi. I composti volatili in un prodotto sono molteplici e migliori sono le attrezzature analitiche e più alta è la probabilità di individuarne altri. Questi composti sono principalmente esteri, alcoli, acidi e composti carbonilici (aldeidi e chetoni). Alcuni come l'etanolo sono comuni in frutta e ortaggi, mentre altri sono specifici come i volatili contenenti zolfo, che sono tipici delle Brassiche. In base allo stadio di maturazione si sviluppano determinati composti volatili per cui un soggetto bendato, se abile, potrebbe riconoscere e determinare la fase di sviluppo di un particolare prodotto solo dal suo aroma. (Maarse, 1991).

I prodotti orticoli dopo la raccolta, presentano un metabolismo molto intenso che innesca diversi processi catabolici. Durante la respirazione, ortaggi, frutti e fiori, assorbono ossigeno e rilasciano anidride carbonica e calore

traspirando acqua. Quando frutta e ortaggi si trovano ancora sulla pianta ciò che perdono con la respirazione e la traspirazione li riprendono dal flusso della linfa che contiene acqua, fotosintati e minerali. Poiché respirazione e traspirazione continuano anche dopo la raccolta, il prodotto dovrà fare ricorso alle proprie risorse, non potendo più ricorrere alla linfa (Artés-Hernández *et al.*, 2007).

Dopo una prima fase caratterizzata per ciascun organo dalla divisione cellulare e dalla successiva distensione cellulare, che determina la dimensione finale del prodotto, segue la maturazione dello stesso in conseguenza all'attivazione di diversi processi metabolici. La fase di senescenza del prodotto invece è definita come il periodo dove i processi biochimici anabolici (sintesi) danno il via a processi catabolici (degradazione), portando all'ingiallimento ed alla morte dei tessuti (fig. 5) (Watada e Qi, 1999).

Il termine maturazione di solito viene riferito alla frutta: essa rappresenta in realtà l'avvio dei processi di senescenza. E' difficile individuare specifici parametri biochimici e fisiologici per contraddistinguere le varie fasi di senescenza poiché tali parametri sono differenti in base al prodotto. I frutti vengono raccolti maturi o immaturi, mentre gli ortaggi vengono raccolti dall'inizio della maturazione (cetriolo) fino all'inizio della senescenza (pomodoro, anguria).

Il frutto maturo subisce molti cambiamenti fisiologici dopo la raccolta che determinano la qualità del suddetto che viene richiesto dal consumatore. La sua respirazione può essere descritta come la rottura ossidativa di complesse molecole presenti nelle cellule, come amidi, zuccheri ed acidi organici, con una conseguente produzione di energia e di altre molecole (Beaulieu e Lea, 2007).

La respirazione può essere aerobica (in presenza di ossigeno) o anaerobica (in assenza di ossigeno). La respirazione indica l'attività metabolica dei tessuti ed è una guida utile per la conservazione del prodotto. Nei frutti può essere climaterica o aclimaterica. La differenza consiste nel fatto che i frutti climaterici continuano a maturare anche dopo il loro distacco dalla pianta, mentre quelli aclimaterici no. Durante la fase di maturazione tutti i frutti producono etilene, però quelli climaterici ne producono più rispetto a quelli aclimaterici (Lelièvre *et al.*, 1997).

Tutti gli organismi viventi richiedono un continuo apporto di energia necessaria per il normale decorso delle reazioni metaboliche e per mantenere

inalterata l'organizzazione cellulare, il trasporto di metaboliti nei tessuti e la permeabilità della membrana cellulare. La maggior parte di energia richiesta dai prodotti orticoli è fornita dalla respirazione aerobica, che coinvolge la rottura ossidativa di alcune sostanze organiche immagazzinate nei tessuti. Un comune substrato per la respirazione è il glucosio che completamente ossidato produce anidride carbonica, acqua ed energia. La respirazione è essenziale per l'inversione di fotosintesi, dal quale l'energia derivante dal sole è stoccata come energia chimica, principalmente in carboidrati contenenti glucosio. Il glucosio è il composto principale coinvolto nell'iniziale fase ossidativa, ma spesso non è presente tal quale nella pianta. L'amido è la riserva principale di carboidrati della pianta che viene degradato a glucosio nella pianta grazie agli enzimi amilasi e maltasi o a glucosio-1-fosfato dall'enzima fosfatasi (Tucker, 1993).

Alcuni organi contengono saccarosio che deve essere idrolizzato a glucosio e fruttosio dall'enzima invertasi. La globale reazione può essere bilanciata come segue:



L'energia liberata dal sistema è intrappolata e stoccata in adenosin trifosfato (ATP) e ridotta in nicotinamide adenine dinucleotide (NADH); l'ossidazione di ogni molecola di NADH consente la formazione di 3 molecole di ATP. L'energia richiesta per la conversione di una molecola di glucosio a piruvato necessita di 8 molecole di ATP. L'energia è resa disponibile alla pianta rompendo un legame fosfato nella reazione reversibile:

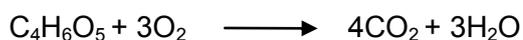


Questa energia può essere usata per le reazioni di sintesi e interconversioni metaboliche della pianta. La reazione globale è la seguente:



L'energia di una molecola di glucosio originale dal ciclo TCA (ciclo dell'acido Tricarbossilico) è equivalente a 30 molecole di ATP. L'anidride carbonica prodotta nella respirazione è derivata dal TCA in condizioni aerobiche e si svolge con il consumo di ossigeno. La percentuale di respirazione può quindi essere misurata con l'ammontare di CO₂ prodotta e di O₂ consumato. Il 90% di energia liberata è assorbita dalla pianta, il rimanente è disperso come calore.

Esistono altri processi di respirazione come quella del pentosio fosfato (OPPP) che converte il glucosio-6-fosfato a fruttosio-6-fosfato, gliceraldeide-3-fosfato e anidride carbonica attraverso un complesso ciclo di reazioni. Questa respirazione fornisce ribosio-6-fosfato utile ai nucleotidi ed agli acidi nucleici. Gli acidi organici, specialmente quello malico e quello citrico, contenuti nei vacuoli, possono essere usati come substrato della respirazione mediante il seguente processo ossidativo:



Tale processo genera più molecole di CO₂ in rapporto a quelle di O₂ consumate, mentre l'ossidazione del glucosio genera un egual numero di molecole di CO₂ per ciascuna delle molecole di O₂ consumate. Questa relazione diventa importante per misurare nella respirazione gli scambi gassosi, nei quali vengono misurati la CO₂ evoluta e/o l'O₂ consumato (Raven *et al.*, 2002; Goodenough *et al.*, 1985).

Il concetto di Quoziente Respiratorio (RQ) è stato elaborato per quantificare il rapporto tra la CO₂ prodotta (ml) e l'O₂ consumato (ml); la completa ossidazione del glucosio ha il valore di RQ uguale a 1. Un substrato alternativo potrebbero essere gli acidi grassi a lunga catena. La misura di RQ può indicare il tipo di substrato che è stato respirato (Salisbury e Ross, 1994).

La respirazione aerobica prevede l'uso l'ossigeno. L'atmosfera è ricca di ossigeno e quindi quello disponibile ai tessuti è illimitato. In alcune condizioni di stoccaggio però il quantitativo di ossigeno nell'atmosfera può essere limitato ed insufficiente per mantenere l'intero metabolismo aerobico. In queste condizioni i tessuti possono iniziare la respirazione anaerobica ed il glucosio viene convertito in piruvato, che viene metabolizzato in acido lattico o acetaldeide ed etanolo nel processo definito di fermentazione. La respirazione anaerobica produce meno energia per mole di glucosio rispetto a quella aerobica, ma essa consente la disponibilità di energia ai tessuti anche in condizioni di stress. La fermentazione anaerobica comporta la formazione di cattivi odori in frutta e ortaggi. Controllare l'ambiente di conservazione dei prodotti è utile; dopo la raccolta di frutta di ortaggi questi di norma vengono conservati a basse temperature per rallentare i processi degradativi ed aumentare la loro vita, oppure in atmosfera controllata o

modificata usando elevata quantità di CO₂ e modeste di O₂ per rallentare i processi respiratori nel prodotto (Salisbury e Ross, 1994; Watada *et al.*, 1996).

L'utilizzo di cultivar che producono prodotti con una modesta quantità di enzimi che innescano i processi degradativi è auspicabile al fine di poter ridurre le problematiche che emergono durante la fase di post-raccolta.

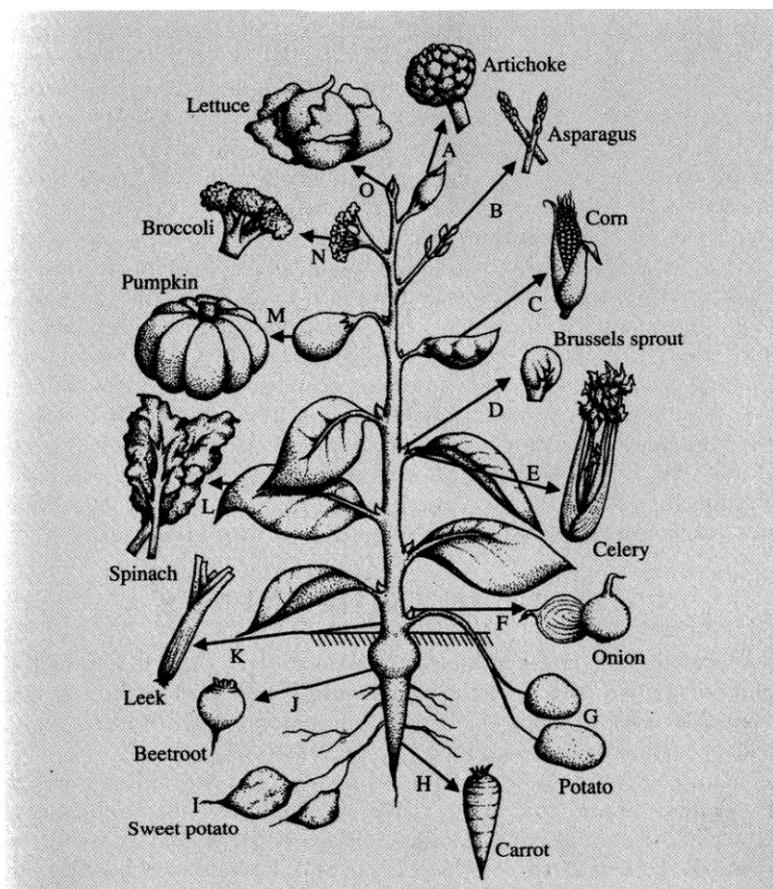
Grazie ai cambiamenti che avvengono durante la crescita e lo sviluppo di frutti ed ortaggi, il consumatore può riconoscere se il prodotto presenta le condizioni ottimali per essere ingerito.

Durante la germinazione il livello di zuccheri aumenta come risultato della rapida degradazione di grassi e amidi.

Nei frutti e nei semi secchi sono presenti modeste percentuali di metaboliti poiché hanno poca acqua nei tessuti. Al contrario, tutti i semi consumati come ortaggi freschi, legumi e mais, hanno alti livelli di attività metabolica poiché sono raccolti immaturi. La qualità di tali prodotti è determinata dall'aroma e dalla consistenza e non dall'età fisiologica degli stessi. Nel decorso dei processi di maturazione gli zuccheri sono convertiti in amidi conferendo al prodotto poca dolcezza, il contenuto in acqua diminuisce e quello delle fibre aumenta (Dennis e Turpin, 1990).

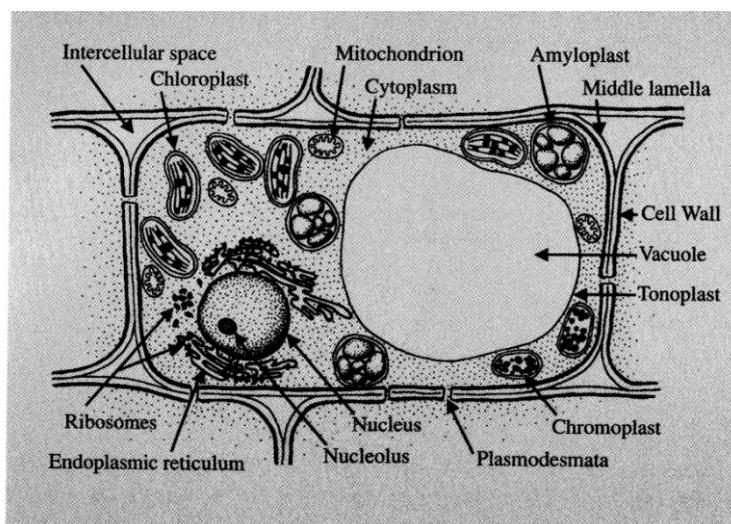
Fiori, gemme, stelo e foglie possiedono un'attività metabolica e una propensione al deterioramento differente. Infatti, gli steli e le foglie spesso vanno rapidamente incontro a senescenza, perdendo così la loro attrattiva ed il valore nutrizionale, segno visibile della senescenza è dell'ingiallimento dovuto alla sintesi dei composti carotenoidi. La consistenza del prodotto è la caratteristica principale per determinare l'epoca di raccolta e la qualità. I processi di crescita, di divisione e distensione cellulare, e la sintesi di proteine e di carboidrati cessano dopo la raccolta, ed avviene l'avvio dei processi catabolici (Borochoy e Woodson, 1990).

Bulbi, radici e tuberi sono gli organi di riserva della pianta, e quando vengono raccolti i processi metabolici subiscono un rapido rallentamento; in condizioni di conservazione appropriate essi possono andare incontro a fenomeni di dormienza. La fisiologia di questi organi è indirizzata a rallentare le attività metaboliche per poter ridurre i consumi di energia durante la dormienza (Wills *et al.*, 1998).



Derivation of some vegetables from plant tissue. The letters indicate the principal origins of representative vegetables as follows: (A) flower bud, artichoke; (B) stem sprout, asparagus; (C) seeds, corn; (D) axillary bud, brussels sprout; (E) petiole, celery; (F) bulb (underground bud), onion; (G) stem tuber, potato; (H) swollen root, carrot; (I) swollen root tuber, sweet potato; (J) swollen hypocotyl, beetroot; (K) swollen leaf base, leek; (L) leaf blade, spinach; (M) fruit, pumpkin; (N) swollen inflorescence, broccoli; (O) main bud, lettuce.

Figura 3 – Origine di alcuni ortaggi dai diversi tessuti della pianta (Wills et al., 1998).



Diagrammatic representation of a plant cell and its constituent organelles.

Figura 4 – *Rappresentazione della cellula vegetale* (Wills et al., 1998)

Growth, respiration and ethylene production patterns of climacteric and non-climacteric plant organs.

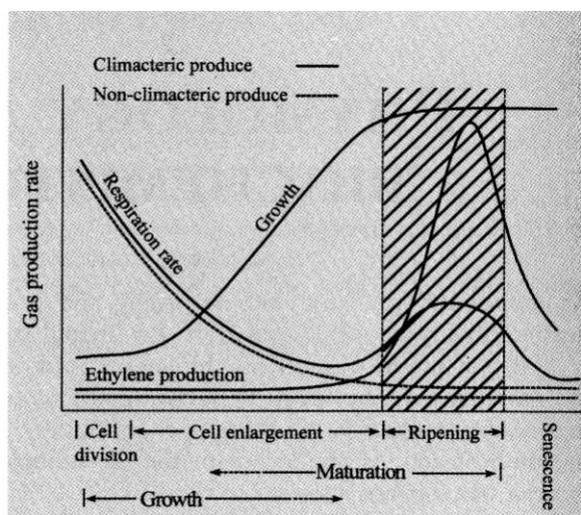


Fig. 5 – *Processo di accrescimento di prodotti climaterici ed climaterici* (Wills et al., 1998)

1.3.2 Effetti della temperatura e dell'atmosfera di conservazione del prodotto

La temperatura è il più importante fattore che governa il mantenimento della qualità post-raccolta di frutti e ortaggi.

La risposta dei prodotti orticoli alla differente temperatura può determinare:

- effetti normali a temperatura intermedia;
- effetti indesiderati a basse temperature;
- effetti indesiderati ad alte temperature.

Nel primo caso il prodotto raccolto è trasportato e stoccato sotto temperature modeste in modo da massimizzare la longevità. Gli effetti della riduzione di temperatura sul mantenimento della qualità dei prodotti non sono univoci. Un miglioramento sulla vita del prodotto in post-raccolta può essere ottenuto mediante una piccola riduzione di temperatura, ed una variazione anche di 1°C può avere effetti significativi. Il metabolismo di frutti e ortaggi coinvolge molte reazioni enzimatiche che incrementano esponenzialmente all'aumentare della temperatura. Abbassando la temperatura si abbassa la percentuale di deterioramento dei frutti climaterici e non climaterici e si riduce anche la produzione di etilene. Di solito la maturazione avviene a temperature comprese tra i 10 e i 30°C, anche se per alcuni prodotti avviene già a 10°C, anche se generalmente la conservazione migliora alla temperatura compresa tra 20-23°C (Salteit, 2004).

Nel secondo caso i prodotti possono essere esposti a basse temperature per diversi motivi, come ad esempio il trasporto. A 0°C si hanno lesioni da freddo e formazione di ghiaccio intra ed intercellulare, la precisa temperatura di congelamento dipende dalla concentrazione dei soluti nei tessuti. Il congelamento dei tessuti causa di essiccazione e stress osmotici nella struttura cellulare, poiché l'acqua viene a mancare per sopportare la crescita dei cristalli di ghiaccio e questa espansione, specialmente nelle zone intracellulari, può causare distruzioni fisiche della struttura delle cellule. Gli effetti di un congelamento e successivo scongelamento determinano l'ottenimento di un prodotto flaccido e di tessuti impregnati d'acqua. Alcuni prodotti come cavolo, cipolla e pere non subiscono questi danni allo scongelamento che deve però

avvenire in modo lento, così da permettere una redistribuzione dell'acqua (Kader, 2002).

Nel terzo caso le alte temperature causano danni ai prodotti per la diretta esposizione alla luce del sole, all'aria calda ed ai trattamenti termici. L'attività enzimatica in frutti ed ortaggi diminuisce a temperature superiori a 30°C, mentre a 40°C generalmente è inattiva. Quando il prodotto è conservato a più di 35°C il metabolismo diventa anomalo e determina la rottura delle membrane e della struttura cellulare a cui consegue il rapido deterioramento del prodotto; i cambiamenti vengono percepiti mediante la perdita dei pigmenti e l'aspetto acquoso o tralucido del prodotto (Crisosto *et al.*, 1993).

L'obiettivo del raffreddamento del prodotto è quello di rallentare il deterioramento dei tessuti e avviare processi di maturazione anomali, o altri cambiamenti indesiderati, e mantenere il prodotto in condizioni accettabili per il consumatore. Oltre a mantenere il prodotto a basse temperature occorre anche rimuovere il calore prodotto dalla respirazione, mantenere alta l'umidità relativa nell'ambiente di conservazione e in alcuni casi ventilare il prodotto. Durante la stagione estiva i prodotti orticoli alla raccolta sono spesso a temperatura prossima ai 40°C soprattutto se a diretto contatto con il sole; in queste condizioni termiche la vita del prodotto è breve, per cui si preferisce raccogliere la mattina presto e ridurre i tempi necessari per abbassare la temperatura del prodotto. Rapidità o velocità di raffreddamento dopo la raccolta sono collegati ai processi di "preraffreddamento", per cui sono importanti il trasporto refrigerato, la rimozione del calore dal campo e l'adeguata circolazione dell'aria all'interno dei contenitori forati. Il termine prerrefrigerazione è molto usato e comprende alcuni trattamenti refrigeranti da effettuare sul prodotto prima della spedizione, durante le fasi di stoccaggio e di trasformazione. (Wills *et al.*, 1998). I prodotti che solitamente dopo la raccolta registrano una vita breve devono essere refrigerati prima possibile. La temperatura ottimale è prossima a 0°C per i prodotti non sensibili al freddo, a 5-7°C per i prodotti moderatamente sensibili al freddo, ed a 13-15°C per quelli altamente sensibili al freddo. L'appropriato metodo di prerrefrigerazione dipende dalla temperatura del prodotto alla raccolta, dalla fisiologia del prodotto e dall'aspettativa di serbevolezza in post-raccolta (Varoquaux *et al.*, 2002).

I prodotti possono essere refrigerati con aria fredda, acqua fredda o ghiaccio. I tassi di raffreddamento dipendono dal calore trasferito dal prodotto al fluido di raffreddamento, dalla differenza di temperatura tra il prodotto ed il flusso di raffreddamento, dalla natura del flusso di raffreddamento e dalla conducibilità termica del prodotto.

Frutta, ortaggi e piante ornamentali sono costituiti prevalentemente da acqua, l'unico solvente universale importante per i processi vitali. La perdita di acqua comporta una perdita di peso del prodotto, determinata dalle elevate temperature a cui è sottoposto il prodotto, che causano un peggioramento della freschezza dello stesso, una velocità di maturazione, un cambiamento di colore. L'acqua libera può sostenere il decadimento microbico, ma anche la crescita di calli da lenticelle, il marciume e la radicazione nei broccoli, la radicazione e la germinazione nella cipolla e nella patata (Yingsanga *et al.*, 2006).

Una costante alimentazione d'acqua è essenziale per lo sviluppo fisico dei prodotti della pianta. Il potenziale idrico ($-\psi_{WP}$) è dato dalla pressione di turgore (ψ_{TP}) e dal potenziale osmotico ($-\psi_{OP}$), nella relazione: $-\psi_{WP} = \psi_{TP} + (-\psi_{OP})$. L'acqua nello xilema ha un potenziale osmotico basso così essa si muove dallo xilema dentro le cellule mediante un gradiente in potenziale idrico; l'acqua potrà così essere accumulata all'interno delle cellule e potrà esercitare una pressione contro la parete cellulare. Mentre questa pressione di turgore positiva contrasta il potenziale osmotico negativo della cellula, il potenziale idrico negativo che ne deriva sarà sufficientemente basso per continuare ad attingere acqua dallo xilema. Dopo la raccolta continua l'alimentazione di acqua però il prodotto non essendo attaccato alla pianta o al suolo determina la disidratazione dei tessuti, inizialmente si verificherà all'avvizzimento dei tessuti dell'organo, in quanto la rapidità del processo di avvizzimento dipende dal livello iniziale di idratazione dell'organo e dall'elasticità della parete cellulare che aumenta con la pressione di turgore (Raven *et al.*, 2002).

L'umidità dell'aria è determinata da una miscela di aria secca e vapore acqueo. Umidità è il termine generale che si riferisce alla presenza di vapore acqueo nell'aria. L'umidità relativa (RH) è il termine più conosciuto per esprimere l'umidità dell'aria umida e definisce il rapporto tra la pressione del vapore acqueo

nell'aria e la pressione di vapore saturo ed è espressa in percentuale. Il vapore acqueo ha un valore di RH pari al 100% (Alam *et al.*, 1996).

I danni meccanici possono accelerare la perdita di acqua, ed il taglio determina la rottura della superficie dell'organo che espone i tessuti all'atmosfera. Se il danno si verifica durante la crescita e lo sviluppo del prodotto, la pianta sigilla la zona interessata con uno strato di cellule di callo cicatriziale.

I movimenti d'aria sul prodotto influenzano la percentuale di umidità persa. Questi movimenti sono utili per rimuovere il calore dal prodotto, quando il prodotto è stato adeguatamente refrigerato si possono ridurre i movimenti d'aria abbassando la velocità o riducendo il tempo (Gaffney *et al.*, 1985).

La perdita di acqua può essere ridotta collocando una barriera fisica attorno al prodotto, in modo da ridurre i movimenti d'aria sulla superficie. Un metodo semplice per ridurre i movimenti d'aria è l'utilizzo di imballaggi rappresentati da contenitori, buste o scatoli cerati che consentono di ridurre le perdite di acqua. La percentuale di riduzione di perdita d'acqua mediante il confezionamento dipende dalla sua permeabilità, dal trasferimento di vapore acqueo e dalla dimensione del contenitore. Tutti i più comuni materiali utilizzati per realizzare i contenitori sono permeabili al vapore acqueo. Materiali come il film in polietilene sono eccellenti barriere al vapore e la loro percentuale di acqua trasferita è bassa comparata con quella della carta e del fibrocartone, che per contro presentano un'elevata permeabilità al vapore acqueo. Il confezionamento riduce il raffreddamento poiché restringe il movimento dell'aria attorno al prodotto. Se il film è molto sottile (10-50 μm) ed è a stretto contatto con il prodotto, non può verificarsi nessuna condensazione, tranne nelle zone di mancata adesione dove possono svilupparsi funghi. Ci sono materiali che però assorbono acqua, e questi sono la carta, la juta, le fibre naturali. I materiali che assorbono acqua e/o vapore acqueo potrebbero essere impiegati per raggiungere il parziale controllo dell'umidità del prodotto confezionato (Toivonen e Brummell, 2008).

I disordini fisiologici sono conseguenti a lesioni dei tessuti che non sono provocate da invasioni di patogeni o da danni meccanici, ma si evidenziano per effetto delle condizioni ambientali avverse in fase di pre o post- raccolta, o a

causa di temperatura o deficit nutrizionali durante la crescita e lo sviluppo (Jacxsens *et al.*, 2002).

La bassa temperatura ha degli effetti positivi sulla conservazione del frutto, poiché riduce la respirazione ed il metabolismo, ma non controlla nella stessa misura i processi metabolici.

Un danno comune a tutti i prodotti è la formazione di depressioni sull'epidermide dell'organo utilizzato dovuta al collasso delle cellule, che spesso si accompagna con il decoloramento, la perdita di acqua, la manifestazione di marciumi avviati dalla polifenolossidasi (Beattie *et al.*, 1989).

I danni da freddo si verificano quando il prodotto si trova a basse temperature, ma alcune volte appaiono quando il prodotto è movimentato a temperature più alte. I danni da freddo causano il rilascio di metaboliti, come aminoacidi e zuccheri, e di sali minerali dalle cellule che provvedono a fornire un substrato ideale per la crescita di organismi patogeni, specialmente funghi. Questi patogeni sono alcune volte latenti e possono contaminare il prodotto o durante la raccolta o nella fase post-raccolta, durante il trasporto o la commercializzazione. Altra conseguenza del freddo è lo sviluppo di cattivi odori.

L'evento principale da danni da freddo può essere separato in evento primario che riguarda la sensibilità delle cellule alle basse temperature e l'evento secondario che consiste in una lunga esposizione a queste temperature. Gli effetti degli eventi primari sono istantanei e reversibili, mentre quelli degli eventi secondari sono irreversibili e causano vari tipi di necrosi (Wang, 1990).

Le due cause più probabili di sensibilità al freddo sono:

- i cambiamenti nelle proprietà fisiche delle membrane cellulari dovuti alla modifica dello stato fisico della membrana lipidica;
- la dissociazione di enzimi e di proteine nella cellula che determina cambiamenti nella cinetica dell'attività enzimatica;

La suscettibilità ai disordini fisiologici dipende da diversi fattori come il grado di maturità alla raccolta, le tecniche di coltivazione, le condizioni climatiche durante l'accrescimento, la dimensione del prodotto, e le modalità di raccolta del prodotto in campo (Wills *et al.*, 1998).

Frutti e ortaggi spesso mostrano sintomi di imbrunimento del prodotto che vengono attribuiti a carenze minerali. Le piante richiedono un corretto equilibrio di

minerali per poter accrescere e svilupparsi in modo corretto. Può essere affermato che i disordini fisiologici possono verificarsi sia in casi in cui è attaccata solo una porzione di pianta che l'intero arbusto.

La carenza di calcio è stata associata a disordini fisiologici maggiori rispetto agli altri minerali. Altri minerali possono causare delle sintomatologie nei prodotti, quali il boro che può causare nelle mele una fisiopatia conosciuta con il termine interno sughero. Il minerale presente in maggiore quantità nelle piante è il potassio e sia una sua carenza che un suo eccesso possono provocare diverse fisiopatie.

Altri minerali possono causare ulteriori disturbi, come il rame, il ferro ed il cobalto, che inducono sintomi simili a quelli delle rotture dei tessuti conservati a basse temperature, ma questo non necessariamente significa che loro hanno un ruolo nello sviluppo dei disordini naturali. Anche i metalli pesanti possono catalizzare le reazioni enzimatiche (Poovaiah, 1986).

La composizione atmosferica della terra è notoriamente costituita da azoto per il 78,06% e da ossigeno per il 20,94%, il restante 1% è dato dalla somma di altri gas presenti in piccole quantità capitanati principalmente da argon ed anidride carbonica. La composizione dell'aria assume anch'essa risvolti di fondamentale importanza ai fini della corretta conservazione del prodotto, modificando la concentrazione di ossigeno ed anidride carbonica durante la fase conservazione è possibile influenzare la serbevolezza dei prodotti orticoli e della frutta. La modifica dell'atmosfera di conservazione associata alla bassa temperatura può anche sostituire, per alcuni prodotti, la refrigerazione. Nelle confezioni si possono accumulare composti volatili rilasciati dal prodotto, quali l'etilene. Se esso raggiunge livelli elevati può ridurre la vita del prodotto, per cui occorre tenerlo sotto controllo al pari di altri composti volatili, quali l'acetaldeide e l'etanolo, che possono stimolare effetti antimicrobici (Brondy *et al.*, 2001).

Tre termini molto impiegati per definire l'atmosfera di conservazione sono, atmosfera controllata (CA), atmosfera modificata (MA) e conservazione gassosa. Il primo definisce la riduzione della concentrazione di ossigeno presente nella confezione, un aumento dell'anidride carbonica ed il loro controllo, il secondo fa riferimento ad una composizione non attentamente controllata, ciò che avviene a seguito dell'utilizzo di film plastici che modificano intenzionalmente la

combinazione dei gas atmosferici; mentre il terzo definisce il *packaging* in atmosfera modificata (MAP), dove il film di confezionamento controlla la concentrazione dei gas dell'aria intorno al prodotto (Brody, 1989).

L'equazione generale della respirazione dimostra che essa può essere rallentata diminuendo l'ossigeno o aumentando l'anidride carbonica (Goodenough *et al.*, 1985).

I primi ad usare l'atmosfera modificata furono i cinesi che per trasportare i "litchi" usavano vasi d'argilla nei quali aggiungevano foglie fresche ed erba che consentivano di ridurre la concentrazione dell'ossigeno ed aumentare quella dell'anidride carbonica, ritardando così la maturazione. La prima evidenza scientifica sull'uso di questa metodologia risale al 1819-20 per merito di Jacques Berard. Kidd e West affermarono che concentrazioni elevate di CO₂ e modeste di O₂ rallentavano la germinazione di semi e la loro respirazione. Il loro studio si concentrò sulle mele che consentì la pubblicazione di *Gas storage of Fruit* (1927). Durante gli ultimi cinquant'anni, gli effetti dell'utilizzo dell'atmosfera controllata e dell'atmosfera modificata sono stati osservati su molti frutti con risultati diversi.

L'adozione dell'atmosfera controllata e di quella modificata, nonché la concentrazione di anidride carbonica ed ossigeno, dipende dalla tipologia di prodotto, e quindi dalla sostanziale tolleranza all'atmosfera di conservazione (fig. 6).

L'atmosfera modificata deve essere mantenuta lungo tutta la distribuzione dei prodotti per contribuire a mantenere la qualità del prodotto (Brecht *et al.*, 2003).

Modifiche delle concentrazioni di O₂ e di CO₂ hanno effetti sulla respirazione ed altri processi metabolici. Generalmente per ritardare la respirazione occorre ridurre l'ossigeno del 10%, lasciandone sempre un'adeguata quantità per evitare che si inneschi la respirazione anaerobica che può provocare cattivi odori. Più bassa è la temperatura di conservazione più bassa sarà la richiesta di ossigeno da parte degli organi commercializzati.

L'aggiunta di anidride carbonica può avere effetti sulla respirazione; se i suoi livelli sono troppo alti si possono avere effetti di anaerobiosi, per cui deve esserci un certo equilibrio tra ossigeno ed anidride carbonica. Negli ortaggi il

basso contenuto di ossigeno nell'atmosfera migliora la tenuta del colore verde poiché vi è una riduzione della distruzione di clorofilla. L'atmosfera modificata, specialmente quella ad elevata CO₂ inibisce la rottura di sostanze pectiniche così che la struttura è mantenuta per un periodo più lungo migliorando la ritenzione dell'odore (Rico *et al.*, 2007).

L'attività di molti organismi patogeni può essere ridotta con un'atmosfera contenente più del 10% di CO₂ purché tale concentrazione non venga elevata troppo (Hertog, 2003).

L'atmosfera controllata può ridurre marciumi che si innescano sul prodotto ritardando la maturazione e la senescenza dello stesso. La CA e la MA non necessariamente ritardano l'invecchiamento e la perdita di resistenza dei prodotti deterioranti.

Il primo metodo di verifica dell'AC è quello di osservare che la concentrazione di CO₂ eguagli quella dell'O₂. Generalmente la composizione è 5-10% CO₂ e 16-11% O₂, per mantenere i livelli richiesti si provvede alla ventilazione. Più avanti tuttavia si scoprì che livelli più bassi di O₂ davano maggiori benefici alle colture livelli cioè pari a O₂ al 2-3% e di CO₂ pari al 2-5% (Salveit, 2003).

Recentemente è apparso interessante utilizzare l'atmosfera controllata durante il trasporto per ridurre la deperibilità dei prodotti, particolarmente interessanti sono stati degli esperimenti svolti negli Stati Uniti facendo uso di azoto liquido. Durante il trasporto è possibile incrementare le concentrazioni di CO₂ ed N₂ nei container. I risultati sono apparsi interessanti ed hanno condotto all'utilizzo di azoto liquido per ottenere bassi livelli di O₂ oltre che basse temperature (Irving, 1984).

L'uso di film plastici in IV gamma dimostra che il ricorso all'adozione dell'atmosfera modificata è aumentata. L'AM all'interno delle confezioni sigillate dipende dalla temperatura poiché la permeabilità del film ai gas è solo virtualmente indipendente dalla temperatura alla quale il prodotto è normalmente manipolato, mentre il processo di respirazione è strettamente correlato con la temperatura. Il polietilene è permeabile ad N₂, CO₂ ed O₂ e la concentrazione di detti gas all'interno della confezione ritorna nel tempo come quella atmosferica, ma l'iniziale riduzione di O₂ è spesso utile. L'interesse all'utilizzo di film plastici è

aumentato negli ultimi anni grazie ai nuovi film con maggiore flessibilità alla permeabilità ai gas (Brancoli e Barbosa-Cánovas, 2000).

La conservazione ipobarica è una forma di conservazione ad atmosfera controllata nella quale il prodotto è stoccato in un parziale vuoto; tale tecnica è poco economica, ma ha trovato applicazione nella conservazione di carne fresca.

L'inizio della maturazione dei frutti climaterici è accompagnato da un incremento di produzione di etilene. L'azione dell'etilene deve essere evitata per quei frutti che durante lo stoccaggio ed il trasporto continuano a maturare, mentre gli effetti sui frutti aclimaterici e sugli ortaggi non sono benefici anzi riducono la qualità post-raccolta promuovendo la senescenza, con perdita del colore verde, cambiamento della consistenza e dell'aroma promuovendo le ferite provocate dalle basse temperature e la decadenza microbica. E' documentato che la presenza di etilene innesca la maturazione nei frutti climaterici, ma non che causa senescenza in quelli aclimaterici e negli ortaggi. La sensibilità del prodotto all'etilene può essere abbassata con lo stoccaggio a basse temperature e dall'aumento del livello di CO₂ o decremento del livello di O₂ (Mattoo e White, 1991).

La riduzione del livello di etilene nelle camere di conservazione può essere trascurata con una buona pulizia, separando i prodotti maturi da quelli immaturi, eliminando tutti i prodotti marci o danneggiati ed allontanando i gas emessi dai prodotti. Una buona pratica può essere quella di ventilare le camere di stoccaggio con aria proveniente dall'esterno.

L'etilene nell'atmosfera può essere ossidato dall'anidride carbonica e dall'acqua usando agenti chimici. Il permanganato di potassio riduce il livello di etilene, esso è non volatile e può essere separato dal prodotto, eliminando così il rischio di ferite causate da agenti chimici. Per eliminare l'etilene, il permanganato di potassio è sistemato su un supporto poroso inorganico e deve essere presente in soluzione satura ritardando così la maturazione di molti frutti. L'alta umidità durante lo stoccaggio limita la longevità del permanganato di potassio.

L'ozono è un agente ossidante adatto a distruggere l'etilene poiché è generato dall'ossigeno atmosferico, con scariche elettriche, o da radiazioni ultraviolette, è gassoso ed è miscelabile con l'etilene. L'ozono è una sostanza reattiva e può corrodere i tubi metallici ed i raccordi dell'apparato di refrigerazione

e reagire con i materiali di carta delle confezioni. L'ozono può causare ferite ai prodotti ed essere tossico per l'uomo anche a basse concentrazioni (Saltveit e Mencarelli, 1988).

Esistono dei prodotti chimici che sono tossici per l'uomo ma che vengono impiegati come anti-etilene per le piante ornamentali; a questo scopo vengono utilizzati anche ioni d'argento. Altro agente bloccante è l'1-metilciclopropano che applicato come gas è più sicuro determinando un minore impatto ambientale. Trattamenti con inibitori della sintesi di etilene sono un'alternativa a trattamenti con agenti bloccanti l'etilene. I principali sono l'aminoetossivinilglicina e l'acido aminoossiacetico che forniscono protezione solo contro composti endogeni e non esogeni. Un altro approccio per ridurre o eliminare gli effetti dell'etilene sui prodotti ornamentali è l'uso dell'ingegneria genetica mediante la valorizzazione di geni che inibiscono la sintesi dell'etilene (Vilas-Boas e Kader, 2007).

Il monossido di carbonio (CO) non è rilasciato dal prodotto fresco, ma esso può essere introdotto nell'atmosfera di stoccaggio per via della palettizzazione meccanizzata; altri prodotti ancora prodotti possono dare effetti che mimano quelli indotti dall'etilene, sono stati evidenziati effetti benefici per il controllo della decolorazione ed il ritardo di crescita della *Botrytis* nelle lattughe (Wills *et al.*, 1998).

Lavorando con i prodotti freschi si richiede frequentemente la misura della concentrazione di anidride carbonica, ossigeno ed etilene. L'Orsat gas analysis è usata per determinare la concentrazione di anidride carbonica ed ossigeno in numerosi campioni di gas, come quelli contenuti nelle camere di stoccaggio ad atmosfera controllata. L'analisi utilizza una buretta calibrata connessa ad un connettore di vetro a due tubi di assorbimento, il primo tubo è pieno di idrossido di potassio per assorbire anidride carbonica, il secondo di pirogallolo alcalino o ammoniaca di cloruro rameoso per assorbire ossigeno. La concentrazione dei due gas è determinata dalla riduzione del volume dell'aria del campione misurata nella buretta (Dilley *et al.*, 1969).

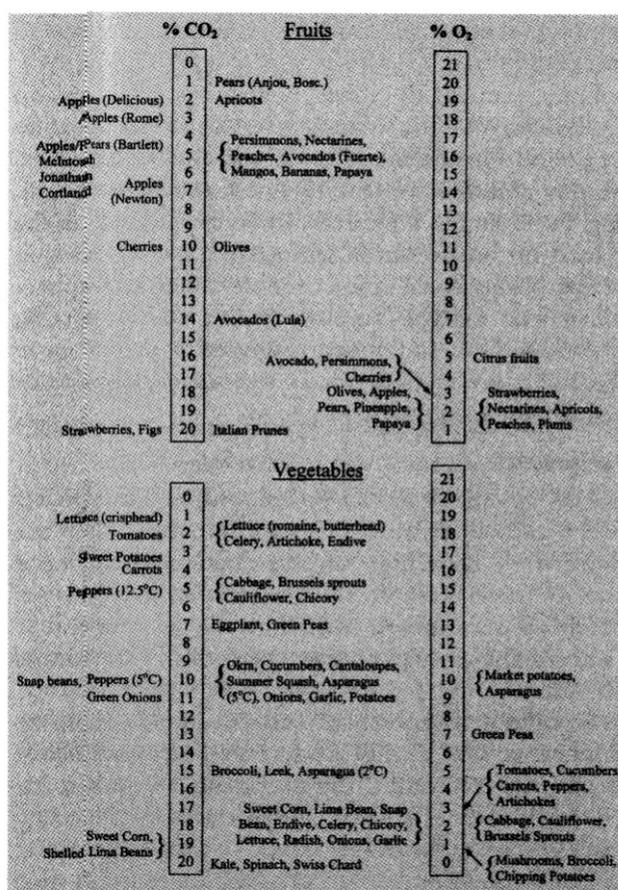
La gascromatografia a conduttività termica è utilizzata per analizzare piccoli campioni. I campioni di gas sono generalmente frazionati in ossigeno, azoto ed anidride carbonica su una colonna di gel di silice seguita da una colonna a setaccio molecolare. La concentrazione di ogni componente è

determinata dal detector che viene sollecitato dalle variazioni nella conduttività termica dei gas separati. Il gas vettore utilizzato è l'elio (Thompson, 1977).

L'analisi all'infrarosso misura l'anidride carbonica nel flusso di gas che scorre ed è specialmente adatta per essere incorporata in sistemi automatici. L'assorbimento avviene ad una specifica lunghezza d'onda.

L'analisi paramagnetica misura la concentrazione di ossigeno nel flusso di gas che scorre. Questa analisi può essere connessa con quella ad infrarosso.

La gas cromatografia usata con un detector di fiamma ionizzata è un sistema comune molto affidabile per misurare la concentrazione di etilene o altri idrocarburi. L'etilene è separato da altri gas su una colonna allumina. L'etilene separato è miscelato con l'idrogeno, bruciato in aria; gli ioni danno nella fiamma un segnale elettrico proporzionale all'ammontare di etilene presente nel campione di gas. Sono stati sviluppati due infrarossi laser-guida per misurare la produzione di etilene nelle piante *in situ* (Wills *et al.*, 1998).



Relative tolerance of fruit and vegetables to elevated carbon dioxide and reduced oxygen concentrations at recommended storage temperatures. Normal atmospheric air comprises 0.035 per cent carbon dioxide, 21 per cent oxygen and about 79 per cent nitrogen SOURCE A.A. Kader and L.L. Morris (1977) Relative tolerance of fruits and vegetables to elevated CO₂ and reduced O₂ levels, in D.H. Dewey (ed.) *Controlled atmosphere for storage and transport of horticultural crops*, Michigan State University, East Lansing, MI, 260-65

Figura 6 – Tolleranza di frutti e prodotti orticoli all'anidride carbonica ed all'ossigeno (Wills et al. 1998)

1.3.3 Tecnologie di confezionamento

E' noto che la conservazione di frutta fresca ed ortaggi dipende dalla temperatura e dall'umidità relativa dell'aria nella quale sono collocati. Per tale motivo particolare attenzione è data al controllo della temperatura e dell'umidità relativa e all'adozione dell'atmosfera controllata o modificata durante la conservazione del prodotto (Day, 2001).

Tradizionalmente in alcuni Paesi era previsto lo stoccaggio in campo in buche nel terreno. Ortaggi come patate, rape o cavoli, venivano sistemati dentro delle buche scavate in un pendio o in altri posti ben drenati; le buche venivano poi rivestite di fieno o paglia ed il prodotto successivamente coperto con paglia seguito da 10-20 cm di zolle erbose e terra per proteggerlo contro il congelamento o dall'eccesso di calore e di pioggia. La tecnica era vantaggiosa perché si poteva introdurre un tubo di ventilazione nella buca e ridurre così la respirazione anaerobica. Le cantine invece sono apprestamenti sotterranei più sofisticati, realizzate spesso in pendii, dove l'accesso è più facile e le aree sono ben drenate e protette dalla pioggia.

Esiste lo stoccaggio in aria-fredda in strutture isolate sopra terra, o parzialmente sotto terra, che vengono raffreddate con la circolazione di aria fredda (Wills *et al.*, 1998).

Per gli ortaggi da foglia, radici, funghi e fiori, occorre avere un sistema che raffreddi e crei umidità nella camera di conservazione, e ciò è ottenuto previo il passaggio del prodotto sotto una doccia di acqua fredda al fine di raggiungere temperature dell'aria di 1-2°C e percentuali di umidità relativa del 98% (ASHRAE, 1986).

Le prime camere di conservazione ad atmosfera controllata prevedevano un sistema di ventilazione che controllava l'accumulo di CO₂ prodotta dalla respirazione del frutto, mantenendo la sua concentrazione a livelli desiderati mediante ventilazione di aria al suo interno. Le camere hanno generalmente il 5-10% di CO₂ ed il 6-11% di O₂. Ulteriori studi hanno evidenziato che alcune cultivar venivano danneggiate con una concentrazione di CO₂ superiore al 3% e che benefici potevano essere ottenuti mantenendo una concentrazione di O₂ al 2-3%. Il controllo della CO₂ mediante aria al di fuori della camera non era

possibile poiché si poteva introdurre molto più ossigeno, per cui furono richiesti metodi per assorbire o per eliminare l'eccesso di CO₂. Furono impiegati soluzioni alcaline per assorbire l'anidride carbonica, come l'idrossido di potassio o l'idrossido di calcio, ma più tardi furono sviluppati metodi meno ingombranti e meno disordinati. Così si arrivò a camere con atmosfera controllata dotate di sensori per misurare e controllare la concentrazione di CO₂ e di O₂. Tecnologie moderne utilizzano azoto liquido o compresso per mantenere i livelli di O₂ al 2-3%. I generatori esterni sono stati sostituiti da separatori di gas, che possono generare flussi di gas contenenti basse concentrazioni di ossigeno, separandolo assieme all'azoto dall'aria. Questa separazione ha il vantaggio di non generare indesiderabili prodotti provenienti dalla combustione incompleta di carburante. Quando il livello di ossigeno è raggiunto, la concentrazione di anidride carbonica è controllata ed interrotta con un sistema di carboni attivi assorbenti.

Un essenziale funzione svolta dall'atmosfera controllata è quella di isolare l'ambiente esterno mediante una barriera di gas. Nelle camere "ingiacchettate" vi è del gas liquido (generalmente freon) all'interno di un intercapedine che riveste la cella frigorifera. L'aria fredda circola all'interno di questo spazio ristretto e rimuove il calore. L'aspetto svantaggioso è la necessità di disporre di condotti d'aria sotto il pavimento. Nelle camere del tipo "coperta" vi è la presenza di un film plastico che agisce come una coperta che limita il volume disponibile non utilizzato (Wills *et al.*, 1998).

I prodotti conservati saranno di elevata qualità se la fase di stoccaggio permette:

- la rapida riduzione della temperatura a livelli desiderati ed il suo mantenimento;
- la definizione delle concentrazioni ottimali di umidità relativa e di concentrazione di gas nell'atmosfera di stoccaggio;

Le camere di stoccaggio vengono mantenute a bassa temperatura per un paio di giorni prima della conservazione del prodotto; tre giorni bastano se la stanza è completamente isolata. La mancata prerrefrigerazione della camera prima del suo riempimento determina problemi nel mantenimento di una temperatura costante ed un lento raffreddamento comportando eccessivo deterioramento del prodotto.

E' consigliabile selezionare e calibrare il prodotto prima della conservazione; non è opportuno sovraccaricare la camera di conservazione ammassando il prodotto per meglio economizzare lo spazio; ciò determina una disforme circolazione dell'aria e problemi di accessibilità (Kader, 1985; Thompson, 1995).

Per una corretta conservazione occorre lasciare:

- il prodotto distante 8 cm dal muro esterno e 10-12 cm dal muro esposto al sole, agevolando la fuoriuscita del calore;
- un'intercapedine d'aria di non meno 20 cm lungo le pareti della camera, in modo da assicurare uno strato uniforme di aria fredda a contatto con il prodotto;
- una distanza di 8 cm tra il pavimento e ed il prodotto;
- piccoli spazi verticali per l'aria all'interno della catasta di prodotto;

Un migliore raffreddamento ed isolamento, ed una migliore barriera di vapore, possono contrastare la riduzione fisiologica di peso del prodotto e migliorare le condizioni di conservazione del prodotto dopo lo stoccaggio. La perdita di peso può essere contrastata bagnando il prodotto, come avviene per gli ortaggi da foglia.

I mezzi di trasporto su strada o su rotaie, ed anche le navi devono essere muniti di meccanismo di refrigerazione al fine di contrastare il deterioramento del prodotto e migliorare la *shelf-life* dello stesso (Wills *et al.*, 1998).

L'importanza del confezionamento come determinante finale della qualità del prodotto è largamente sottovalutata. Spesso i costi che riguardano la manipolazione, il confezionamento ed il trasporto, superano a livello economico ed energetico quelli della distribuzione. Una corretta gestione del sistema di distribuzione assicurerà al prodotto la sua qualità e massimizzerà i ritorni economici. Le due principali funzioni del confezionamento sono:

- 1) assemblare il prodotto in unità convenienti per la manipolazione;
- 2) proteggere il prodotto durante la distribuzione, conservazione e commercializzazione;

(Hardenburg *et al.*, 1986)

I primi imballaggi erano costituiti da materiale di origine vegetale, come foglie intrecciate, canne, erba ed erano lavorati a mano. Oggi invece i materiali

utilizzati per il confezionamento vengono prodotti industrialmente, ma possono derivare da materiale vegetale, oppure dalla plastica, o essere derivati da materiale riciclato. I materiali utilizzati per il confezionamento devono:

- avere sufficiente forza meccanica per proteggere il contenuto durante la manipolazione ed il trasporto;
- essere stabile nel tempo ed a diverse combinazioni ambientali;
- stabilizzare ed assicurare il prodotto contro i movimenti;
- non contenere sostanze chimiche che potrebbero essere trasferite al prodotto;
- incontrare le richieste di manipolazione e di commercio in termini di peso, dimensione e forma;
- permettere un rapido raffreddamento del contenuto;
- essere sufficientemente permeabili alle sostanze gassose;
- offrire sicurezza per il contenuto;
- identificare il contenuto;
- escludere la luce dove serve oppure essere trasparenti;
- essere facilmente smaltibili;
- presentare un bilancio costi-benefici rapportato al loro valore;

(Wills *et al.*, 1998).

Frutta e ortaggi variano ampiamente nella loro suscettibilità in relazione ai danni meccanici e al tipo di ferite che possono subire. Quattro differenti cause di ferite meccaniche al prodotto possono essere individuate: vibrazioni, compressione, impatto e taglio. L'imballaggio deve avere la capacità di trasportare dei carichi ed evitare che la merce si schiacci. Quasi tutti i tessuti sottoposti a sollecitazioni meccaniche imbruniscono a causa di fenomeni di ossidazione. Le ferite determinano un aumento della produzione di etilene e della respirazione accelerando il deterioramento del prodotto. Danni meccanici causano un'immediata perdita d'acqua del prodotto o di alcune sue parti (Story e Simons, 1997).

Quando si confeziona del prodotto deperibile occorre individuare i materiali che assicurano poche sollecitazioni, la confezione dovrebbe essere piena ma non troppo stretta, per cui sia un sotto-riempimento che un elevato-riempimento dovranno essere evitati. Il produttore deve assicurarsi di utilizzare

imballaggi sempre migliori e avere la certezza che questi conferiscano fattori positivi come una riduzione di spreco, stabilizzazione della qualità del prodotto e protezione contro i danni meccanici. Per evitare i danni da vibrazione si possono impiegare materiali assorbenti le vibrazioni come il cartone (Shewfelt e Prussia, 1993).

Il confezionamento deve poter permettere un veloce raffreddamento del prodotto, per cui potrebbe essere dotato di fori che consentano il passaggio dell'aria sia in ingresso (fredda) che in uscita (calda). Anche il volume dell'imballaggio è in relazione alla percentuale di respirazione del prodotto, poiché se la confezione è piccola ed il prodotto è tanto, il calore prodotto dalla respirazione resterà intrappolato.

Il confezionamento deve evitare la perdita di peso e l'avvizzimento del prodotto durante la fase commercializzazione, per cui si potrebbero utilizzare delle carte cerate o dei film plastici materiali che incrementino la resistenza della confezione all'umidità.

Le dimensioni della confezione sono importanti economicamente e strutturalmente. L'imballaggio dovrebbe offrire adeguata resistenza e sicurezza nella manipolazione e trasporto. Vi è la tendenza ad utilizzare piccole confezioni poiché il consumatore si sta rivolgendo sempre più a piccole pezzature. Le confezioni che vengono utilizzate dalle aziende per poter trasportare molto più materiale, sono standardizzate ed atte a promuovere una efficiente lavorazione negli stabilimenti. Una volta era il prodotto che doveva adattarsi alla taglia dell'imballaggio, ora invece è il contrario (Holt e Schoorl, 1984).

Per consentire la protezione del prodotto contro danni meccanici, l'imballaggio deve conservare la sua forza lungo l'intera catena di distribuzione. Il legno è molto costoso come materiale, mentre la plastica lo è di meno e può essere lavata e riutilizzata. I materiali di polistirene, che possono essere riutilizzati, sono molto leggeri e hanno bisogno di molto spazio per essere stoccati. Anche i pannelli di fibre possono essere idonei per preservare il prodotto dai danni meccanici. In condizioni di alta umidità, la forza del contenitore deve essere indipendente dall'umidità del contenuto e non deve essere idrofila. I cartoni e i pannelli di fibre sono poco idonei poiché assorbono l'umidità, mentre i secondi possono essere impiegati se ricoperti da cere.

Le confezioni generalmente vengono sottoposte a test per individuare la loro capacità a proteggere gli alimenti dalle vibrazioni.

L'imballaggio, inoltre, deve sopportare il carico dell'impilamento, è importante che il prodotto non si muova e che attenui le vibrazioni durante la manipolazione ed il trasporto. Un metodo di confezionamento per i frutti è l'avvolgimento individuale in fogli di carta, o carta plastificata, ma questo non aiuta a ridurre i danni da vibrazioni o la perdita di umidità.

Lo stoccaggio deve consentire all'aria di passare per raffreddare il prodotto, deve essere economico nello spazio e facile da raggiungere (Wills *et al.*, 1998).

I prodotti acquistati al dettaglio nei punti vendita, tradizionalmente confezionati in buste di carta, sono oggi confezionati in buste di polietilene, più economiche, più resistenti e di solito trasparenti. I supermercati hanno consentito l'innovazione del prodotto, che è pre-pesato e confezionato in piccole unità pronte per essere acquistate. I consumatori sono però ancora titubanti sull'acquisto di questi prodotti pre-confezionati e preferiscono scegliere direttamente l'ortaggio da utilizzare. Esistono confezioni avvolte da film plastici per evitare la perdita di peso, ma ne esistono altre che invece presentano un'atmosfera modificata al loro interno. I film con bassa permeabilità ai gas sono perforati per prevenire significanti modifiche dell'atmosfera della confezione. I film plastici hanno delle caratteristiche come permeabilità ad acqua e gas, saldabilità a caldo, chiarezza, possibilità di essere stampati, e possono avere altre specifiche qualità.

Il film in polietilene a bassa densità è molto trasparente, può essere saldato a caldo, è flessibile e può essere utilizzato in un ampio range di temperatura (-50°C e +70°C). Il polietilene è relativamente permeabile a molti composti volatili e gas, ma è comparativamente impermeabile al vapore acqueo. La permeabilità del film ai gas può essere controllata variando la sua densità o perforando il film (Peleg, 1985).

Oggi si parla di "confezioni attive" che offrono ad esempio un controllo della concentrazione di etilene e della temperatura presente all'interno della confezione senza doverla aprire.

La perdita di acqua può essere ridotta utilizzando un film intero, o micro-forato o macro-forato, in base al prodotto che deve contenere. I film che sono a stretto contatto con il frutto assumono la stessa temperatura per cui non incorrono nel problema della condensazione. Si possono impiegare dei film ad alta permeabilità d'acqua o con trattamenti anti-fogging (anti-condensa) che permettono di mantenere il prodotto visibile.

L'intensità della respirazione può essere controllata con film plastici che possiedono peculiari caratteristiche fisico-chimiche. La perdita del controllo della temperatura durante la manipolazione e il trasporto agevolano la respirazione dell'organo aumentando la probabilità che condizioni anaerobiche possono verificarsi in film plastici saldati.

Il confezionamento di prodotti orticoli ha un'enorme implicazione ambientale poiché coinvolge una larga quantità di materiali ed il loro eventuale disuso. Il legno è biodegradabile, la carta, le fibre ed il cartone sono riciclabili. Sono comunque prodotti la cui materia prima spesso proviene dal disboscamento. Confezioni di plastica solida sono maggiormente riciclabili. Polistirene e film plastici presentano problemi ambientali legati al loro smaltimento, per cui si assiste oggi a campagne di sensibilizzazione finalizzate al loro riciclaggio. Film biodegradabili possono essere ottenuti da cellulosa, amidi e proteine, ma ancora non sono molto diffusi (Wills *et al.*, 1998).

1.3.4 I Germinelli

Il germinello è il prodotto finale del processo di germinazione del seme, rappresentato dalla giovane plantula con i cotiledoni più o meno dischiusi, ma privi di involucro seminale, e della radichetta. La formazione del germinello è la diretta conseguenza della conclusione del processo di germinazione attivato dall'assorbimento dell'acqua che determina l'idrolisi delle sostanze di riserva che assicura l'energia necessaria per la formazione della plantula (Black *et al.*, 2006). Tale energia è fornita da carboidrati, lipidi e proteine, ma assieme a tali macronutrienti sono spesso presenti nel seme, e successivamente nella plantula, elevate quantità di metaboliti secondari che, come nel caso dei composti antiossidanti, conferiscono ai corrispondenti organi importanti caratteristiche salutistiche.

Fin dall'antichità molte civiltà hanno utilizzato i "grani germinati", ed i germinelli ottenuti dalla germinazione dei semi, come alimenti altamente energetici, tramandandone la preparazione e l'uso da generazione in generazione. Intorno al 2700 a. C., in Cina, i germinelli crudi di soia venivano utilizzati per scopi terapeutici contro edemi, dolori alle ginocchia, crampi, disturbi digestivi e malattie cutanee. I cavalli di Attila, re degli Unni, durante gli eventi bellici del 400 d.C. contro l'Impero Romano venivano foraggiati anche a base di germinelli di *Graminaceae* per fornire loro importanti integratori energetici. Dal XVIII al XIX secolo molti missionari e viaggiatori europei, di ritorno dal lontano oriente, diedero notizie ai popoli europei sull'uso dei germinelli presso le popolazioni cinesi ed indiane.

Oggi i germinelli vengono sempre più ricercati e consumati grazie alle loro elevate caratteristiche nutrizionali; il consumatore odierno, ed in particolar modo quello appartenente alle culture occidentali, è sempre più rivolto alla ricerca di cibi funzionali ad alto valore nutraceutico con l'intento di contrastare, mediante una corretta alimentazione, le fonti di inquinamento ambientale cui è soggetto quotidianamente.

Il germinello è un alimento fresco, che si presta ad essere ingerito crudo, che presenta diversi vantaggi: è facile da digerire, è privo di scarti poiché si utilizza per intero, è facile da preparare e conservare. Inoltre, La germinazione

comporta l'aumento della concentrazione di alcune vitamine ed incrementa la digeribilità dei legumi (Vidal-Verde *et al.*, 1998), mentre i composti antiossidanti possono essere accresciuti di circa 300 volte, aumentando in questo modo il valore nutrizionale (Doblado *et al.*, 2006).

I germinelli sono ricchi di vitamine, minerali, proteine ed enzimi. In particolare i germinelli di molte specie del genere *Brassica* oltre a possedere le caratteristiche sopra elencate, contengono numerosi metaboliti secondari quali i glucosinolati (Barillari *et al.*, 2007).

Inizialmente i germinelli erano ottenuti solo dai semi di soia e di erba medica, oggi sono diffusi nei mercati nazionali ed esteri un elevato numero di specie, specialmente appartenenti alla famiglia delle *Brassicaceae*, oltre che famiglie delle *Alliaceae*, *Poaceae*, *Apiaceae*, *etc.*.

Alcuni effetti nutraceutici dei germinelli di rafano e zenzero sono stati sperimentati su ratti sui quali è stato possibile osservare una diminuzione della concentrazione di TBARS (Thiobarbituric acid-reactive substances) e di 8-OHdG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine), che consentono di contrastare la perossidazione lipidica, la formazione di malonaldeide e di proteggere il DNA da eventuali danneggiamenti (Ippoushi *et al.*, 2007).

Recentemente, particolare attenzione è stata posta sui germinelli di cavolo broccolo per l'elevata concentrazione di glucosinolati in essi presenti rispetto al tradizionale prodotto fresco rappresentato dal corimbo. I germinelli di cavolo broccolo, infatti, sono ricchi di composti glucosinolati che idrolizzandosi determinano la formazione di diversi composti volativi, tra i quali gli isotiocianati. Il meccanismo d'azione che sostiene la funzione nutraceutica è determinato dall'idrolisi attivata dall'enzima mirosinasi, che determina la formazione di isotiocianati, nitrili, solfuri e tionitrili. Nei sistemi *in vivo* analizzati gli isotiocianati si presentano coniugati con il glutatione per poi essere metabolizzati sottoforma di acido mercapturico.

I germinelli di cavolo broccolo furono analizzati per poter individuare il potere induttore, la concentrazione di glucosinolati ed isotiocianati, il profilo dei glucosinolati e l'attività della mirosinasi. E' stato possibile osservare come nel prodotto crudo vi era la presenza dell'attività della mirosinasi, mentre in quello sottoposto a bollitura, tale attività non era più presente. Infine è stato osservato

come gli isotiocianati siano sei volte più biodisponibili dei glucosinolati (Shapiro *et al.*, 2001).

Al fine di aumentare la concentrazione di glucosinolati in germinelli di cavolo broccolo, Aires e collaboratori (2006) hanno svolto delle prove di fertilizzazione a base di azoto e zolfo. Dai risultati è emerso che la maggiore concentrazione di glucosinolati è stata individuata nella porzione epigea della plantula rispetto a quella ipogea. Differenze tra i glucosinolati presenti sono emerse anche con riferimento alle diverse parti della pianta, infatti, nella parte aerea è presente il 4-methylsulfinilbutyl e il 3-methylsulphynilpropyl; mentre in quella radicale è stato riscontrato il 2-phenylethyl e il 4-methylthiobutyl. Questi risultati hanno permesso di mettere in luce come la somministrazione di azoto e zolfo determini condizioni svantaggiose per quanto riguarda la sintesi di glucosinolati alifatici, mentre è risultata vantaggiosa per la formazione di quelli indolici ed aromatici.

Alcune esperienze hanno avuto lo scopo di verificare gli effetti dei glucosinolati, contenuti nei germinelli, sull'attività enzimatica duodenale, rettale e linfocitica glutatione S-transferasi (GST). Per l'esperimento furono impiegati 10 volontari non fumatori, 5 furono alimentati con una dieta glutatione-libero e 5 furono alimentati con una dieta a base di germinelli. Il risultato fu che l'elevata assunzione di glucosinolati mediante i germinelli riduceva l'incidenza al rischio di cancro (Verhagen *et al.*, 1997).

Un metodo per l'individuazione dei glucosinolati è l'accoppiamento di HPLC (high-performance liquid chromatography) con elettrospray ionizzazione tandem spettrometria di massa, che è sia sensitivo che selettivo, oltre a permettere l'individuazione dei composti tal quale piuttosto che i prodotti della loro degradazione a desulfoglucosinolati ed è la spettrometria di massa che garantisce una migliore selezione (Tian *et al.*, 2005).

Tra i diversi composti glucosinolati l'attenzione è stata posta sulla glucorafanina (GRA) e dal prodotto della sua degradazione che, ovvero l'isotiocianato denominato sulforafane (SUL). Il SUL è un potente induttore di diversi enzimi protettivi che provvedono a difendere l'organismo da patologie tumorali, in particolare quelle legate alla mammella (Johnston, 2004).

Force et al. (2007) evidenziarono la stabilità dei principali composti glucosinolati nei germinelli di cavolo broccolo, cavolo rapa, rucola, cavolo broccolo e Daikon conservati a 4°C per 3 settimane, evidenziando il loro potenziale anticancerogeno. I polifenoli presenti nei germinelli di *Brassicaceae*, rappresentati prevalentemente dal camferolo, dalla quercetina glucoside e dagli esteri idrossicinnamici, variano nel complesso da 4,30 a 13,80 acido gallico equivalente, ovvero mg acido gallico sul peso del campione espresso in g (Heimler et al., 2006).

Interessante notare la variazione del profilo dei composti glucosinolati nei diversi organi della pianta e per effetto del processo di germinazione (Bellostas et al., 2007). Ciò è emerso per il cavolo di Brussels (*B. oleracea* var. *gemmifera*) che contiene nelle foglie elevate quantità di sinigrina e glucobrassicina, oltre che gluconapina e progoitrina, mentre nei corrispondenti semi si ritrova la presenza di tracce di glucobrassicina, mentre compaiono la glucoerucina, la glucotropeolina e la neoglucobrassicina (Robert et al., 1980).

Il processo di germinazione favorisce dunque l'attivazione dei processi enzimatici coinvolti nella germinazione, ed i lipidi, i carboidrati e le proteine vengono scissi rendendo così l'alimento più digeribile ed assimilabile (Vidal-Valverde e Frías, 1992).

E' interessante notare come il quantitativo in glucosinolati dipenda anche dai processi di trasformazione dei germinelli. *Brassicaceae* prima scottate e poi cotte presentavano una perdita di glucosinolati, mentre quelle prima scottate e poi congelate per 48 ore il totale di glucosinolati non variava significativamente (Ciešlik et al., 2007).

I processi termici possono modificare anche il quantitativo di fenoli nonché la loro attività antiossidante e funzionale. Uno studio condotto su germinelli e piantine di frumento, grano saraceno, mais ed avena, ha permesso di osservare come il processo termico aumentava l'attività inibitoria dell' α -amilasi in grano saraceno ed avena, e riduceva la conosciuta funzione diabete relativa della 2,3-diidrossifenilalanina (L-DOPA) in tutti i germinelli e piantine testate. Tali variazioni sono probabilmente conseguenti alla riduzione del contenuto dei polifenoli totali ed al profilo della fenolossidasi o alla sua polimerizzazione causata dai processi termici (Randhir et al., 2008).

Ulteriori studi tesi hanno preso in considerazione gli effetti di diversi trattamenti sulla variazione dei composti glucosinolati su germinelli di cavolo di Brussels quali: l'immersione in acqua (50 °C; 5 minuti) e successiva scottatura in acqua a 100 °C per 3 minuti (PB); il trattamento con microonde da 700 W per 5 minuti e successiva scottatura in acqua a 100 °C per 2 minuti (MW); la scottatura in acqua a 100 °C per 4 minuti (DB). Il materiale così trattato è stato in seguito congelato a -18°C e conservato per 8 mesi. Con la scottatura la consistenza dei tessuti si è ridotta notevolmente e che il trattamento PB ha fatto evidenziare valori maggiormente negativi del parametro cromatico a^* . Tutti i trattamenti termici hanno determinato l'incremento dell'attività antiossidante (maggiore con il metodo MW), riducendo le quantità di acido ascorbico e dei flavonoidi totali (Olivera *et al.*, 2008).

La conservazione dei germinelli riveste un aspetto decisamente importante, in quanto l'adozione di corrette procedure consente di mantenere a lungo le caratteristiche nutraceutiche descritte in precedenza. I metodi di conservazione dei germinelli possono essere differenti, come ad esempio il sotto vuoto o l'atmosfera modificata mediante il confezionamento in involucri contenenti CO₂ e O₂ nelle quantità 8-11% e 9-13% rispettivamente.

Per valutare le caratteristiche qualitative dei germinelli freschi e dopo conservazione, Gajewski *et al.* (2008) misero in ammollo i semi lenticchia, cavolo broccolo, trifogli, amaranto, frumento, ravanella, pisello ed erba medica per 3 giorni al buio a 25°C. Le analisi ai germinelli permisero di evidenziare una riduzione del contenuto di carotenoidi totali e di β -carotene rispetto al prodotto fresco.

Sebbene i germinelli stiano riscontrando un progressivo interesse da parte del consumatore recentemente sono state evidenziate diverse problematiche relative alla sicurezza alimentare. A tale riguardo Jin e Lee (2007) valutarono diversi metodi per il controllo dello sviluppo di *Salmonella typhimurium* e di *Listeria monocytogenes* in germinelli di *Vigna radiata* (Mung bean). Il trattamento disinfettante con ClO₂ e l'adozione di atmosfera modificata con CO₂ permisero di contenere le due batteriosi.

Anche il film plastico impiegato nella confezione dei germinelli può influire sul mantenimento delle caratteristiche qualitative dei germinelli. Germinelli di

cavolo di Bruxelles furono confezionati in films rivestiti con glicerolo, sorbitolo, o con glicerolo più olio di girasole, conservato alla temperatura di 0°C ed all'U.R. dell'84,8% per 42 giorni, manifestavano colorazione brunastra, evidenti riduzione del peso e della consistenza mentre l'acido ascorbico e i flavonoidi totali rimanevano più o meno costanti; l'utilizzo di confezioni in PVC addizionati con glicerolo ha consentito di mantenere più a lungo le caratteristiche del prodotto (Viña*et al.*,2007).

1.4 Composti antiossidanti e funzioni nutraceutiche

I composti antiossidanti sono importanti molecole che contrastano i radicali liberi catturandoli e cedendo loro i propri elettroni evitando così l'ossidazione di altre molecole ad opera degli stessi (Halliwell *et al.*, 1995). I radicali liberi, infatti, sono responsabili dell'avvio di una reazione a catena che danneggia le cellule, stimolati da agenti ossidanti quali fumo, alcool, etc.

Un radicale libero è una molecola o un atomo particolarmente reattivo che contiene almeno un elettrone spaiato nel suo orbitale più esterno. A causa di questa caratteristica chimica sono altamente instabili e cercano di tornare all'equilibrio rubando all'atomo vicino l'elettrone necessario per pareggiare la propria carica elettromagnetica. Questo meccanismo dà origine a nuove molecole instabili, innescando una reazione a catena che, se non viene arrestata in tempo, finisce col danneggiare le strutture cellulari. I radicali liberi più conosciuti sono quelli a contenuto d'ossigeno (ROS da *Reacting Oxygen Species*) come l'anione superossido (O_2^-) ed il perossido d'idrogeno (H_2O_2). In presenza di metalli di transizione liberi (soprattutto ferro e rame) questi danno origine al radicale ossidrile (OH^\cdot), particolarmente tossico e responsabile della perossidazione lipidica (tab. 4).

La loro produzione è un evento fisiologico e si verifica normalmente nelle reazioni biochimiche cellulari, soprattutto in quelle che utilizzano ossigeno per produrre energia. Gli stessi radicali liberi possono essere prodotti anche a causa di fattori esterni. Dato che non è possibile impedirne la formazione, l'organismo umano ha elaborato un proprio sistema di difesa in grado di neutralizzare buona parte degli effetti negativi associati alla produzione di radicali liberi. L'accumulo di radicali liberi provoca l'irrigidimento delle membrane cellulari con riduzione della funzionalità delle stesse, nonché determina la degenerazione proteica di strutture funzionali dell'organismo (DNA ed enzimi) e l'invecchiamento cutaneo.

I lipidi, le proteine, i carboidrati e gli acidi nucleici sono macromolecole fondamentali per il nostro organismo ma possono essere danneggiati da reazioni di ossidazione in presenza di ROS.

Molti composti reattivi dell'ossigeno sono radicali liberi, cioè composti organici con uno o più elettroni spaiati, particolarmente instabili e reattivi; di esse fanno comunque parte anche composti non radicali, cioè che non hanno cariche libere. Le ROS sono continuamente prodotte nell'organismo umano a causa dei processi metabolici; inoltre possono accumularsi all'interno del corpo umano anche se sono presenti nell'ambiente esterno (tab. 5).

I radicali liberi non sono sempre pericolosi per l'organismo umano; svolgono alcune azioni molto utili all'organismo come la distruzione di microrganismi patogeni da parte dei fagociti, che sono cellule specializzate del sangue. Se però i radicali liberi non vengono disattivati la loro spiccata reattività può arrecare danno a tutte le macromolecole e condurre alla formazione di alcune malattie degenerative quali cataratte, cancro e arteriosclerosi.

I radicali liberi sono estremamente dannosi e possono danneggiare importanti molecole all'interno del corpo come i lipidi, le proteine ed il DNA. La principale causa della produzione di radicali liberi è comunque l'incremento del consumo di ossigeno, tale incremento avviene soprattutto durante l'attività fisica (fino a 20 volte), provocando un aumento del flusso di elettroni lungo la catena respiratoria. Più del 95% dell'ossigeno consumato dall'organismo viene ridotto nel modo più completo, cioè acquista 2 elettroni e 2 protoni e si trasforma in H₂O (riduzione tetraivalente).

All'interno del nostro corpo sono presenti diversi tipi di lipidi, a tal proposito i fosfolipidi sono i responsabili del mantenimento dell'integrità strutturale della membrana della cellula. I radicali liberi possono causare danno alle membrane cellulari dando luogo a fenomeni di ossidazione e rendendola dunque colante (Shigenaga *et al.*, 1994). L'ossidazione da radicali liberi di un altro tipo di lipide, la lipoproteina a bassa densità, si ritiene giochi un ruolo maggiore nello sviluppo dell'aterogenesi che consiste nell'ispessimento delle pareti arteriose (Witzum, 1994).

I radicali liberi sono anche causa di degenerazione di alcune proteine e dei geni. Alcune proteine fungono da importanti enzimi che regolano le reazioni metaboliche. I radicali liberi possono interferire con le funzioni delle proteine, causando un metabolismo irregolare e anormale (Stadtman e Oliver, 1991). Il DNA è il corredo genetico responsabile dell'ereditarietà. Il danno ossidante

arretrato al DNA nel tempo, può causare cambiamenti sia nella struttura che nel funzionamento dei cromosomi. Questi cambiamenti del codice genetico possono condurre al cancro e ad altre malattie croniche (Pincemail, 1995; Loft e Puloson, 1996; Agarwal e Sohal, 1994).

I vari meccanismi naturali e non che smaltiscono i radicali liberi sono classificabili in endogeni ed esogeni. Quelli endogeni sono attivati dalla superossido dismutasi, dalla catalasi e dal glutatone; quest'ultimo incorpora il selenio un antiossidante esogeno che diminuisce il rischio di contrazioni di malattie tumorali. L'organismo umano ha sviluppato numerosi meccanismi per proteggersi dagli effetti dannosi dei radicali liberi; esistono alcuni enzimi in grado di decomporre e sequestrare gli agenti ossidanti. La cellula, inoltre, ha a disposizione ulteriori meccanismi di difesa nel caso la funzione degli antiossidanti endogeni non risulti sufficiente. Quelli esogeni sono presenti in alcuni alimenti ed in qualche integratore alimentare, e come gli antiossidanti endogeni, sono in grado di intervenire favorevolmente nei processi di detossificazione attivando sistemi biologici di riparo.

L'organismo umano possiede naturalmente una rete molto elaborata di antiossidanti che aiutano a proteggerlo. Tuttavia, questo a volte non riesce a produrne a sufficienza ed ha bisogno di aiuti integrativi. Le diete ricche di frutta ed ortaggi rappresentano ottime soluzioni per un'integrazione di antiossidanti come la vitamina A, la vitamina E, la vitamina C, il selenio ed i carotenoidi come il β -carotene ed il licopene, attraverso i quali è possibile trovare rimedi naturali a molte malattie causate da eventi non più controllabili dall'organismo. In particolar modo un'attività fisica a livello agonistico vede la necessità di integrare la dieta con alimenti arricchiti in sostanze antiossidanti in quanto gli atleti sono maggiormente soggetti all'accumulo di radicali liberi.

Recentemente i polifenoli, in particolare i flavonoidi, sono stati portati all'attenzione per le loro proprietà antiossidanti e per l'abilità, osservata *in vitro*, di contrastare l'azione ossidante dei radicali liberi (Ross e Kasum, 2002). Una stretta correlazione è stata riportata tra i composti fenolici e la capacità antiossidante di frutta e verdura (Cao *et al.*, 1996).

Gli antiossidanti del latte rivestono un ruolo importante nel mantenimento della qualità dello stesso e nel prevenire la perossidazione dei lipidi. E'

importante determinare l'attività antiossidante del latte e caratterizzare i composti responsabili di tale attività poiché il latte è un alimento base nello sviluppo dell'organismo umano. A seconda della loro natura gli antiossidanti presenti nel latte sono differenziati in proteine e non-proteine antiossidanti; fra le proteine vengono annoverati vari tipi di enzimi ed un certo numero di proteine e peptidi, mentre fra le non-proteine sono presenti le vitamine A, C ed E (Lindmark-Mansson e Akesson, 2000). Il crescente interesse per lo studio dei composti antiossidanti naturali è stato accompagnato da un incremento della presenza sul mercato di quelli conosciuti come alimenti funzionali o nutraceutici (Andlauer e Fürst, 2002).

In Spagna è stato condotto uno studio sul consumo di frutta e verdura ed è stato osservato che la popolazione spagnola non consuma la quantità di frutta che invece viene raccomandata. Tuttavia la dose raccomandata viene raggiunta se viene preso in considerazione il consumo di succo fresco o confezionato (MAPA, 2004), è importante, quindi, proporre bibite di elevata qualità ed accertarne il valore nutrizionale. Bevande a base di frutta e prodotti lattiero-caseari recentemente sono di considerevole attenzione perché il loro mercato è potenzialmente in crescita. Questo tipo di bevande sono altamente nutrienti e particolarmente utili in circostanze di vita in cui si ha un'alimentazione inadeguata.

Tabella 4 - *Composti reattivi con l'ossigeno*

Radicali liberi	Non radicali
Radicale idrossilico	Acqua ossigenata
Anione superossido	Ossigeno singoletto
Radicale nitrossidico	Acido ipocloroso
Radicale lipoperossilico	Ozono

Tabella 5 - *Fonti di radicali liberi*

Fonti interne	Fonti esterne
Mitocondri	Fumo di sigaretta
Fagociti	Inquinamenti atmosferici
Reazioni che coinvolgono il ferro	Radiazioni
Esercizio fisico	Luce ultravioletta
Infiammazione	Farmaci, pesticidi, anestetici
Ischemia/riperfusion	Solventi industriali

1.4.1 I Glucosinolati

I glucosinolati (GSL) sono un gruppo di metaboliti secondari che comprendono una miscela di più di 130 composti differenti. Dal punto di vista chimico sono molecole costituite da un glicone comune, caratterizzato da un tioglucosio e da un'ossima sulfonata, e da una catena laterale alifatica, indolica o aromatica derivante da un corrispondente α -aminoacido, in particolare metionina, fenilalanina, tirosina e triptofano (Carratù e Sanzini, 2005). In seguito al taglio o alla lacerazione dei tessuti vegetali i glucosinolati contenuti nelle cellule sono rapidamente idrolizzati dall'enzima mirosinasi (tioglucosidasi), presente sia nelle cellule della pianta sia nella microflora dell'intestino umano (Branca, 2002), a composti intermedi instabili che si riarrangiano spontaneamente portando alla formazione dei composti volatili caratteristici quali isotiocianati (R-NCS), nitrili (R-CN), solfuri (R-Sn-R) e tionitrili (R-S-CN).

Le prime osservazioni sulle proprietà dei GLs e dei rispettivi prodotti di idrolisi, gli isotiocianati, risalgono ai primi anni del diciassettesimo secolo, come risultati di numerosi sforzi ottenuti per comprendere l'origine chimica del caratteristico sapore aspro dei semi di mostarda. Fin dalle prime evidenze sperimentali, le proprietà benefiche di questi composti contenenti gruppi sulfidrilici ed ampiamente presenti nella famiglia delle *Brassicaceae*, sono state maggiormente attribuite agli ITCs (isotiocianati) risultanti dall'idrolisi dei GLs. Negli anni '60, esperimenti effettuati su ratti trattati con idrocarburi policiclici aromatici definirono gli ITCs agenti chemiopreventivi, in quanto riducevano la formazione di tumori epatici (Sidransky *et al.*, 1966). Inoltre, negli anni '70, venne dimostrato che tali sostanze bloccavano la formazione di tumori epatici in ratti trattati con composti cancerogeni (Lacassagne *et al.*, 1970) ed a partire dagli anni '80, studi sperimentali, chiarirono i meccanismi alla base degli effetti chemiopreventivi di questi composti. Nei primi anni '90 Zhang e Talalay (1994) proposero che gli ITCs esplicassero la loro azione antitumorale.

Grazie a queste scoperte, negli ultimi venti anni è aumentato il consumo degli ortaggi aventi un alto contenuto di glucosinolati e recenti studi hanno evidenziato un'associazione inversa tra una dieta ricca di *Brassicaceae* ed il rischio di insorgenza di alcuni tipi di cancro umani. Studi effettuati sulla

popolazione tedesca di entrambi i sessi, su donne statunitensi e uomini finlandesi, evidenziavano una riduzione del rischio di sviluppare tumore polmonare in condizioni di elevati consumi di *Brassicaceae* (più di tre porzioni a settimana). Studi clinici su un campione di popolazione sottoposto ad un elevato consumo di broccoli e cavoletti di Bruxelles riportavano, ad analisi delle urine, un aumento nell'escrezione urinaria di un potenziale cancerogeno eterociclico presente negli alimenti e spesso associato alla cancerogenesi colonrettale.

E' noto che gli isotiocianati possano alterare il metabolismo o l'attività di alcuni ormoni sessuali coinvolti nella progressione di tumori come il cancro alla mammella, alla prostata, nonostante ciò non ci sono evidenze di un'inversa associazione tra consumo di *Brassicaceae* e questi due tipi di tumori. Spesso i risultati ottenuti dagli studi epidemiologici sono disomogenei e ciò dipende da vari fattori, tra cui il polimorfismo genetico che caratterizza gli individui e le caratteristiche dei prodotti di idrolisi dei GLs (Higdon *et al.*, 2007).

Gli isotiocianati, derivanti da glucosinolati aromatici ed indolici, hanno evidenziato in modelli animali un'attività chemioprotettiva grazie ad agenti che bloccano la carcinogenesi chimica (Carratù e Sanzini, 2005). Il sulforafane, isotiocianato derivante dall'idrolisi della glucorafanina (GR= 4-metil-sulfonil-butil glucosinolato) presente soltanto nei cavolfiori a corimbo colorato, è un potente induttore degli enzimi di fase II coinvolti nella detossificazione cancerogena (Branca, 2002). Esso protegge i ratti dai tumori dopo trattamento con un agente cancerogeno come il dimetil-benzantracene (Branca, 2002). Il meccanismo d'azione si esplica attraverso un'induzione nella fase II degli enzimi detossicanti, quali chinone redattasi, NADPH-riduttasi, glutatione-sulfotrasferasi e glucoriniltrasferasi, e inibizione degli enzimi della fase I, che attivano la carcinogenesi (Carratù e Sanzini, 2005).

Il meccanismo di biosintesi dei GLs è stato ampiamente studiato nella *Arabidopsis thaliana*, mediante approcci biochimici e genetici. Questi composti derivano dalla conversione di alcuni amminoacidi e si distinguono in alifatici, se il precursore è l'alanina, la metionina, la valina, la leucina o l'isoleucina; aromatici se sintetizzati da fenilalanina o tirosina; indolici se prodotti a partire dal triptofano. Alcuni precursori dei glucosinolati alifatici sono derivati della metionina e

caratterizzati dall'allungamento della catena laterale dello stesso amminoacido (per esempio omo-metionina, diomo-metionina, triomo-metionina).

Durante la sintesi intervengono numerose modificazioni che conducono all'estrema diversità di questi composti. La biosintesi è composta da tre fasi indipendenti. Inizialmente si ha l'allungamento della catena laterale dell'amminoacido di partenza a cui seguono, l'aggiunta del gruppo glucosidico solforato comune a tutti i glucosinolati e successive modificazioni nella catena laterale. L'allungamento della catena laterale dell'amminoacido avviene in diverse tappe, nella prima si ha una transaminazione a formare l' α -ketoacido, poi si ha una condensazione con una o più unità di acetilCoA ed infine una seconda transaminazione che recupera l'amminogruppo. La seconda tappa della biosintesi inizia con la conversione dell'amminoacido modificato nella corrispondente aldossima, molecola formatasi a seguito di tre reazioni catalizzate da diverse isoforme di CYP79 (citocromo P79) che si succedono in questo ordine: N-idrossilazione, ossidazione a nitro-derivato e decarbossilazione. L'aldossima è trasformata ad acido tirossimmico per opera di una sulfoniltransferasi, successivamente la molecola subisce una S-glucosinolazione mediante UDP-glucosio. Infine un'altra sulfoniltransferasi utilizza una molecola di PAPS (3'fosfoadenosin-5'fosfosolfato) per catalizzare il legame del gruppo solfato con l'atomo di azoto del desulfoglucosinolato. Dunque si ha la formazione del glucosinolato che può subire modifiche nella composizione della catena laterale (Fahey *et al.*, 2001; Grubb e Abel, 2006; Yan e Chen, 2007).

Nel 1959 Challenger fu il primo a definire la struttura chimica e la biologia dei glucosinolati. I GLs sono β -tioglucoside N-idrosolfati aventi una catena laterale (R) variabile ed un β -Dglucosio legato ad un gruppo sulfidrilico. Sono composti idrofilici molto stabili e normalmente presenti nei vacuoli di molte cellule in vari tessuti della pianta. In seguito ad una perdita di integrità cellulare (dovuta alla masticazione, alla triturazione o a qualsiasi altro processo che danneggia le foglie), i GLs vengono rilasciati e idrolizzati da una β -tioglucodidasi, la mirosinasi, a composti biologicamente attivi (Vermeulen *et al.*, 2006). In condizioni fisiologiche, l'enzima è localizzato nel citoplasma di cellule specializzate di tessuti adulti, definiti corpi mirosinici, conseguentemente al trauma l'idrolasi esce da queste cellule, entra in contatto con i GLs, e catalizza la

formazione di intermedi instabili di tioidrossamato-O-solfonato con contemporanea perdita di una molecola di D-glucosio e di uno ione idrogeno solfato. In base al pH, alla temperatura, alla natura ed alla concentrazione dei GLs e alla presenza di proteine che interagiscono con l'enzima mirosinasi, si possono formare diversi tipi di prodotti tra cui gli ITCs, (Zhang e Talalay, 1994; Grubb e Abel, 2006;).

L'enzima mirosinasi non è presente solo nelle piante, ma ne esistono molteplici forme tra cui quelle fungine e batteriche. Un tipico esempio è la presenza di tale enzima nella microflora intestinale animale ed umana, dove è responsabile della conversione della quota di GLs che arrivano a livello di questo tratto in modo integro (Fahey *et al.*, 2001; Krul *et al.*, 2002).

Tra tutti gli ITCs, il più studiato e caratterizzato è il sulforafano (4-metilsulfonilbutil-ITC), particolarmente abbondante nei broccoli dove è presente il suo precursore la glucorafanina (GRA). L'importanza attribuita a questo ITC è data dalla sua capacità di proteggere il corpo umano da xenobiotici ambientali; infatti, è nota l'efficacia del sulforafano nell'indurre l'espressione di enzimi detossificanti ed antiossidanti e nel regolare i livelli proteici e funzionali di differenti geni di CYP450. Inoltre, studi effettuati sulla popolazione sana, sottoposta a somministrazione di broccoli e quindi di glucorafanina o sulforafano, hanno mostrato che queste sostanze sono ben tollerate dall'organismo e non causano reazioni avverse. Queste caratteristiche contribuiscono a ritenere il sulforafano un possibile alleato nella chemioprevenzione di malattie cronico-degenerative (Fimognari *et al.*, 2008).

Studi sperimentali effettuati in linee cellulari di mammiferi, hanno dimostrato che elevati quantitativi di sulforafano sono rapidamente accumulati nel citoplasma cellulare a livello del quale è possibile raggiungere concentrazioni millimolari della sostanza. Il sulforafano oltrepassa la membrana plasmatica mediante trasporto passivo e, una volta nella cellula, interagisce reversibilmente con sostanze nucleofile aventi gruppi tiolici, quali proteine e GSH (glutazione). Il GSH è una molecola dell'organismo coinvolta nella prevenzione dell'insorgenza dello stress ossidativo. Il gruppo tiolico contenuto nel residuo di cisteina conferisce al tripeptide la caratteristica di agente riducente intracellulare, in particolar modo contribuisce a mantenere nello stato ridotto i residui tiolici delle

proteine e le specie altamente reattive quali i radicali liberi. Il sulforafano può reagire direttamente con il GSH a condizioni di pH fisiologico, oppure il legame può essere catalizzato dall'enzima glutatione S-trasferasi (Kolm *et al.*, 1995).

In seguito alla formazione di coniugati del GSH e alla fuoriuscita di tali metaboliti dal citoplasma cellulare, la quantità di GSH intracellulare tende a diminuire, rendendo le cellule particolarmente vulnerabili a possibili stress ossidativi causati da elettrofili endogeni ed esogeni come il sulforafano (Conaway *et al.*, 2005). Dunque la variabilità individuale nell'espressione dell'enzima glutatione S-trasferasi e delle proteine transmembranarie adibite al trasporto dei ditiocarbammati, può essere rilevante nella risposta cellulare al sulforafano e ai suoi analoghi (Eaton e Brammler, 1999). In seguito alla formazione di ditiocarbammati, il sulforafano è metabolizzato nella via dell'acido mercapturico che lo converte rapidamente in coniugato N-acetilcisteinico (NAC), per poi eliminarlo nelle urine. Inoltre la biodisponibilità del sulforafano dopo somministrazione orale o endovenosa è molto alta, con basso grado di variabilità interindividuale e la quantità di NAC escreta è direttamente proporzionale alla dose di sulforafano introdotta nell'organismo (Hanlon *et al.*, 2008).

I glucosinolati sono maggiormente presenti nel genere *Brassica*, famiglia *Brassicaceae*, che comprende parecchie ortive importanti per l'alimentazione umana. (Fahey *et al.*, 2001; Higdon *et al.*, 2007). Questi metaboliti secondari non sono solo presenti nelle *Brassicaceae*; almeno 500 specie di angiosperme dicotiledoni contengono uno o più fra i glucosinolati noti. Tra queste, oltre alle *Brassicaceae*, le famiglie che comprendono il maggior numero di glucosinolati sono le *Capparaceae* e le *Caricaceae* che comprendono il capperone e la papaia. Nelle singole specie del genere *Brassica* sono presenti elevati contenuti di GLs il cui numero può ampiamente variare tra una specie e l'altra; per esempio, i broccoli sono una ricca fonte di glucorafanina (GRA) ed i cavoletti di Bruxelles di progoitrina (Vermeulen *et al.*, 2006).

Il quantitativo di tali sostanze segue una distribuzione variabile nelle diverse parti della pianta (radici, foglie e semi) tanto da raggiungere l'1% del peso secco in alcuni tessuti ed il 10% in alcuni semi. Tale variabilità può essere attribuita all'età della pianta e ad alcuni fattori ambientali come la fertilità del suolo, eventuali malattie e l'uso di regolatori dell'accrescimento. Fino ad oggi, tra

le *Brassicaceae* sono stati trovati più di centoventi GLs che differiscono per la struttura della catena laterale. In base alle similitudini strutturali, i GLs ed i metaboliti ITCs possono essere suddivisi in diverse classi chimiche distinte a seconda della catena laterale. I più studiati sono quelli in cui -R- è:- alifatica, lineare o ramificata; - alifatica contenente un atomo di zolfo; - olefinica, lineare o ramificata, eventualmente portante un gruppo alcolico; - aromatica o eterociclica, in particolare indolica (Fahey *et al.*, 2001).

La struttura chimica dei prodotti dei glucosinolati è molto importante per l'attività biologica, piccoli cambiamenti nella catena laterale possono avere importanti conseguenze. Ad esempio, mentre i glucosinolati metiltioalchilici producono isotiocianati volatili responsabili del sapore acuto della rucola, quelli metilsulfinilalchilici sono precursori di isotiocianati non volatili che conferiscono un gusto meno intenso come quello tipico dei broccoli.

1.4.2 I Polifenoli

I polifenoli di origine vegetale sono sicuramente la classe di antiossidanti naturali più complessa e differenziata (Harborne, 1996), ogni tipo di pianta sintetizza composti fenolici in quantità e tipo diverso (Mattivi *et al.*, 2001).

Sono composti ubiquitari e fondamentali per la fisiologia della pianta, contribuiscono alla resistenza nei confronti di microrganismi ed insetti, alla pigmentazione ed alle caratteristiche organolettiche.

I polifenoli comprendono diverse classi di composti, tutti derivati del benzene, con uno o più gruppi idrossilici associati all'anello, che permettono a queste molecole di bloccare l'azione dei radicali liberi ed inibirne la formazione.

Le sostanze fenoliche rappresentano una categoria di fitonutrienti che esercitano una forte proprietà antiossidante (Ho, 1992); in letteratura è stata riportata l'abilità di alcune sostanze fenoliche ad esercitare azione antiossidante (Kähkönen *et al.*, 1999).

Oltre alla funzione di antiossidanti diretti i polifenoli agiscono anche da riducenti e chelanti di metalli proossidanti. In funzione del numero degli anelli fenolici e degli elementi strutturali che legano tali anelli, possiamo suddividere questi derivati benzenici in: flavonoidi, acidi fenolici, stilbeni e lignani. Tra queste classi, i flavonoidi costituiscono la categoria più numerosa comprendente più di 5.000 composti e dal punto di vista chimico sono difenilpropani che si distinguono in flavoni, isoflavoni, antocianidine, flavonoli, calconi e flavanoni. Tale distinzione è effettuata a seconda della varietà di combinazione di gruppi idrossilici, zuccheri, ossigeno e gruppi metilici che caratterizzano la struttura molecolare.

I composti fenolici sono un ampio gruppo di metaboliti secondari diffusi in diverse piante; sono catalogati in classi in base alla loro struttura e sub catalogati entro ogni classe secondo il numero e la posizione del gruppo idrossile. I più diffusi sono i flavonoidi che sono costruiti sullo scheletro del flavone $C_6-C_3-C_6$ (Aherne e O'Brien, 2002; Robards *et al.*, 1999).

I composti fenolici, specialmente i flavonoidi, hanno differenti attività biologiche, ma le più importanti sono rappresentati dalle attività antiossidanti, dagli effetti protettivi dei capillari sanguigni, ed dagli effetti inibitori suscitati in vari

stadi delle patologie tumorali (Cook e Samman, 1996; Czezcot, 2000; Hollman *et al.*, 1996; Kuntz *et al.*, 1999).

Gli effetti antiossidanti dei fenoli dipendono dalla stabilità di differenti sistemi, come numero e locazione dei gruppi idrossile. In alcuni studi in vitro effettuati durante la seconda metà degli anni novanta, i composti fenolici dimostravano elevata attività antiossidante come le vitamine ed i carotenoidi (Vinson *et al.*, 1995; Re *et al.*, 1999).

Il quantitativo dei polifenoli nelle specie di interesse agrario può essere influenzato da alcuni fattori come la varietà, le condizioni climatiche, le tecniche colturali, l'epoca di raccolta e le condizioni di conservazione. Nel caso dei composti fenolici, classi altamente reattive, sono importanti anche i metodi di preparazione degli alimenti (Podsędek, 2007).

I fenoli nei prodotti orticoli sono presenti sia nella forma libera che in quella coniugata. Generalmente, negli ortaggi freschi solo i flavonoidi coniugati sono presenti ma agliconi possono essere trovati come risultati di alimenti trasformati (Bahorun *et al.*, 2004).

Dal punto di vista nutrizionale è importante che gli antiossidanti polifenolici vengano assunti quotidianamente nella dieta in quanto essi vengono metabolizzati velocemente dal nostro organismo, l'apporto giornaliero dovrebbe essere pari a circa 1 grammo.

Il quantitativo di polifenoli totali può essere determinato attraverso la riduzione del reattivo di Folin-Ciocalteu a pigmenti blu ad opera dei fenoli. Tutti i campioni fenolici vengono dosati con questo saggio e la preparazione del campione è indispensabile per evitare le numerose interferenze. Per avere una stima dei polifenoli che non sia solo quantitativa ma anche qualitativa è possibile adottare ulteriori tecniche. La più versatile è la cromatografia liquida ad alta prestazione, in fase inversa o normale a seconda della classe di composti. La disponibilità di rilevatori quali gli spettrometri di massa con interfaccia elettrospray, particolarmente adatta a questa classe di composti, accoppiabili a rilevatori UV-VIS a fotodiodi, può semplificare il lavoro di riconoscimento dei singoli polifenoli, permettendo di acquisire simultaneamente importanti informazioni strutturali assieme allo spettro UV-VIS (Mattivi *et al.*, 2001).

La diversità nella struttura chimica è responsabile dell'azione antiossidante, antinfiammatoria, antibatterica, antimutagena ed anticancerogena di un flavonoide rispetto ad un altro. Studi sperimentali hanno dimostrato che queste molecole sono potenti antiossidanti in grado di sequestrare specie reattive dell'ossigeno come radicali idrossilici, anioni superossido e radicali prodotti dalla perossidazione lipidica. Molti sono i flavonoidi che assumiamo quotidianamente attraverso l'alimentazione a base di ortaggi e frutta; ad esempio la quercetina, abbondante nelle cipolle, broccoli, mele e bacche, l'apigenina presente nel prezzemolo e nel sedano, le catechine del tè, la cianidina delle ciliegie e delle fragole, la genisteina dell'olio di soia.

La quercetina è un potente agente antiossidante ed antinfiammatorio che protegge i vasi sanguigni dagli effetti dannosi prodotti dai radicali liberi. Inoltre questo flavonolo esibisce proprietà anticancerogene modulando l'espressione degli enzimi del metabolismo degli xenobiotici ed inducendo l'apoptosi delle cellule tumorali, in patologie tumorali della mammella, del colon e del retto. Il flavone apigenina presenta effetti inibitori sulla cancerogenesi attraverso l'induzione dell'apoptosi e l'arresto del ciclo cellulare di cellule cancerogene pancreatiche.

Negli ultimi anni è stato evidenziato un crescente interesse verso le catechine, flavonoidi presenti nel tè. Studi sperimentali ed epidemiologici hanno dimostrato che un elevato consumo di tè riduce il rischio di formazione di molti tipi di tumori umani come il melanoma, la leucemia, il cancro alla mammella, al polmone ed al colon.

Il flavanone naringenina contribuisce all'attivazione degli enzimi detossificanti e frena l'entrata in apoptosi dei cheratinociti, promossa dall'irraggiamento da UVB; inoltre, induce l'apoptosi delle cellule in diversi tipi di tumori. Tra le antocianidine, la cianidina è un ottimo antiossidante che riduce la perossidazione lipidica e proteica indotta da tetracloruro di carbonio.

Infine, la genisteina è un isoflavone con proprietà antiestrogenica. Studi *in vitro* hanno evidenziato la capacità della genisteina di inibire la crescita di molti tipi di cellule tumorali ormoni-dipendenti, come ad esempio cellule isolate da tumori umani alla mammella (Tsuda *et al.*, 2004; Pan e Ho, 2008).

I polifenoli sono molecole composte da più cicli fenolici condensati (composti organici che possiedono uno o più gruppi ossidrilici - OH - legati ad un anello aromatico). In base alla loro struttura possono essere schematicamente distinti in tre diverse classi, quella dei fenoli semplici, quella dei tannini e quella dei flavonoidi:

Alla classe dei fenoli semplici appartengono gli acidi fenolici, le cumarine e gli acidi benzoici. La loro condensazione può dare origine a polimeri come la lignina; sono ampiamente distribuiti in alimenti e bevande (come l'acido caffeico del caffè).

Alla classe dei tannini appartengono due categorie: i tannini condensati ed i tannini idrolizzabili. I primi sono detti anche proantocianidine, poiché per idrolisi con acidi forti danno antocianidine. I secondi sono polimeri eterogenei contenenti acidi fenolici (ad es. l'acido gallico) e zuccheri semplici.

I flavonoidi sono una vastissima famiglia di composti polifenolici a basso peso molecolare; la maggior parte di essi è disposta nello strato più esterno dei tessuti vegetali (Clifford, 1999). I flavonoidi sono suddivisi in flavoni, flavonoli, antocianine, catechine e flavononi a seconda della struttura dell'anello eterociclico. Quantitativamente sono di grande importanza i polimeri dei flavonoidi, soprattutto delle catechine. Esistono diverse teorie relative al ruolo svolto dai flavonoidi nelle piante; tra le più accreditate ci sono quella di protezione contro i raggi UV-B e di difesa da attacchi patogeni. Il potere antiossidante dei flavonoidi è legato alla loro struttura ed in particolare alla presenza di numerosi gruppi ossidrilici sugli anelli benzenici. Come altri polifenoli, possono cedere l'atomo di idrogeno ad altri substrati funzionando in questo modo da potenti antiossidanti.

La soppressione di neoplasia intestinale può essere raggiunta mediante i componenti presenti in una corretta alimentazione (acido folico, calcio, selenio) (World Cancer Research Fund, 1997), mediante antiinfiammatori non steroidei (Baron *et al.*, 2003; Sandler *et al.*, 2003), oppure mediante agenti biologici come i flavonoidi (Knekt *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 2001). Questi metodi di primaria e secondaria chemioprevenzione sono stati a lungo studiati. La mortalità causata dal cancro al colon è la seconda tra le cause di morte (Hoensch e Kirch, 2005). Investigazioni epidemiologiche e prove cliniche randomizzate con composti

chemiopreventivi sono ora riportati con informazioni cliniche per applicarle al di fuori degli studi (Greenberg *et al.*, 1994; Kent *et al.*, 2002). L'acido ursodeoxycholic è espansivo ed è stato dimostrato essere efficace solo in pazienti con colite ulcerosa (Paradi *et al.*, 2003). I flavonoidi del te sono una promettente alternativa di prevenzione in quanto non rappresentano motivo di rischi per la salute umana, mostrano una buona conformità e sono dotati di lunga persistenza (Hoensch e Kirch, 2005).

Una stima quantitativa della presenza delle diverse classi di composti flavonoidi può essere eseguita agevolmente attraverso metodiche spettrofotometriche, avendo cura di eseguire una purificazione del campione al fine di separare i composti fenolici dagli altri antiossidanti (Mattivi *et al.*, 2001).

Non tutte le prove epidemiologiche confermano l'associazione positiva tra consumo di bioflavonoidi e protezione dal cancro (Hertog *et al.*, 1994; Goldbohm *et al.*, 1995). In altri studi è stato evidenziato che l'assunzione di frutta e di ortaggi riduce l'insorgenza di cancro al colon-retto (Michels *et al.*, 2000), mentre le vitamine non sono utili a questo fine (US Preventive Service Task Force, 2003).

Il gruppo dei flavonoidi comprende circa 4000 specie, ma di questi l'attenzione è maggiormente focalizzata sulle proantocianine (flavonoli come catechine) contenute nel te verde o nero e su flavoni contenuti nella camomilla, questi composti sono solubili e non tossici (tab. 6) (Aherne *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2002).

Le antocianine sono tra i più importanti gruppi di pigmenti presenti nei vegetali. Nel gruppo delle antocianine rientra infatti la maggior parte di coloranti presenti nei petali, nei fiori e nei frutti. Nelle antocianine i monosaccaridi o i disaccaridi sono per lo più legati attraverso un legame glucosidico all'ossidrile in posizione 3; in alcune un secondo residuo di zucchero compare inoltre legato all'ossidrile in posizione 5. Quest'ultimo ossidrile è in ogni caso unito ad un residuo di zucchero quando l'antocianidina non presenta l'ossidrile in posizione 3. Alcune antocianine complesse liberano per idrolisi acida, oltre allo zucchero o agli zuccheri e all'antocianidina, una o più molecole di acido malonico o *p*-idrossibenzoico o *p*-idrossicinnammico, che nella molecola dell'antocianina complessa esterificano alcuni ossidrili alcoolici degli zuccheri. Le antocianine contenute nei più comuni alimenti del regno vegetale, derivano dai loro rispettivi

agliconi (antocianidine). Il loro numero è 15 o 20 volte maggiore rispetto a quello delle antocianidine. Di queste quelle maggiormente presenti nei tessuti vegetali sono 6: delphinidina, petunidina, cianidina, malvidina, peonidina e pelargonidina. L'estrazione delle antocianine dai tessuti vegetali viene in genere condotta con soluzioni di acido cloridrico o metanologico all'1-2%. Il colore delle antocianine e quello delle antocianidine dipende dal pH del mezzo: ad es. l'antocianina dei petali del fiordaliso, la cianina, costituisce anche il colore della rosa e di alcune dalie, nelle quali esso assume un diverso colore a causa del pH. Un altro fattore che nei tessuti vegetali provoca notevoli variazioni del colore delle antocianine è la formazione di sali assai stabili con i cationi dei metalli pesanti e ciò si verifica in particolar modo quando l'antocianina presenta nelle posizioni 3' e 4' una coppia di ossidrili fenolici liberi. L'uso di matrici alimentari ricche in antocianine viene spesso ricordato in medicina per la cura di disfunzione infiammatoria come l'artite e per la prevenzione e le terapie dei disordini circolatori; la bio-attività delle antocianine si potrebbero riassumere nelle proprietà antiossidanti, antiradicaliche e antiproliferative.

Alcuni autori hanno focalizzato la loro attenzione su specifiche classi di composti, quali ad esempio le catechine monomere od i flavonoidi, producendo fondamentali tavole di comparazione tra le possibili fonti alimentari (Arts *et al.*, 2000).

Una stima più verosimile dell'apporto medio di polifenoli nella dieta occidentale è stata predisposta da Kühnau (1976), che ha proposto un'assunzione media pari ad 1 grammo al giorno, valore ritenuto affidabile anche da Scalbert e Williamson (2000). Gli antiossidanti polifenolici presenti nella dieta possono essere in maggior parte ricondotti alle due classi rispettivamente dei flavonoidi e degli acidi fenolici. I flavonoidi contribuiscono a circa 2/3 dell'apporto medio nella dieta occidentale, mentre gli acidi fenolici apportano il restante terzo. In conclusione, si possono tenere come riferimento dei valori giornalieri pari a circa 700 mg per i flavonoidi e circa 300 mg per gli acidi fenolici.

Dal punto di vista quantitativo i flavonoidi sono costituiti essenzialmente da due classi nettamente più importanti per quantità e diffusione, ossia gli antociani ed i flavanoli (catechine e proantocianidine oligomere). Sono presenti altre classi di flavonoidi anch'esse interessanti dal punto di vista biochimico, ma

solitamente a concentrazioni decisamente minori e soprattutto nelle parti esterne del frutto, come i flavanoli glucosidi, oppure presenti solo in alcuni alimenti, come ad esempio gli isoflavoni della soia o i flavanoni glucosidi degli agrumi. I flavonoidi sono presenti soprattutto nella frutta e nelle bevande di origine vegetale (vino, tè), dalla cioccolata ed in misura minore dalla verdura.

La classe di gran lunga maggioritaria tra gli acidi fenolici è costituita dagli acidi cinnamici, che sono dei composti presenti in un largo numero di alimenti e bevande di origine vegetale, in particolare nella frutta ed in alcune bevande quali il caffè ed il vino, sia rosso che bianco. Sono presenti anche in diversi ortaggi (cavoli, lattuga, cicoria, pomodori, broccoli, etc.) ma a concentrazioni inferiori rispetto agli alimenti precedentemente menzionati. Ciascun tipo di alimento di origine vegetale può inoltre contenere significative quantità di un largo numero di acidi fenolici minori, anch'essi candidati a svolgere una potenziale azione antiossidante.

I flavonoli sono localizzati per la maggior parte ed esclusivamente nelle parti esterne (buccia), le proantocianidine sono maggiormente localizzate nella buccia e nei semi. I composti presenti nella polpa e nel succo sono di pronta disponibilità, è più difficile ipotizzare un importante recupero dei composti presenti nelle parti solide, specialmente se si tratta di semi parzialmente lignificati o di bucce spesse e resistenti (Mattivi *et al.*, 2001).

Certi tipi di fibre possono essere associate o trasportate da composti biologici attivi che sono responsabili della prevenzione. Questa è un'ampia varietà di candidati per la prevenzione biologica come flavonoidi, isotiocianati, glucosinolati e terpeni (World Cancer Research Fund, 1997).

Una dieta contenente flavonoidi può aiutare a prevenire alcuni tumori maligni (Knekt *et al.*, 1997; Kuo, 1997). È stato studiato che l'assunzione di flavonoidi da ortaggi, frutta e grani può diminuire l'incidenza di adenomi intestinali (Witte *et al.*, 1996). Il tè verde diminuisce il rischio di gastrite cronica e cancro allo stomaco (Setiawan *et al.*, 2001). La cipolla contiene tanti flavonoidi come la quercetina che riduce il rischio di cancro allo stomaco (Dorant *et al.*, 1996).

I flavonoidi del tè verde come le catechine sono stati studiati nell'uomo per differenti funzioni fisiologiche (Yang *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2001; Steele *et al.*, 2000). Diverse sono le risposte benefiche osservate in tal senso: restauro della

flora intestinale con lactobacilli e batteri del genere *Bifidum*, soppressione dei prodotti ammoniacali dentro il budello ed incremento dei prodotti butirati nel colon.

I broccoli sono una sorgente di flavonoli e derivati idrossicinnamici. Come principali flavonoli glucosidi presenti nelle infiorescenze di cavolo broccolo furono identificati la quercetina ed il kampferolo 3-O-sophoroside (Price *et al.*, 1998); cos' come tre glucosidi minori di questi agliconi, ovvero, isoquercitrina, kampferolo 3-O-glucoside e kampferolo diglucoside (Vallejo *et al.*, 2003).

I flavonoli e flavoni presenti nei germinelli di cavoletti di Bruxelles possono indurre la sintesi di enzimi protettivi come gli enzimi coniugati, ad esempio UDP-glucuronosyl transferasi e glutatione S-transferasi nell'intestino e nel fegato (Nijhoff *et al.*, 1993; vanderLogt *et al.*, 2003). Questi enzimi inattivano i radicali liberi e le specie reattive all'ossigeno, in tal modo prevengono loro dal diventare mutageni (Steele *et al.*, 2000).

Lo studio sulle proprietà benefiche dei flavonoidi incoraggia il consumo di frutta e di ortaggi nel mondo (World Cancer Research Fund, 1997). A questo genere di dieta, molto ricca di frutta e ortaggi dalla elevate proprietà salutistiche, è stata associata ad una riduzione delle probabilità di contrarre patologie tumorali al colon di circa il 50% (Alberts *et al.*, 2000; Schatzkin *et al.*, 2000).

La ciliegia è un frutto eccezionalmente ricco di polifenoli da uno a diversi grammi per chilo di peso fresco, in quantità variabile a seconda delle varietà e del grado di maturazione. Gli antociani sono di gran lunga la classe più importante. La ciliegia contiene inoltre una quantità importante di acidi cinnamici (Clifford, 1999).

I frutti di mirtillo americano (*Vaccinium corymbosum* L.) contengono quantitativi particolarmente alti di polifenoli, rappresentati maggiormente dalle antocianine (Mazza e Miniati, 1998). La seconda classe per importanza è costituita dagli acidi cinnamici localizzati principalmente nel succo, una terza classe è costituita da flavanoli localizzati nelle parti solide (Mattivi *et al.*, 2001).

La fragola contiene importanti quantità di polifenoli, questi per la maggior parte sono rappresentati da flavanoli e antociani. Questo frutto contiene importanti quantità di tannini idrolizzabili (gallotannini e ellagitannini) che rappresentano una classe di composti poco presenti nella dieta umana, anch'essi

fortemente antiossidanti. La fragola assieme al lampone ed alla mora costituisce la più importante fonte di assunzione di questa classe di composti nella dieta occidentale (Clifford e Scalbert, 2000).

Il lampone contiene circa le stesse quantità di polifenoli della fragola.

Il ribes rosso oltre ad apportare elevati livelli di acido ascorbico, contiene quantità particolarmente elevate di polifenoli. Di questi una parte sono rappresentate dalle antocianine, mentre la maggioranza è costituita da flavanoli (Mattivi *et al.*, 2001).

La mora è un frutto ricco di antiossidanti fenolici. Il colore nero infatti deriva dalla presenza di antociani completamente estraibili. Sono presenti anche flavanoli, acidi cinnamici e tannini idrolizzabili (Clifford e Scalbert, 2000).

La mela contiene polifenoli totali, considerando il suo peso totale, la polpa contribuisce per il 72-76% e la buccia per il 24-28%. Una buona parte dei polifenoli è data dalle proantocianidine. Nella buccia delle mele rosse sono presenti anche le antocianine.

E' da notare che questa ricchezza di polifenoli è tipica del frutto fresco, che fornisce quantità largamente maggiori rispetto al succo di frutta. I polifenoli sono dei forti antiossidanti e la mela, come molti altri frutti, è ricca di enzimi ossidanti (polifenolossidasi) per cui la gran maggioranza dei polifenoli viene persa nel processo di estrazione dei succhi (Mattivi *et al.*, 2001).

Gli effetti *in vitro* di flavonoidi sono abbastanza significativi; possono inattivare i radicali ossigeni e inibire l'ossidazione del DNA (Yang *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2001; Galati *et al.*, 2000; Manthey *et al.*, 2001). Nella colture cellulari incrementano la percentuale di apoptosi e inibiscono la proliferazione di cellule (Salucci *et al.*, 2002; Kuntz *et al.*, 1999). Sempre da prove *in vitro* è stato dimostrato come possano indurre la sintesi di enzimi protettivi, contenere glutazione nell'intestino e nel fegato, inibire sperimentali carcinogenesi (Yamane *et al.*, 1996; vanderLogt *et al.*, 2003). La concentrazione o l'ammontare di flavonoidi usati negli esperimenti *in vitro* è più di quella che può essere usata negli uomini *in vivo*. La concentrazione di flavonoidi nel plasma sanguigno umano è di 0,01-10 μ M (Radtke *et al.*, 2002), ma nella mucosa dell'intestino è possibile trovare valori più alti (Hoensch e Kirch, 2005).

Tabella 6 - *Classificazione dei flavonoidi*

Flavonoidi	Quercitina, Kampferolo
Proantocianidine	Flavolo, Catechine
Isoflavoni	Genistein
Flavoni	Apigenine, Luteolina
Flavanoni	Miricetina, Narina

1.4.3. I Carotenoidi

I carotenoidi (caroteni e xantofille) sono pigmenti gialli, arancioni e rossi, presenti in molti frutti e vegetali. Molti di loro sono precursori della vitamina A (ad es. β -carotene, γ -carotene), e mediante il doppio legame coniugato riducono i radicali liberi ed estinguono l'ossigeno singolo. Ridotte quantità di β -carotene sono state collegate ad elevate percentuali di cancro e malattie cardiovascolari (Rice-Evans *et al.*, 1997).

Sono una classe di molecole ampiamente diffuse in natura, responsabili della pigmentazione rossastra delle foglie autunnali, del colore giallo-arancio di frutti e fiori e del colore roseo delle carni dei salmonidi. Peculiarità comune a tutti i carotenoidi è la struttura molecolare, caratterizzata da una catena polienica costituita da quaranta atomi di carbonio. Queste sostanze sono presenti in tutti gli organismi fotosintetici dove giocano un ruolo fondamentale nel processo di fotosintesi: da una parte sono coinvolti nella catena di trasporto dell'energia, dall'altra proteggono il centro di reazione dell'ossidazione dall'azione dei raggi ultravioletti. Negli organismi non fotosintetici, tra cui l'uomo, i carotenoidi hanno un ruolo importante nei meccanismi antiossidativi.

Il principale carotenoide presente nel cibo è il β -carotene, noto per le molteplici proprietà benefiche sulle cellule del sistema immunitario e per la prevenzione di malattie degenerative (fig. 7). Esperimenti effettuati negli ultimi anni hanno dimostrato l'attività antitumorale del β -carotene, che inibisce la cancerogenesi polmonare indotta da nitrosammine e favorisce l'induzione di enzimi antiossidanti e detossificanti. Tale comportamento verrebbe esibito solo a basse pressioni parziali di ossigeno che si possono ritrovare nelle condizioni fisiologiche proprie di alcuni tessuti, infatti a pressioni maggiori di ossigeno, la molecola perde l'attività antiossidante e diviene proossidante (Hail *et al.*, 2008).

Sono precursori della vitamina A (o retinolo) in quanto quest'ultima preformata si trova solo nei tessuti degli animali (tuorlo d'uovo o nel fegato di merluzzo), mentre negli ortaggi sono presenti, associati alla clorofilla, soli i precursori (per l'appunto i carotenoidi) che vengono trasformati in vitamina A nell'organismo. La sostanziale differenza tra vitamina A e β -carotene è che quest'ultimo è privo di tossicità, diversamente dalla vitamina A, ed è un

antiossidante che combatte le sostanze cancerogene intrappolando le molecole pericolose che contribuiscono allo sviluppo di un processo degenerativo.

Sembra che la famiglia dei carotenoidi lavori insieme, ciascuno a modo suo, per assicurare che tutte le cellule siano in salute. I risultati di molti studi suggeriscono che i tumori della vescica, della laringe, dell'esofago, dello stomaco, del colon, del retto e della prostata siano ostacolati dall'assunzione di β -carotene. Una molecola di β -carotene è in grado di eliminare fino a mille molecole di ossigeno singolo e la sua azione antiossidante è capace di ostacolare l'ossidazione della vitamina C. Dal punto di vista molecolare è una sostanza simile agli ormoni femminili ed è necessario per la corretta crescita e riparazione dei tessuti corporei, per mantenere la pelle liscia, morbida e sana, per proteggere le mucose della bocca, del naso, della gola e dei polmoni, riducendo così la suscettibilità alle infezioni per proteggere contro gli agenti inquinanti, per contrastare la cecità notturna e la vista debole, e per aiutare la formazione di ossa e denti.

L'attuale ricerca medica dimostra che i cibi ricchi di β -carotene aiutano a ridurre i rischi di tumore ai polmoni (soprattutto nei fumatori che 'bruciano' letteralmente molta vitamina A) e certi cancri della cavità orale. Protegge l'occhio, in particolare la retina e la macula, dai danni ossidativi prodotti dall'invecchiamento e dall'esposizione ad agenti esterni; diminuisce il rischio di sviluppo della degenerazione maculare, della cataratta e mantiene una buona capacità visiva. L'integrazione alimentare di β -carotene prepara la pelle alla sintesi della melanina, esso si deposita in parte nel tessuto adiposo e nella cute conferendo un caratteristico colore arancione/dorato alla pelle, coadiuvando e potenziando l'azione protettiva dei filtri solari durante l'esposizione al sole; riduce inoltre il rischio di comparsa di eritema e scottature solari specie nei soggetti con pelle chiara e sensibile, proteggendo la cute nonché rallenta la comparsa di rughe.

Altro importante carotenoide che possiede attività antiossidante ed antitumorale è il licopene (fig. 8). Il licopene è un pigmento carotenoide, maggiormente presente nel pomodoro, che ne conferisce il caratteristico colore rosso ed è seguito in minor quantità da α -, β -, γ - e δ -carotene, fitoene, fitofluene, neurosporene e luteina (Trombly e Porter, 1953; Periago *et al.*, 2004.)

Strutturalmente il licopene è un idrocarburo alifatico insaturo. La sua catena contiene 13 doppi legami carbonio-carbonio, 11 dei quali sono coniugati disposti linearmente.

Nel frutto di pomodoro maturo il licopene è l'ultimo carotenoide ad essere sintetizzato. La sua biosintesi aumenta notevolmente quando i cloroplasti, nei quali è presente la clorofilla, si differenziano in cromoplasti, dove avviene la sintesi di pigmenti carotenoidi.

La l'epidermide ed il pericarpo del frutto di pomodoro sono particolarmente ricchi in licopene ed altri carotenoidi. Mentre l'epidermide contiene 12 mg di licopene per 100 g di peso umido, il pomodoro maturo in complesso ne contiene solo 3,4 mg per 100 g di peso umido (Al-Wandawi *et al.*, 1985). Il contenuto di licopene nel pomodoro tuttavia varia considerevolmente in rapporto alle cultivar, al grado di maturazione e alle condizioni colturali ed ambientali durante la fase di accrescimento del frutto (Periago *et al.*, 2004).

Essendo un composto lipofilo è solubile in solventi organici apolari. In sistemi acquosi tende ad aggregarsi ed a precipitare sotto forma di cristalli. Questo comportamento è ritenuto la causa della diminuzione della biodisponibilità del licopene nell'uomo (Zumbrunn *et al.*, 1985).

Il sistema di polieni coniugato è la chiave dell'attività biologica del licopene, che include la sua suscettibilità alla degradazione ossidativa (Hill e Rogers, 1969).

Una degradazione indesiderata del licopene non ha solo effetti negativi sulla qualità del prodotto finale ma porta anche ad una perdita delle proprietà salutistiche. Le principali cause di degradazione durante la lavorazione sono isomerizzazione e ossidazione (Shi e Le Maguer, 2000). Bassa temperatura di stoccaggio, bassi livelli di ossigeno e la ridotta esposizione alla luce sono fattori che limitano la degradazione ossidativa del licopene. Per prevenire tale fenomeno durante la lavorazione e l'immagazzinamento può essere utile l'applicazione di antiossidanti quali acido ascorbico o pirofosfato acido di sodio in adeguate quantità (Granado *et al.*, 1992; Clinton *et al.*, 1996; Porrini *et al.*, 1998).

Per quanto riguarda l'isomerizzazione va premesso che il licopene nel pomodoro fresco si trova prevalentemente in configurazione all-*trans* (Shi e Le Maguer, 2000). Durante i processi di lavorazione avviene un'isomerizzazione a

forme mono- o poli-*cis*; è vero inoltre che il deposito dei prodotti di lavorazione del pomodoro favorisce la reisomerizzazione da *cis*- a *trans*-, perché l'isomero *cis* è relativamente più instabile se comparato all'isomero *trans* (Xianquan *et al.*, 2005). Gli isomeri *cis* del licopene sono meglio assorbiti rispetto agli isomeri *trans*. Questo può essere dovuto alla maggior solubilità degli isomeri *cis* in micelle miste che favoriscono l'incorporazione nei chilomicroni e l'assorbimento intestinale abbassando la tendenza a formare aggregati (Sakamoto *et al.*, 1994; Britton, 1995; Stahl e Sies, 1996; Boileau *et al.*, 1999).

Anche la composizione e la struttura della matrice alimentare influenzano la biodisponibilità del licopene; pratiche come la cottura o la triturazione possono incrementarne la biodisponibilità per distruzione fisica o un rammollimento delle membrane cellulari del frutto (Hussein e El-Tohamy, 1990).

Per quanto riguarda il calore, è stato provato che temperature tra 90 e 150°C causano una grande diminuzione del contenuto totale di licopene. Uno studio ha inoltre dimostrato che l'aggiunta di olio d'oliva durante la cottura di pomodoro, aumenta di molto l'assorbimento di licopene; è stato provato un aumento dell'82% nella concentrazione sanguigna di *trans*-licopene e del 40% di *cis*-licopene in 11 soggetti che hanno consumato pomodori in olio d'oliva, mentre in 12 soggetti che hanno consumato pomodoro senza olio d'oliva non ci sono variazioni nella concentrazione plasmatica di *trans*-licopene dove è stato trovato solo un 15% in più di *cis*-licopene. Questi risultati sottolineano l'importanza della preparazione e del consumo dei cibi in una cucina che abbina la cottura di prodotti a base di pomodoro all'utilizzo dell'olio d'oliva, una combinazione caratteristica della dieta mediterranea (Fielding *et al.*, 2005).

Diversi studi e ricerche hanno evidenziato l'importanza nella dieta del consumo di frutta e ortaggi al fine di preservare la salute umana ed il benessere fisico, prevenendo l'insorgenza di malattie cardiovascolari e di alcune forme tumorali. In particolare il pomodoro ed i prodotti da esso derivati sono conosciuti per i loro benefici effetti sulla salute umana (Bhuvaneswari e Nagini, 2005). I potenziali elementi protettivi introdotti con la dieta sono il licopene ed altri carotenoidi, ma anche vitamina E, isoflavoni e polifenoli (Chan *et al.*, 2005). In alcuni recenti studi, il consumo di pomodoro e prodotti da esso derivati contenenti licopene è stato associato ad un decremento del rischio di malattie croniche

come tumori e disturbi cardiovascolari. Le proprietà antiossidanti del licopene sono ritenute le responsabili di tali effetti benefici (Blum *et al.*, 2005).

L'organismo umano non è in grado di sintetizzare il licopene, quindi è necessario assumerlo con la dieta. Una volta assunto lo si trova in concentrazioni più alte nel fegato, nel plasma sanguigno, nei testicoli, nelle ghiandole surrenali e nella prostata. La dieta mediterranea, ricca di frutta e di ortaggi compresi i pomodori, è stata indicata come responsabile di bassi livelli di cancro in questa area (LaVecchia, 1997). In particolare l'apporto di pomodoro con la dieta è stato associato ad un basso rischio per diversi tipi di neoplasie in vari studi epidemiologici (Giovannucci, 1999). Le sue attività biologiche comportano l'attività antiossidante ed è quindi ritenuto il più stabile e potente agente di estinzione dell'ossigeno sotto forma O_2^- , forma notoriamente deleteria, ed un efficiente *scavenger* di un largo spettro di radicali liberi. Gli studi epidemiologici indicano gli effetti protettivi del licopene contro alcuni tipi di tumori, per esempio quello alla prostata. Studi *in vitro* e *in vivo* sulla crescita delle cellule tumorali hanno rafforzato questa conclusione.

Il licopene può esprimere un valore terapeutico anticarcinogenico dal momento che è stato mostrato di essere in grado di sopprimere la proliferazione delle cellule tumorali, inibire il segnale del fattore di crescita, indurre l'apoptosi, inibire l'angiogenesi, sopprimere l'espressione di proteine anti-apoptotiche (Parrett *et al.*, 1997). Sembra, inoltre, che il licopene abbia effetti contro la chemioresistenza e la radioresistenza in pazienti sottoposti a terapie antitumorali (Dorai e Aggarwal, 2004).

Il licopene può svolgere un ruolo nella prevenzione del tumore della prostata (Rao *et al.*, 1999). Le diete ricche di pomodori e prodotti derivati dal pomodoro possono proteggere il DNA dal danno ossidativo (Pool-Zobel *et al.*, 1997; Riso *et al.*, 1999). Le persone che consumano succo di pomodoro o salsa ogni giorno per una settimana, in aggiunta alla loro dieta regolare, sono in grado di aumentare il licopene nel sangue e ridurre la quantità di lipidi, di proteine e DNA ossidati (Rao *et al.*, 1998; Agarwal e Rao, 1998). Ciò ci suggerisce che il licopene derivato dai prodotti del pomodoro tradizionale riesce ad essere assorbito dal corpo e lo protegge dal danno ossidativo.

Diversamente da β -carotene e licopene, che appartengono alla classe dei carotenoidi precursori della vitamina A, la luteina ed il suo isomero zeaxantina sono carotenoidi non-provitamina A che differiscono dai precedenti, per la presenza di gruppi idrossilici sugli anelli che costituiscono il termine della catena e sono definiti ossicarotenoidi o xantofilline. Le xantofilline impediscono la perossidazione lipidica indotta dai raggi ultravioletti, inibiscono la crescita tumorale nei topi e riducono l'apoptosi indotta dallo stress ossidativo nelle cellule fotorecetrici di ratto (Tsuda *et al.*, 2004; Pan e Ho, 2008).

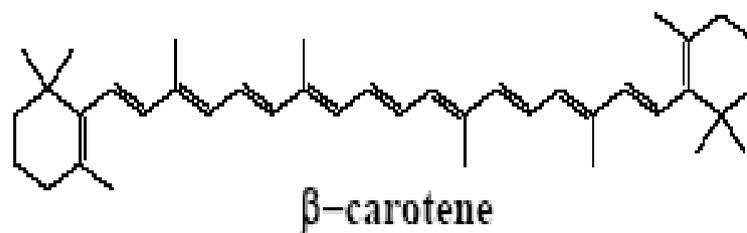


Figura 7 - *Struttura chimica del β -carotene*

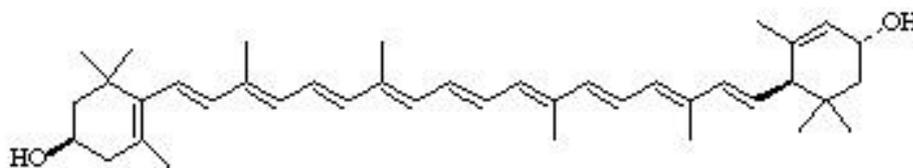


Figura 8 - *Struttura chimica del Licopene*

1.4.4. Le Vitamine

Le vitamine sono una serie di composti organici, eterogenei dal punto di vista chimico, essenziali per l'uomo in quanto indispensabili all'organismo per la crescita, per l'integrità strutturale delle cellule e per favorire il regolare svolgimento dei processi metabolici.

Le vitamine sono sostanze prive di valore energetico, hanno una composizione molecolare abbastanza semplice, agiscono in dosi minime, sono sostanze essenziali, hanno specificità di azione.

Molte vitamine oltre alle azioni specifiche ne svolgono anche di comuni:

- agiscono come fattori di crescita (vitamine A, D, gruppo B, C);
- rafforzano le strutture nervose (vitamine B1, B6, B12, PP, C);
- aumentano la resistenza alle infezioni (vitamine A, B6, B12, C);
- prevencono e curano le anemie (vitamine E, Acido folico, B6, B12, C);
- salvaguardano le cellule dai meccanismi lesivi dei radicali liberi (vitamine E, C);
- rivestono un ruolo nella prevenzione contro i tumori (vitamine A, E, C);
- proteggono pelle e mucose (vitamine A, B2, B6, Acido folico, PP).

L'unica classificazione operativamente valida è quella che le distingue in due gruppi: quello delle *vitamine idrosolubili* (vitamine del gruppo B e vitamina C) e quello delle *vitamine liposolubili* (vitamine A, E, D, K).

Le vitamine idrosolubili svolgono principalmente funzione di coenzimi, mentre quelle liposolubili svolgono funzioni diverse.

C'è da rilevare che non tutte le vitamine vengono assunte nella loro forma biologicamente utilizzabile, ma piuttosto come precursori che vanno sotto il nome di provitamine. Questi composti, una volta assunti, debbono essere modificati da specifici enzimi metabolici che li trasformano nella loro forma attiva.

Il retinolo (Vitamina A) (fig. 9) è un alcool a lunga catena che si ritrova in natura sotto forma prevalentemente esterificata e che gli organismi animali non riescono a sintetizzare *ex novo* da precursori come il β -carotene. La trattazione pertanto risulta sufficiente con queste poche tracce ricordando però che il retinolo è importante per la vista, per il mantenimento degli epiteli, per il buon funzionamento del sistema immunitario.

Le vitamine del gruppo B svolgono diverse funzioni e sono:

- B1 (Tiamina) è presente nel lievito di birra e nel germe di grano, diffusa negli alimenti sia vegetali che animali, frutta, legumi, uovo. Di questa vitamina non si forma una riserva nel nostro organismo per cui deve essere introdotta giornalmente con la dieta. La carenza di vitamina B1 è causa di patologie croniche come il *beriberi* che determina danni al sistema che poi si estendono al sistema cardiovascolare e gastrointestinale.
- B2 (Riboflavina) è sintetizzata dalle piante e da molti microrganismi, è presente in latte, uova, germe di grano, carne. La carenza è molto rara ed avviene quando subentrano alterazioni dell'apparato digerente e del fegato. La sindrome è caratterizzata da alterazioni linguali e labiali, oculari e cutanee.
- B3 (PP o Niacina) previene la pellagra. È presente in alimenti di origine animale, può essere sintetizzata dall'uomo a partire da precursori quali il triptofano. La sua carenza causa la Pellagra che causa eritemi, disturbi all'apparato digerente, turbe psichiche.
- B5 (Acido Pantotenico) è presente in lievito di birra, fegato, rene, carne, uova, cuticola dei cereali. La sua principale funzione è quella di precursore del Coenzima A. La sua carenza causa cefalea, disturbi gastrointestinali, formicolio e bruciori degli arti inferiori.
- B6 (Piridossina) presente in lievito, germe di cereali, carne, fegato, rene, cervello, uova, latte, pesce, verdura e frutta. La sua carenza è rara è rilevabile attraverso test di laboratorio e presenta sintomatologia aspecifica.
- B8 (H o Biotina) è riscontrabile in lievito di birra, fegato, tuorlo d'uovo, legumi e carne. La sua funzione è quella di costituire il coenzima della decarbossilasi e transcarbossilasi. La sua carenza può causare dermatite, sonnolenza, dolori muscolari, anoressia, nausea.
- B9 (M o Acido Folico) si trova nel lievito, fegato, asparagi, spinaci e verdure. È necessaria in alcuni stati fisiologici come gravidanza dove protegge contro le malformazioni congenite del tubo neurale (spina bifida,

anacefalia). La sua carenza porta ad anemia, alterazioni di cute e mucose, disturbi nervosi.

- B12 (Cobalamina) è presente negli alimenti di origine animale come fegato, rene, latte e carne, ma anche nei pesci, piccole quantità sono presenti anche negli ortaggi freschi. La sua carenza è rara, può invece verificarsi un'assente secrezione del fattore intrinseco e provocare l'anemia perniciosa che causa alterazioni del sangue, disturbi digestivi (Cappelli e Vannucchi, 2005).

La vitamina C è certamente molto importante, essa è un composto idrosolubile simile al glucosio (fig. 10).

La vitamina C, che include l'acido ascorbico ed il suo prodotto di ossidazione ovvero l'acido deidroascorbico, partecipa a diverse attività biologiche nel corpo umano. Block *et al.*, (2004) hanno scoperto che la vitamina C può ridurre il livello di C-reactive proteine (CRP), un marcatore di infiammazioni possibilmente capace di preannunciare malattie al cuore.

Il contenuto di vitamina C nelle *Brassicaceae* varia significativamente fra le specie di questa famiglia ed all'interno della specie fra le entità sottospecifiche (Vallejo *et al.*, 2002); le condizioni ambientali inoltre possono determinare variazioni del contenuto di vitamina C nei tessuti vegetali (Howard *et al.*, 1999).

L'acido ascorbico può avere una sinergia con il tocoferolo, ed insieme possono rigenerare o ripristinare le loro proprietà antiossidanti (Yanishlieva-Maslarova, 2001).

Studi epidemiologici hanno dimostrato che l'assunzione di vitamina C presente in frutti e prodotti orticoli riduce il rischio di cancro che non sono regolati mediante ormoni, mentre per quelli regolati mediante ormoni la riduzione è minore (Block, 1991).

Assumendo circa 300 mg di vitamina C al giorno, 50 mg con la dieta ed il resto mediante integratori, si ha una riduzione del 21% di tutti i cancro che possono colpire gli uomini, ciò è possibile mediante l'assunzione di circa 49 mg al giorno di vitamina C. Sulle donne invece non sono stati individuati effetti significativi (Borek, 2005).

La vitamina C è largamente diffusa negli alimenti di origine vegetale; particolarmente ricchi sono gli agrumi, i kiwi, i peperoni, i pomodori ed i prodotti

orticoli a foglia verde. Gli ortaggi e la frutta, se conservati per lungo tempo prima di essere consumati, subiscono però ingenti perdite vitaminiche.

La vitamina C è, tra le vitamine, quella che va incontro a maggiore degradazione, sia per l'instabilità al calore ed all'ossigeno dell'aria che per la sua idrosolubilità, tanto che la misura della sua concentrazione viene spesso utilizzata come indicatore di qualità del processo di lavorazione e produzione (Ferro-Luzzi *et al.*, 1994).

La vitamina D si divide in vitamina D2 (Ergocalciferolo) e vitamina D3 (Colecalciferolo) (figg. 11-12), è presente in olio di fegato di alcuni pesci, fegato dei mammiferi, latte, burro, uova, pesce azzurro. Il suo principale compito è quello di regolare il metabolismo del calcio. La sua carenza causa rachitismo nei bambini, osteomalacia negli adulti, mentre un suo eccesso provoca cefalea, nausea, vomito, diarrea, disturbi renali e nervosi (Cappelli e Vannucchi, 2005)

Il Tocoferolo (Vitamina E), proviene generalmente dal mondo vegetale, dove si trova diffuso abbondantemente: germi di semi di cereali, ortaggi a foglia larga, semi e frutti oleosi e rispettivi oli (fig. 13). Il nome vuole ricordare l'effetto antisterile di questa vitamina, dimostrato sperimentalmente nei ratti (*tokos* in greco significa "parto"). I tocoferoli presenti nella dieta, sotto forma di esteri, vengono idrolizzati nell'intestino tenue. Per l'assorbimento sono necessari i sali biliari e la quota non assorbita si ritrova nelle feci. Risultano essere molto importanti poiché proteggono dall'ossidazione le strutture lipidiche e salvaguardano le membrane biologiche contrastando la perossidazione degli acidi grassi insaturi innescate dai radicali liberi che si formano nelle cellule (Bowry e Stocker, 1993). Come i carotenoidi, la vitamina E appartiene al gruppo di antiossidanti lipido-solubili. L'attività biologica di questa vitamina mostra la presenza di tocoferoli e tocotrienoli, specialmente α -tocoferolo (Lampe *et al.*, 2002). La vitamina E presenta effetti protettivi contro le malattie coronariche dovute all'inibizione dell'ossidazione di LDL (Stampfer e Rimm, 1995). Attraverso l'assunzione di frutta e ortaggi e con l'aggiunta di grassi, oli e cereali, apportiamo alla dieta una buona quantità di vitamina E (Piironen *et al.*, 1986).

Infine è presente la vitamina K che si suddivide in K1 (Fillochinone), K2 (Prenilmenachinone) e K3 (Menadione) (fig. 14). E' presente nella flora intestinale, negli ortaggi ed in minime quote nella carne. La vitamina K esplica

un'azione antiemorragica, implicata nella trasformazione della protrombina attiva. La sua carenza può causare delle emorragie (Cappelli e Vannucchi, 2005).

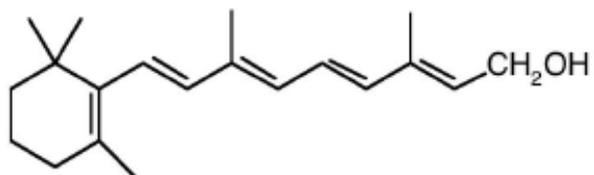


Figura 9 - *Struttura chimica del retinolo*

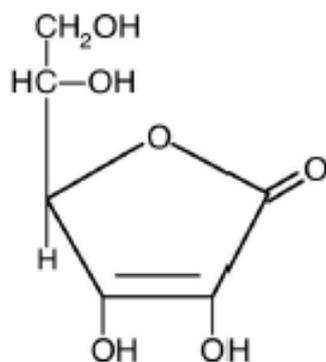


Figura 10 - *Struttura chimica dell'acido ascorbico (Vitamina C)*



Figura 11 - *Struttura chimica dell'ergocalciferolo*



Figura 12 - *Struttura chimica del coelcalciferolo*

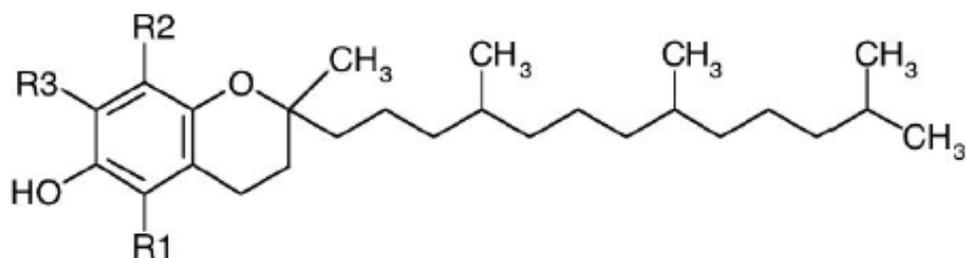


Figura 13 - *Struttura chimica del tocoferolo*

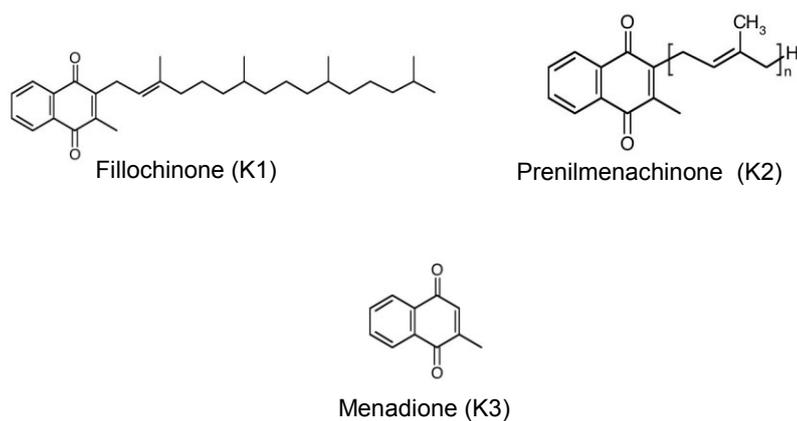


Figura 14 - *Struttura chimica del fillochinone, prenilmenachinone e menadione*

2. PARTE SPERIMENTALE

2.1. Premesse ed obiettivi generali

Il ricco patrimonio orticolo diffuso nel bacino Mediterraneo, ed in particolare quello presente nel nostro Paese, e le recenti acquisizioni relative alla valenza nutraceutica dei corrispondenti prodotti ci ha spinto a porre l'attenzione su di esso per sostenere il processo di innovazione delle produzioni orticole.

In particolare, l'ampia diversità di specie minori e/o neglette, utilizzate in Italia soprattutto nel passato, continua ad essere apprezzata soprattutto dalle comunità locali che tradizionalmente le utilizzano nella gastronomia tradizionale nelle diverse regioni del nostro Paese. Questo patrimonio di incomparabile valore, oggetto di studio da parte di diverse Istituzioni di ricerca nazionali ed estere, potrebbe rappresentare un punto di forza per sostenere il processo di innovazione in orticoltura per diversificare le corrispondenti produzioni. Tali specie possono avvantaggiarsi facilmente delle recenti acquisizioni scientifiche volte al miglioramento delle produzioni di specie ortive affini di maggiore diffusione al fine di migliorare i tratti agronomici e tecnologici delle cultivar diffuse in coltura. Tale necessità è sostenuta dalle diverse filiere produttive che rispondendo alle richieste del mercato pongono grande rilievo alla standardizzazione del prodotto ed alla sicurezza alimentare, richiesta per la certificazione di qualità delle corrispondenti produzioni.

Sulla base di tali considerazioni, la nostra attenzione è stata posta sul cavolo da foglia (*Brassica oleracea* var. *acephala*), coltura negletta diffusa in tutto il continente europeo, che fa registrare tratti diversificati soprattutto nei Paesi che si affacciano sul bacino del Mediterraneo. Tale coltura, al pari di altre *Brassicaceae* da orto esprime tratti nutraceutici di pregio e potrebbe avvantaggiarsi facilmente dei recenti progressi del miglioramento genetico di colture affini afferenti alla stessa specie, quali il cavolfiore (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) ed il cavolo broccolo (*Brassica oleracea* var. *italica*).

Il cavolo da foglia esprime, inoltre, un caso di studio di particolare interesse per la nostra regione dove esiste un'ampia diversità genetica non solo per le suddette colture afferenti a *B. oleracea* ma anche per le probabili specie

progenitrici rappresentate da diverse specie spontanee di *Brassica* caratterizzate dal condividere lo stesso corredo cromosomico, pari a $n=9$. Studi recenti stanno validando l'ipotesi che il cavolo da foglia rappresenti il primo risultato del processo di domesticazione di *B. oleracea* e che nel bacino del Mediterraneo sia stata scritta la prima pagina della sua coltivazione. Un'ipotesi interessante è che la Sicilia abbia contribuito notevolmente non solo al processo di domesticazione del cavolo da foglia ma che tale coltura abbia contribuito assieme alle diverse specie spontanee di *Brassica* ($n=9$) all'origine ed alla diversificazione di cavolo broccolo e di cavolfiore.

L'importanza del corrispondente *pool* genico diffuso in Sicilia ha destato negli ultimi decenni l'interesse di diversi ricercatori nazionali ed esteri per l'importanza che riveste nel miglioramento genetico delle *Brassicaceae* per la resistenza a stress biotici e/o abiotici e per il miglioramento dei tratti nutraceutici dei corrispondenti prodotti. Tale *pool* genetico è sempre più minacciato dalla massiccia introduzione in coltura di ibridi F1 dotati di tratti agronomici e tecnologici di pregio che hanno limitato la diffusione delle cultivar locali e la propagazione dei corrispondenti materiali biologici operata di norma dagli stessi coltivatori. In ogni caso i meccanismi di autoincompatibilità genetica che caratterizzano le diverse colture ortive afferenti a *B. oleracea* agevolano l'impollinazione allogama e di conseguenza l'inquinamento genetico delle cultivar locali con ripercussioni notevoli sul processo di erosione genetica.

Il lavoro svolto negli ultimi decenni da diversi ricercatori ha consentito per fortuna la raccolta e la conservazione *ex situ* delle risorse genetiche nelle banche del germoplasma, ormai istituite e diffuse in tutto il mondo, ha permesso la definizione di strategie diversificate tese a ridurre i rischi di erosione genetica che interessa ormai numerose specie di interesse agrario. A tale strategia statica di conservazione del germoplasma di recente se ne sono affiancate alcune più dinamiche, rappresentate essenzialmente da protocolli di conservazione *on farm*, che pongono particolare importanza sull'interazione esistente tra le attività umane tese alla selezione ed alla propagazione delle cultivar locali, e sull'ambiente, con le sue evoluzioni soprattutto climatiche, che determina nel tempo l'evoluzione dei *pool* genici, conservandone le corrispondenti frequenze alleliche.

L'importanza della salvaguardia del germoplasma italiano di *Brassicacea* da orto è sostenuta anche dai numerosi riferimenti bibliografici che attestano ed esaltano le peculiari caratteristiche organolettiche delle corrispondenti cultivar locali diffuse nel nostro Paese, ponendo particolare attenzione nei confronti delle proprietà nutraceutiche di questi ortaggi e soprattutto delle cultivar locali, particolarmente ricche di diversi composti antiossidanti.

In questo contesto si comprende bene l'interesse di conservare in maniera scrupolosa il germoplasma di *Brassica* da orto e dei presunti parentali spontanei (n=9) diffuso nel nostro Paese e di attivare specifiche linee di ricerca per migliorare il profilo qualitativo dei relativi prodotti. In tale direzione è stato sviluppato negli ultimi decenni un programma di individuazione, raccolta, conservazione *ex situ* e valutazione del germoplasma di *Brassicaceae* diffuse in Italia, e specificatamente nella nostra Regione, da parte della sezione di OrtoFloricoltura del Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agricole e Alimentari (DISPA) dell'Università di Catania al fine di valorizzare i materiali genetici e qualificare le corrispondenti produzioni. Diverse accessioni di tale collezione e di altre opportunamente scelte tra quelle conservate in altre banche di germoplasma europee sono state oggetto di studio al fine di definire un quadro di riferimento della diversità che si registra per cavolo da foglia in Europa.

Come è ben noto l'innovazione di prodotto oltre ad essere perseguita attraverso la valorizzazione dell'ampio patrimonio genetico esistente, può essere sostenuta dalle moderne tecnologie di trasformazione. In particolare, la recente diffusione della IV gamma contribuisce a migliorare le caratteristiche del prodotto in fase di post-raccolta come si evince dalle recenti e diffuse esperienze tese alla valorizzazione di specie minori e/o spontanee che destano interesse per i corrispondenti organi vegetativi. Tali specie sono state oggetto di attenzione finora soprattutto per le comunità locali ciò a causa del rapido peggioramento della qualità dovuto alla rapida deperibilità che caratterizza il prodotto.

In tale ambito il lavoro svolto è stato rivolto oltre che sul cavolo da foglia, sulla produzione di germinelli. A quest'ultimo riguardo lo stimolo di avviare specifiche attività di ricerca è stato sostenuto del crescente interesse del consumatore nei riguardi dei germinelli di cavolo broccolo che presentano alte concentrazioni di antiossidanti e specificatamente di glucosinolati che presentano

una elevata attività anticancerogena. Sulla base di tali acquisizioni ci è sembrato opportuno valutare la produzione di germinelli per un'ampia gamma di specie al fine di diversificare l'assortimento di prodotti orticoli offerti sul mercato.

Le attività svolte nell'ambito del corso di dottorato di ricerca si inquadrano nell'ambito del tema dell'innovazione di prodotto in orticoltura, della valorizzazione del patrimonio genetico delle specie di interesse agrario presente nel nostro Paese e dell'attivazione di specifiche filiere produttive che integrano le moderne tecnologie di trasformazione dei prodotti agricoli.

2.2. Articolazione delle prove

Le attività di studio sono state attivate prontamente con l'avvio del XXIV corso di dottorato di ricerca ed hanno riguardato nel primo anno l'individuazione e lo studio della bibliografia inerente ai prodotti di IV gamma con particolare riferimento ai germinelli, ai composti antiossidanti ed alle corrispondenti funzioni nutraceutiche, ed al contributo offerto dalle piante spontanee di interesse alimentare per la diversificazione delle produzioni orticole, nel secondo anno ai prodotti orticoli ed ai loro effetti sulla salute umana, ed al cavolo da foglia, e nel terzo anno agli effetti delle condizioni di conservazione post-raccolta in rapporto agli organi ed alle strutture dei prodotti orticoli.

In particolare, è stato posto in evidenza l'importante ruolo svolto dagli ortaggi nella dieta alimentare dell'uomo in rapporto al contenuto in composti bioattivi nel controllare diverse patologie umane. L'attenzione è stata posta in particolare sulle politiche sanitarie dei Paesi sviluppati tese a controllare le principali patologie umane conseguenti a stili di vita moderni e all'adozione di diete sbilanciate. Gli elevati costi sostenuti in tali Paesi per le spese sanitarie e la necessità di contenerli hanno determinato l'opportunità di prevenire le principali malattie cronico degenerative mediante l'adozione di diete nelle quali gli ortaggi sono presenti in maniera rilevante. A tale proposito è emersa l'importanza della dieta mediterranea che rappresenta un punto di riferimento importante evidenziato recentemente anche dall'UNESCO che l'ha dichiarata Patrimonio dell'Umanità. Diverse evidenze sperimentali confermano la valenza salutistica degli ortaggi che in larga misura sostengono la dieta mediterranea in conseguenza della loro assunzione quotidiana.

La ricerca bibliografica ha permesso di ampliare le conoscenze sul valore nutraceutico dei prodotti orticoli che già da un ventennio hanno trovato riscontro nelle attività di ricerca di diversi gruppi di lavoro sia a livello internazionale che nazionale. Tra i diversi composti bioattivi l'attenzione è stata posta principalmente su polifenoli, carotenoidi, vitamine e glucosinolati. Per ciascuno di essi sono state elencate le caratteristiche chimiche e le principali evidenze scientifiche che confermano le loro proprietà antiossidanti. Particolare attenzione è stata posta sui composti glucosinolati che caratterizzano le *Brassicaceae* e sui loro

meccanismi di azione che consentono di bloccare i processi di carcinogenesi.

Tali evidenze hanno stimolato l'attivazione di specifici programmi di miglioramento delle principali colture di *Brassicaceae* al fine di incrementare il contenuto di composti nutraceutici nei corrispondenti prodotti. Per tale argomento è stata raccolta la bibliografia specifica e sono stati individuati i protocolli di analisi dei suddetti composti antiossidanti al fine di valutare i diversi materiali genetici stimati nel corso del programma di lavoro.

La specializzazione colturale alla quale si è assistito dalla metà del secolo scorso fino ai giorni nostri ha determinato un restringimento della base alimentare che è sostenuto da un ridotto numero di ortaggi che spesso sono rappresentati da un limitato numero di cultivar che spesso non presentano tratti salutistici di pregio. A tale riguardo notevole importanza riveste l'innovazione di prodotto in orticoltura tesa a soddisfare meglio le moderne esigenze del consumatore sempre più attento alla qualità ed alla sua certificazione. L'ampia biodiversità che l'orticoltura esprime sia a livello mondiale che su scala ridotta nel nostro Paese potrebbe offrire un contributo rilevante per l'innovazione di prodotto in orticoltura. A tale riguardo è stato evidenziato l'elevato potenziale biologico offerto dalle specie spontanee di interesse orticolo e da quelle ortive minori ormai neglette che presentano spesso tratti salutistici rilevanti. A quest'ultimo riguardo un approfondimento è stato dedicato al cavolo da foglia che rappresenta il caso di studio principale della presente dissertazione.

L'innovazione di prodotto rappresenta comunque l'obiettivo principale per diversificare e sostenere diete alimentari che possano soddisfare le richieste del consumatore per cibi sani che svolgano specifiche funzioni nutraceutiche ovvero per cibi funzionali (*functional foods*). A tale riguardo un sostegno rilevante è offerto dalle moderne tecnologie di trasformazione che consentono di valorizzare bene l'ampio patrimonio di biodiversità orticola spontanea e coltivata diffusa nel nostro Paese. In tale ambito sono stati presi in esame i prodotti di IV gamma che rappresentano prodotti innovativi anche se basati su colture tradizionali, come nel caso della lattuga. I prodotti di IV gamma rispondono bene alle richieste di mercato ed alle corrispondenti filiere produttive che sono tra le poche a mostrare una crescita esponenziale anche nell'odierna congiuntura economica caratterizzata dalla crisi di una moltitudine di filiere produttive, quali quelle ortive

tradizionali. A tale riguardo sono state ampliate le conoscenze su tutti gli aspetti che consentono di migliorare le caratteristiche del prodotto in fase di post-raccolta. A tale riguardo, particolare attenzione è stata posta, relativamente agli ortaggi, su struttura e composizione, fisiologia e biochimica, temperatura e atmosfera di conservazione, perdita d'acqua e umidità relativa, tecnologie di confezionamento, e disordini fisiologici degli ortaggi.

Nell'ambito dei prodotti di IV gamma specifico approfondimento ha riguardato la produzione di germinelli, ovvero di semi appena germinati privati dei corrispondenti involucri seminali, che rappresentano in diversi casi prodotti dotati di elevata valenza salutistica in quanto contengono una maggiore concentrazione di composti nutraceutici se paragonati ai corrispondenti prodotti tradizionali, come nel caso del cavolo broccolo. Anche se l'antesignana per tale settore è rappresentata dalla soia, recentemente l'attenzione di diversi ricercatori si è spostata negli ultimi decenni sui germinelli di cavolo broccolo dotati di elevate concentrazioni di glucosinolati ed in particolare di glucorafanina. Tale composto, precursore del sulforafane, è oggetto di grande attenzione ai fini della costituzione di nuove cultivar che consentono di sostenere l'intera filiera produttiva. Lo studio delle recenti evidenze sperimentali riguardanti diverse specie, anche non tradizionalmente orticole, ha permesso di delineare le principali linee di ricerca e l'importanza che tali prodotti assumono sia in termini di innovazione di prodotto che di valenza nutraceutica.

L'attività di ricerca svolta nel triennio è stata sviluppata sulla base delle esperienze maturate dalla sezione di OrtoFloricoltura del DISPA dell'Università di Catania nell'ambito del Progetto di interesse nazionale (PRIN 2003) con la scheda di ricerca "Valutazione di biotipi di *Brassicaceae* qualificati sotto il profilo nutraceutico e per il controllo di nematodi" cofinanziato dal MiUR, del quale è responsabile scientifico il prof. Ferdinando Branca. A tale proposito sono stati utilizzati i laboratori ed i campi sperimentali della suddetta sezione al fine di sviluppare il lavoro di ricerca della tesi in oggetto.

Le attività sperimentali svolte durante il triennio del corso di dottorato di ricerca possono essere ricondotte a cinque linee principali:

- Analisi della diversità bio-morfologica delle principali tipologie di cavolo da foglia diffuse in Europa;

- Analisi della diversità bio-morfologica e nutraceutica delle principali tipologie di cavolo da foglia diffuse nelle aree di maggiore diffusione della coltura in Europa;
- Valutazione agronomica di due tipologie differenziali di cavolo da foglia coltivate in Sicilia;
- Valutazione delle principali caratteristiche del cavolo da foglia prodotto in IV gamma in rapporto ad alcune variabili di processo;
- Valutazione delle principali caratteristiche di germinelli di specie ortive diverse in rapporto ad alcune variabili di processo.

Le attività sono state prontamente avviate con l'analisi della diversità dei principali tratti morfo-biologici di una *core collection* di tipologie di cavolo da foglia diffuse in Europa rappresentata da 23 accessioni conservate presso diverse banche del germoplasma, predisponendo un campo collezione presso l'Azienda Sperimentale Agraria (ASA) dell'Università di Catania. Nel contempo è stata avviata la valutazione delle principali caratteristiche biometriche e nutraceutiche di germinelli di 18 specie, prevalentemente di interesse ortivo, afferenti a diverse famiglie botaniche.

Nel secondo anno sono state avviate le attività volte alla caratterizzazione delle accessioni di cavolo da foglia conservate presso la sezione di OrtoFloricoltura del DISPA dell'Università di Catania che fanno riferimento alle principali tipologie diffuse in coltura nelle penisole italiana ed iberica. Nel contempo è stata avviata la valutazione agronomica di due tipologie conservate presso il DISPA, che già sulla base di esperienze pregresse sono apparse differenziate, in rapporto alla densità colturale. Parallelamente è proseguita l'attività di valutazione delle principali caratteristiche biometriche e nutraceutiche dei germinelli delle specie che avevano espresso le migliori performance produttive e tratti nutraceutici di pregio in rapporto alla temperatura di germinazione.

Durante il terzo anno di attività sono proseguite le attività avviate durante il secondo anno. Nel contempo sono state valutate le caratteristiche qualitative delle foglie delle tipologie di cavolo da foglia conservate presso il DISPA e dei germinelli finora ottenuti. A tale riguardo sono stati messi a punto i protocolli di estrazione ed analisi dei principali composti antiossidanti presenti nelle foglie,

rappresentati principalmente da vitamina C, antocianine, β -carotene, polifenoli totali e glucosinolati. Il prodotto raccolto dalle due tipologie di cavolo da foglia diffuse in Sicilia è stato utilizzato per valutare le variazioni delle principali caratteristiche morfobiometriche e successiva produzione in IV gamma in rapporto alla temperatura ed all'atmosfera di conservazione.

Durante il triennio sono state svolte diverse attività a sostegno dell'innovazione di prodotto in orticoltura ponendo specifica attenzione alle diverse tipologie di cavolo da foglia diffuse in Europa, con specifico riferimento a quelle maggiormente coltivate nella nostra regione, ed alla produzione di germinelli di specie diverse allo scopo di ampliare l'assortimento delle specie che possono essere offerte sul mercato.

2.2.1. Analisi della diversità bio-morfologica delle principali tipologie di cavolo da foglia diffuse in Europa

2.2.1.1. Presentazione della problematica

La coltivazione del cavolo da foglia viene realizzata in Europa utilizzando una pluralità di tipologie differenti tra loro in conseguenza sia alle diversificate condizioni ambientali che alle diverse destinazioni d'uso, ovvero per l'alimentazione umana e/o animale.

Tale diversità consente di potere porre le basi per un lavoro di caratterizzazione finalizzato all'individuazione di tipi che consento di potere sostenere l'innovazione di prodotto in orticoltura sulla base delle esigenze dei consumatori sempre più attenti alla qualità del prodotto soprattutto per quanto attiene il profilo salutistico dello stesso.

Le pressanti problematiche ambientali condizionate sia dal cambiamento climatico che dall'azione di pratiche agricole spesso poco rispettose dell'integrità del territorio ha reso opportuno l'individuazione di colture che siano in grado di attenuarne l'impatto con l'ambiente. A tale proposito il cavolo da foglia sembra rispondere a tale esigenze sia per il ciclo biologico della pianta che è perenne e che permette un miglioramento della fertilità del terreno, sia per i suoi tratti di rusticità che consentono di utilizzare per la sua coltivazione terreni anche marginali. In diversi orti familiari e suburbani della Sicilia esso è spesso coltivato nelle scarpate e nei terreni declivi per limitare gli smottamenti del terreno grazie alla permanenza nel tempo del robusto apparato radicale che consente lo stato dei luoghi.

La rapida introduzione in coltura di nuove costituzioni ibride F1 di altre colture afferenti a *B. oleracea*, in particolare di cavolfiore e di cavolo broccolo, impone tra l'altro l'opportunità di conservare tale diversità che è compromessa dalla peculiare biologia florale della specie che agevola la fecondazione incrociata. Il rischio di inquinamento genetico è chiaramente molto pressante nei comprensori orticoli che presentano nel contempo, nel loro ordinamento colturale, le suddette colture così come accade in Sicilia.

L'industria sementiera, sempre di più concentrata nelle mani di pochi ed efficienti ditte multinazionali, si impegna prevalentemente nell'ottenimento sia di ibridi F1, derivanti da una ristretta gamma di linee parentali, che di varietà ingegnerizzate. Le attività di conservazione e di salvaguardia del germoplasma ortivo sono ristrette solo ad alcune cultivar tradizionali di particolare notorietà, mentre vengono abbandonate progressivamente tutte le altre. Ciò ha provocato, e tuttora provoca, la rapida perdita di variabilità genetica, cioè di geni e di *pool* genici presenti nelle cultivar locali tradizionali.

La conservazione delle risorse fitogenetiche rappresenta da alcuni decenni uno degli obiettivi più urgenti per la salvaguardia delle diverse cultivar locali costituite nel tempo dalla sapiente opera dei coltivatori. Del resto la valorizzazione di tali tipologie prescinde dall'individuazione di genotipi che si adattano alle moderne tecniche colturali adattandosi a diversi livelli di concimazione, alla meccanizzazione integrale, alla coltura protetta, ai substrati artificiali ed alla trasformazione industriale, etc.

Le cultivar locali perfettamente adattate al loro tradizionale ambiente di coltivazione, le cultivar commerciali ormai obsolete, le linee già impiegate nel lavoro di *breeding* ed attualmente non utilizzate, costituiscono un patrimonio di variabilità genetica irripetibile, la cui perdita non può essere rimediata.

La raccolta, la caratterizzazione e la conservazione delle risorse genetiche è, pertanto, di particolare importanza, soprattutto nel settore delle piante da orto, per alcune delle quali il nostro Paese è particolarmente ricco di variabilità.

Il materiale vegetale può essere conservato, in rapporto alla durata del ciclo riproduttivo, al sistema di gamia, alla possibilità di moltiplicazione vegetativa, etc., mediante diversi sistemi: riserve *in situ* (cioè nella sede stessa di individuazione), riserve *ex situ* (in ambienti particolarmente adatti, poco antropizzati), collezioni *ex situ* (cioè in laboratori o strutture specializzate, denominate banche del germoplasma) di semi, polline, materiale propagato *in vitro*, etc.

Un grande sforzo organizzativo è stato svolto in ambito internazionale soprattutto dall'*International Plant Genetics Resources Institute* (I.P.G.R.I.) di Roma, da poco denominato *Bioversity International*, che opera nell'ambito del

Consultative Group on International Agricultural Research (C.G.I.A.R.), mentre in ambito nazionale dall'Istituto del Germoplasma di Bari del Consiglio Nazionale delle Ricerche e da diverse banche del germoplasma di più modeste dimensioni diffuse nel territorio nazionale. In quest'ultimo caso il lavoro è stato spesso concentrato su particolari gruppi di specie ortive presso diverse sedi di ricerca al fine di mantenere i *pool* genici tradizionali.

La durata della vitalità dei materiali conservati dipende dalla longevità della specie, dalle condizioni fisiologiche degli stessi prima dell'inizio della conservazione e dall'ambiente in cui essi vengono conservati.

In tale ambito si inquadra la presente linea di attività che ha avuto come obiettivo generale quello di caratterizzare i tratti bio-morfologici dei tipi di cavolo da foglia diffuso in Europa al fine di registrare la variabilità esistente e di individuare i materiali genetici più interessanti da utilizzare nel miglioramento genetico della coltura.

2.2.1.2. Materiali e metodi

Tale linea di attività si inquadra nell'ambito delle iniziative intraprese dal *Brassica Working Group (BWG)* dell'*European Cooperative Programme for Genetic Resources (ECPGR)* coordinato da *Bioversity International*. Nell'ambito delle diverse iniziative di cooperazione comunitaria è stato ritenuto opportuno realizzare una *core collection* di tipologie di cavolo da foglia diffuse in coltura in Europa e conservate presso diverse banche del germoplasma. In particolare sono state oggetto di studio 23 accessioni di cavolo da foglia, provenienti da 14 Paesi europei e da uno mediorientale (Turchia), che rappresentano 15 cultivar locali, 5 cultivar commerciali e 3 tipi diffusi allo stato spontaneo (*Wild Type*) che sembrano essere riconducibili a tipi coltivati sfuggiti (*escape*) alla coltivazione (tab. 7). Tali accessioni sono state fornite da 11 banche del germoplasma europee e da ricercatori che collaborano a tale iniziativa nell'ambito del BWG. In particolare, un'accessione proviene dal Belgio, una dalla Bosnia-Erzegovina, una dalla Croazia, due dalla Danimarca, due dalla Francia, una dalla Germania, una dalla Gran Bretagna, due dalla Grecia, una dall'Irlanda, quattro dall'Italia, due dal Portogallo, due dalla Spagna, una dalla Svezia e due dalla Turchia.

I lotti di seme delle accessioni allo studio sono stati utilizzati per effettuare la semina in contenitori nel marzo 2009 e le piante ottenute sono state trapiantate nel maggio dello stesso anno presso l'ASA. Le piante sono state disposte alla distanza di 1,0 m tra le file e 0,6 m sulla fila realizzando la densità colturale di 1,7 piante m². Lo schema sperimentale è stato quello a blocchi randomizzati, con quattro ripetizioni di dieci piante ciascuna.

Per tutta la durata del ciclo vegetativo le piante di cavolo da foglia sono state coltivate adottando le pratiche agronomiche comunemente utilizzate per il cavolo broccolo. Dopo circa sette mesi dal trapianto ciascuna pianta posta in coltura è stata caratterizzata sulla base dei principali descrittori bio-morfologici IBPGR (*International Board for Plant Genetic Resources*) e UPOV (*Union internationale pour la Protection des Obtentions Végétales*) al fine distinguere le diverse accessioni. In particolare i caratteri descrittivi rilevati sulla pianta sono stati la durata dell'intervallo trapianto-emergenza (TREM) e trapianto-fioritura (TRFI), la dimensione longitudinale del fusto (STAL), il dimensione trasversale

del fusto (STDI), dimensione longitudinale (PIAL) e dimensione trasversale (PIDI) della pianta, il rapporto tra la dimensione longitudinale e quella traversa del fusto (ALDI), la percentuale delle piante indotte a fiore (PEEM), la forma della pianta (PIFO), la ramificazioni nella pianta (PIRA), la predisposizione a formare il cespo (PIHE), il numero delle foglie presenti (FGNU) ed il numero di cicatrici fogliari presenti sul fusto (FGCI), l'uniformità della colorazione del petalo tra le piante (UNFI), la percentuale di piante giunte a fioritura (PEFI). Con riferimento ai descrittori della foglia sono stati rilevati la presenza di antocianine (FGAN), la forma (FGFO) e il portamento (FGAT) della lamina fogliare, il colore (FGCO), la dimensione longitudinale (FGLU) e trasversale (FGLA), l'arricciamento (FGCU), l'ondulazione (FGMA), la lobatura (FGLO) e la sezione (FGSE) della foglia. Con riferimento ai descrittori del peziolo sono stati rilevati la dimensione longitudinale (PELU) e trasversale espressa in centimetri (PELA) e quest'ultima espressa anche secondo i caratteri IBPGR (PEAL), la colorazione (PECO) e l'inclinazione rispetto al piano orizzontale (FGAG) del peziolo, ed infine la colorazione (COPE) del petalo (tab. 8; figg. 15,16).

I dati registrati per ciascun carattere allo studio sono stati utilizzati per calcolare la media, la deviazione standard ed il coefficiente di variabilità, al fine di valutare il livello di uniformità riscontrato per ciascun descrittore. Le medie di ciascun carattere descrittore sono state utilizzate per predisporre una matrice numerica e per individuare le correlazioni che intercorrono tra di essi.

La matrice così ottenuta è stata utilizzata per eseguire l'analisi dei fattori in modo da poter definire il contributo di ciascun carattere nel determinare la variabilità totale. Sono state così individuate le componenti principali necessarie per distribuire i tipi allo studio su un sistema di assi cartesiani prendendo in considerazione le componenti principali più rappresentative della varianza.

La *hierarchical cluster analysis* (Chatfield e Collins, 1980) è stata eseguita con il metodo del *complete linkage furthest neighbour* (Massie *et al.*, 1996), utilizzando come unità di misura il quadrato della distanza euclidea; le medie dei parametri rilevati sono state preventivamente standardizzate mediante deviazione standard.

2.2.1.3. Risultati e discussione

Le ventitre accessioni di cavolo da foglia analizzate hanno fatto osservare un'ampia variabilità per molti dei caratteri presi in considerazione attestando l'elevata diversità esistente in Europa per tale coltura (figg. 17,18,19). I caratteri che nell'ordine hanno fatto accertare valori del coefficiente di variabilità più elevati sono stati predisposizione a formare la testa (PIHE), lobatura della foglia (FGLO), arricciamento della foglia (FGCU), colore del peziolo (PECO), dimensione longitudinale del peziolo (PELU), presenza di antocianine (FGAN), ramificazioni nella pianta (PIRA), dimensione trasversale del peziolo espressa in centimetri (PELA) e secondo i caratteri IBPGR (PEAL), ondulazione della foglia (FGMA), rapporto tra dimensione longitudinale e trasversale del fusto (ALDI) ed infine numero di foglie presenti sul fusto (FGNU) (tabb. 9,10). Ciò si denota sia osservando la struttura della pianta, condizionata principalmente dal grado di ramificazione e dalla forma, che dalle caratteristiche della foglia e del peziolo (tab. 8; figg. 15,16). A titolo esemplificativo, basta porre l'attenzione sui valori delle dimensioni longitudinali e trasversali del peziolo e della foglia o della presenza di lobi o meno in quest'ultima (tab. 10).

L'analisi dei dati rilevati per i diversi descrittori analizzati ha fatto evidenziare diverse correlazioni tra diversi descrittori della pianta, della foglia e del peziolo (tabb. 8,11). Tutti i parametri rilevati sono apparsi correlati significativamente tra loro tranne l'uniformità della colorazione del petalo tra le piante che è apparso indipendente (tabb. 8,11). Tra i caratteri correlati quelli che sono stati scelti per rappresentarli nelle successive elaborazioni per la classificazione delle tipologie di cavolo da foglia europee sono stati ramificazioni nella pianta (PIRA), forma della pianta (PIFO), dimensione longitudinale del fusto (STAL), rapporto tra dimensione longitudinale e trasversale del fusto (ALDI), durata dell'intervallo trapianto-emergenza (TREM), dimensione longitudinale della foglia (FGLU), forma della lamina fogliare (FGFO), portamento della lamina fogliare (FGAT), ondulazione della foglia (FGMA), presenza di antocianine (FGAN), colore della foglia (FGCO), dimensione trasversale del peziolo (PELA) e colorazione del petalo (COPE) (tabb. 8,11).

Le analisi effettuate per classificare le cultivar locali in gruppi omogenei sulla base dei caratteri bio-morfologici presi in considerazione hanno fatto riferimento all'analisi dei fattori ed all'analisi a grappoli.

L'analisi dei fattori ha evidenziato cinque componenti principali, le prime due delle quali esprimono il 52,95% della varianza dei parametri presi in considerazione (tab. 12). La prima componente principale (CP1) è correlata positivamente nell'ordine con ondulazione della foglia, forma della lamina fogliare, portamento della lamina fogliare, durata dell'intervallo trapianto-emergenza, colore della foglia e dimensione longitudinale del fusto ed esprime il 24,0% della varianza, la seconda componente principale (CP2) è correlata positivamente con la dimensione longitudinale della foglia e negativamente con la ramificazione nella pianta, forma della pianta e colorazione del petalo ed esprime il 16,2% della varianza, mentre la terza componente principale (CP3) è correlata positivamente con la dimensione trasversale del peziolo espressa in centimetri e negativamente con la durata dell'intervallo trapianto-emergenza ed esprime il 12,6% della varianza (tabb. 12,13). La distribuzione delle accessioni di cavolo da foglia nello spazio delimitato dalle tre componenti principali individuate consente di individuare cinque raggruppamenti principali. Il gruppo A, rappresentato solo da SE (COM), si distingue per valori modesti per PIRA, STAL e FGLU ed elevati di ALDI, FGAN, FGCO, FGAT, FGMA e COPE, il gruppo B, formato da due tipologie italiane riconducibili al cavolo nero di Toscana IT A (CL) e IT (COM), si contraddistingue per valori modesti rilevati per PIFO ed elevati registrati per FGCO, FGLU e FGAT, il gruppo C, rappresentato da DK A (COM), DK B (COM), BIH (CL) e FR (WT), si distingue per modesti valori registrati per FGFO e FGAN ed elevati per PIFO e FGAT, il gruppo D, rappresentato da IR (CL), è contraddistinto da valori modesti di FGLU ed elevati di TREM, PIRA e COPE, il gruppo E, rappresentato da IT B (CL), IT C (CL), GR A (CL), GR B (CL), HRV (CL) e BE (CL), è caratterizzato da valori modesti di ALDI, TREM, FGAN, FGAT e FGMA ed elevati di PIFO, il gruppo F, rappresentato da FR (CL), TR B (CL), ES (WT), UK (WT) e PT B (CL), è contraddistinto da valori modesti di ALDI ed elevati di FGAT e PELA, il gruppo G, rappresentato solo da DE (COM), si distingue per valori modesti rilevati per PIRA, ALDI e FGCO, ed elevati registrati per STAL, TREM, FGLU, FGAT, FGMA e PELA, ed infine il gruppo H,

rappresentato da ES (CL), PT A (CL), e TR A (CL), contraddistinto da valori elevati registrati per PIFO, FGLU, FGAN, FGCO e FGAT (fig. 20; tabb. 7,8).

L'analisi a grappolo suddivide le accessioni in due ramificazioni di primo ordine delle quali la prima è rappresentata dai gruppi A, B, C, D ed E mentre la seconda dai gruppi F e G, rappresentati da accessioni provenienti dall'Europa centro-settentrionale che si differenziano nettamente per gli elevati valori registrati per ALDI, TREM e FGAT (fig. 21; tab. 8). A loro volta il gruppo G, rappresentato solo da SE (COM) si distingue dal gruppo F, costituito da IR (CL) e FR (WT), per valori più modesti rilevati per STAL, TREM, PIRA, PIFO, FGLU e valori maggiori per FGAN, FGCO e FGMA (fig. 21; tabb. 7,8). Nell'ambito della prima ramificazione di primo ordine i gruppi A, B non presentano differenze univoche dei descrittori presi in considerazione rispetto ai gruppi C, D ed E posti su una distinta ramificazione dell'analisi a grappolo (fig. 21). Ciò nonostante si nota un accorpamento funzionale delle accessioni in rapporto alle aree geografiche di provenienza in quanto nei primi due gruppi sono presenti tutte le cultivar locali originarie dell'Italia meridionale, dai Paesi balcanici, dalla Grecia e dalla penisola iberica mentre nei restanti tre gruppi sono raggruppati i tipi provenienti dall'Europa centrale-settentrionale e dalla Turchia e dai *wild type* raccolti in Spagna e nel Regno Unito (fig. 21, tab. 7). In particolare nel gruppo A sono raggruppate le accessioni IT B (CL), IT C (CL), GR A (CL), GR B (CL), HRV (CL) e BIH (CL) che rappresentano le cultivar locali provenienti dall'Italia meridionale, dalla grecia e dai Paesi balcanici, nel gruppo B sono presenti i tipi ES (CL), PTB (CL) e PT (CL) che rappresentano le cultivar locali provenienti dalla penisola iberica, nel gruppo C sono raggruppati i tipi IT (COM), IT a (CL), TR A (CL), ES (WT), TR B (CL), BE (CL) e UK (WT), che rappresentano le cultivar locali e commerciali diffuse nell'Italia settentrionale, le due cultivar locali provenienti dalla Turchia, la cultivar locale proveniente dal Belgio ed due *wild type* inglese e spagnolo, nel gruppo D sono presenti FR (CL), DE (COM), ed infine nel gruppo E è raggruppata solo la cultivar commerciale DK B (fig. 21; tab. 7).

Con riferimento ai Paesi di origine delle accessioni è interessante notare che le quattro cultivar italiane sono distribuite parimenti nei gruppi A e C, dove nel primo sono presenti le cultivar locali provenienti dalle regioni meridionali del

nostro Paese (Sicilia e Calabria) e le seconde sono da ricondurre alla tipologia cavolo nero di Toscana, una è di origine commerciale mentre l'altra è una selezione aziendale, a riprova della variabilità che si riscontra nel nostro Paese per il cavolo da foglia (fig. 21; tab. 7). Per cultivar locali provenienti dallo stesso Paese si riscontra una maggiore uniformità in quanto rientrano nello stesso gruppo, così come si osserva per quelle turche, e per quelle croata e bosniaca in quanti Stati afferenti all'ex Jugoslavia.

Le cultivar commerciali sono distribuite in gruppi diversi denotando diversi percorsi selettivi attuati dalle corrispondenti ditte sementiere mentre per i tipi spontanei provenienti dalla Spagna e dal Regno Unito sono disposti nello stesso gruppo quello diffuso in Francia sembra essere differente e raggruppato con la cultivar locali irlandese (fig. 21; tab. 7).

Come detto precedentemente lo studio della collezione europea di cavolo da foglia realizzato dal DISPA presso l'ASA è parte integrante di un programma di lavoro che da alcuni anni è stato avviato con il Prof. Von Bothmer dell'Università Svedese di Scienze Agricole presso la quale è stato realizzato nello stesso periodo un campo collezione analogo a quello descritto. Sulla base dei primi risultati ottenuti sull'analisi della diversità dei materiali genetici realizzato mediante marcatori AFLP si evince l'elevato livello di diversità delle cultivar locali analizzate rispetto alle popolazioni spontanee, *wild type* di *B. oleracea* (Christensen *et al.*, 2011). Nel complesso si osservano similarità nella suddivisione dei materiali allo studio, la maggior parte uguali per le collezioni valutate sia a Catania che ad Alnarp, ciò sulla base dell'analisi fattoriale e di quella a grappolo. Per la prima appaiono ben distinte le cultivar irlandese, svedese, danese, belga e spagnola, mentre le cultivar italiane, croata, bosniaca, francese, spagnola, portoghese e turca appaiono simili tra loro. Per la verità nell'analisi fattoriale della collezione di Catania si differenziano dalle cultivar dell'Europa centro-meridionale anche due cultivar greche ed una portoghese; le popolazioni spontanee di *B. oleracea* vengono aggregate con le cultivar dell'Europa centro-meridionale e solo quella proveniente dal Regno Unito sembra evidenziare una maggiore diversità (fig. 20). L'analisi a grappolo conferma analogie tra la classificazione realizzata su basi genetiche e quella risultante dai descrittori bio-morfologici prescelti. Le cultivar dell'Europa settentrionale e la

popolazione spontanea di *B. oleracea* diffusa nel Regno Unito si collocano su ramificazioni vicine e comunque ben distinte dai restanti materiali genetici allo studio (fig. 21). Altra analogia è legata alla elevata similarità delle due cultivar turche espressa sia dai dati genetici e bio-morfologici ma in quest'ultimo caso sono aggregate con le cultivar locali siciliana e calabrese, e con i due *wild type* di *B. oleracea* provenienti dalla Spagna e dalla Francia (fig. 21).

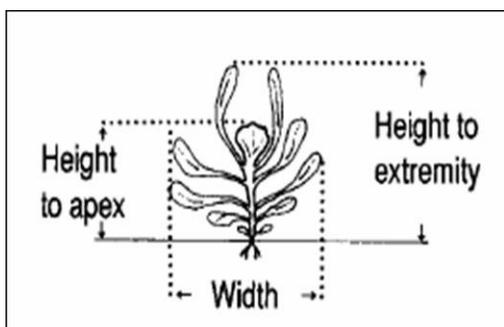
Come già evidenziato da Christensen et al. (2011) le forme spontanee sembrano rappresentare più dei tipi sfuggiti alla coltivazione che progressivamente si sono naturalizzati come delle vere e proprie forme ancestrali di *B. oleracea*, in quanto non si evidenzia per esse una ampia diversità allelica. Sulla base dei nostri risultati, e di quelli di altri ricercatori che negli ultimi decenni hanno cercato di fissare le tappe evolutive della domesticazione di *B. oleracea*, appare interessante notare che il bacino del Mediterraneo esprime un'ampia variabilità di forme e tipi coltivati di *B. oleracea*, oltre una ampia gamma di specie spontanee di *Brassica* (n=9), che lo fa ritenere il centro di origine e di diversificazione di *B. oleracea* mentre fino agli ultimi decenni del secolo scorso si pensava che tale processo fosse stato avviato lungo la costa atlantica dell'Europa centro-settentrionale (Snogerup, 1980; Maggioni et al., 2010).

Tabella 7 – Tipi della core collection europea di cavolo da foglia conservati presso diverse banche del germoplasma.

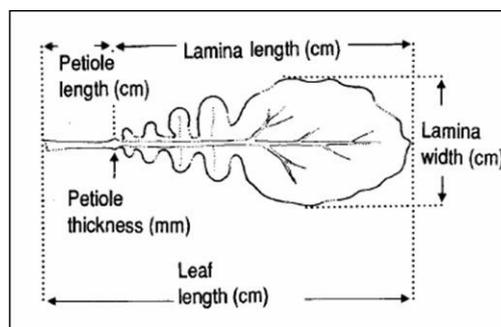
Sigla	Nome accessione	Provenienza	Codice accessione
<i>Cultivar Locali</i>			
BE (CL)	Choux de Jalhay	Belgio	CGN14079
BIH (CL)	Kale Bih	Bosnia- Erzegovina	AFM022
ES (CL)	Berza	Spagna	BRS0106
FR (CL)	Fo 44-30 Chou Fourrager Cavalier	Francia	212
GR A (CL)	HL 207/07	Grecia	GGB
GR B (CL)	LKK 038/07	Grecia	GGB
HRV (CL)	Istria, Kale-Croatia	Croazia	Zolravko Matotan
IR (CL)	Cut & Come Again	Irlanda	HRIGRU7229
IT A (CL)	Cavolo nero vecchio	Italia	LM07-4
IT B (CL)	Stilo Bivongi Latassa	Italia	UNICT3781
IT C (CL)	Caltavuturo (Romano)	Italia	UNICT3744
PT A (CL)	Couve Galega	Portogallo	HRIGRU12121
PT B (CL)	Couve Todod os Dias	Portogallo	.00623
TR A (CL)	Artvin	Turchia	TR73461
TR B (CL)	Kocaeli	Turchia	TR66758
<i>Cultivar Commerciali</i>			
DE (COM)	Veteran	Germania	NGB2654.1
DK A (COM)	Hoj Amager Tofto	Danimarca	NGB4085.1
DK B (COM)	Lav Opretvoksende Lavo	Danimarca	NGB548
IT (COM)	Cavolo di Toscana nero	Italia	SGARAVATTI
SE (COM)	Garna Red F1	Svezia	NGB12004
<i>Wild Type</i>			
ES (WT)	Wild Type	Spagna	Gert Poulsen
FR (WT)	Wild Type	Francia	Gert Poulsen
UK (WT)	Wild Type	Gran Bretagna	HRI8707

Tabella 8 – Caratteri descrittivi rilevati

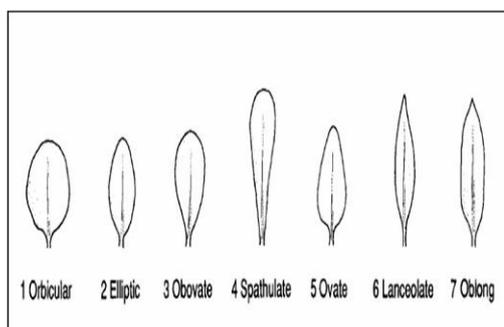
Sigla	IBPGR o UPOV	
Pianta		
ALDI	4.2.56	Rapporto tra la dimensione longitudinale e trasversale del fusto (cm)
FGCI		Numero di cicatrici fogliari presenti sul fusto (n)
FGNU		Numero di foglie presenti sul fusto (n)
PEEM		Percentuale delle piante indotte al fiore (%)
PEFI	4.3.2	Percentuale di piante giunte a fioritura (%)
PIAL	4.2.3	Dimensione longitudinale della pianta (cm)
PIDI	4.2.4	Dimensione trasversale della pianta (cm)
PIFO	UPOV_3	Forma della pianta (1=piramide invertita; 2=piatta; 3=cupola; 4=piramide; 5=colonna)
PIHE	4.2.34	Predisposizione a formare il cespo (0=nessuna testa; 5=semi testa; 7=testa)
PIRA		Ramificazioni nella Pianta (0=assenza; 3=intermedia; 7=alta)
STAL	4.2.54	Dimensione longitudinale del fusto (cm)
STDI	4.2.55	Dimensione trasversale del fusto (cm)
TREM		Durata dell'intervallo trapianto-emergenza (giorni giuliani=gg)
TRFI		Durata dell'intervallo trapianto-fioritura (giorni giuliani=gg)
UNFI	4.5.14	Uniformità della colorazione del petalo tra le piante (3=uniforme; 5=intermedio; 7=alta variabilità)
Foglia		
FGAN	UPOV_5	Presenza di antocianine (1=assenza; 9=presenza)
FGAT	4.2.23	Portamento della lamina fogliare (3=convessa; 5=dritta; 7=concava)
FGCO	4.2.24	Colore della foglia (1=giallo verde; 2=verde chiaro; 3=verde; 4=verde scuro; 5=porpora verde; 6=porpora; 7=altro)
FGCU	UPOV_14	Arricciamento della foglia (1=assenza o molto basso; 3=basso; 5=medio; 7=alto)
FGFO	4.2.16	Forma della lamina fogliare (1=arrotondata; 2=ellittica; 3=subovata; 4=spatolata; 5=ovata; 6=lanceolata; 7=oblunga)
FGLA	4.2.13	Dimensione trasversale della foglia (cm)
FGLO		Lobatura della foglia (1=assenza; 9=presenza)
FGLU	4.2.12	Dimensione longitudinale della foglia (cm)
FGMA		Ondulazione della foglia (0=nessuno; 3=basso; 5=intermedio; 7=alto)
FGSE	UPOV_15	Sezione della foglia (3=debole; 5=medio; 7=forte)
Peziolo		
FGAG	4.2.15	Inclinazione rispetto al piano orizzontale del peziolo (1=eretto (>87°); 2=aperto (~67°); 3=semiprostrato (~45°); 4=prostrato (<30°); 5=orizzontale (~90°); 6=obliquo (>-10°))
PEAL	4.2.27	Dimensione trasversale del peziolo (3=modesta; 5=media; 7=elevata)
PECO	4.2.33	Colore del peziolo (1=bianco; 2=verde chiaro; 3=verde; 4=purpureo; 5=rosso; 6=altro)
PELA	UPOV_18	Dimensione trasversale del peziolo (cm)
PELU	UPOV_17	Dimensione longitudinale del peziolo (cm)
Petalo		
COPE	4.3.17	Colorazione del Petalo (1=bianco; 2=giallo chiaro; 3=giallo; 4=arancio giallo; 5=rosa; 6=rosso; 7=purpureo; 8=altro)



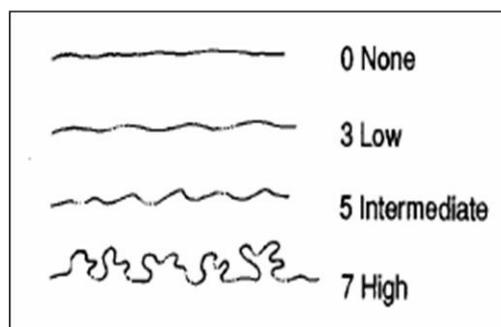
Dimensione longitudinale e trasversale della pianta (PIAL-PIDD)



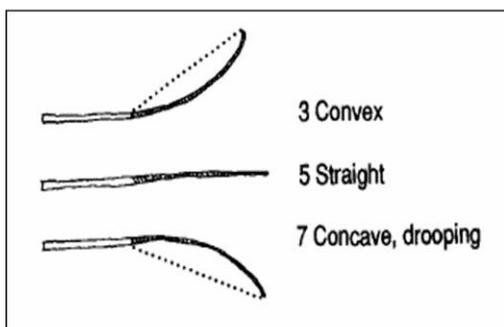
Caratteristiche della foglia (FGLA-FGLU)



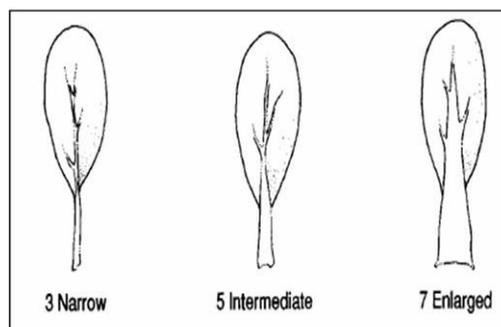
Forma della lamina fogliare (FGFO)



Bollosità della foglia (FGMA)

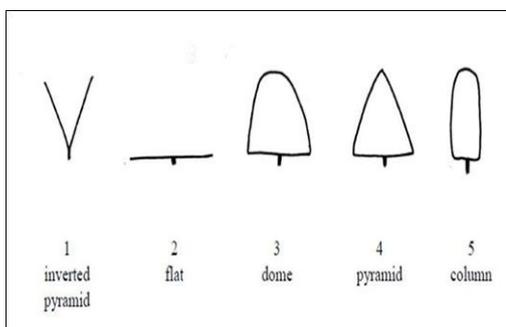


Portamento della lamina fogliare (FGAT)

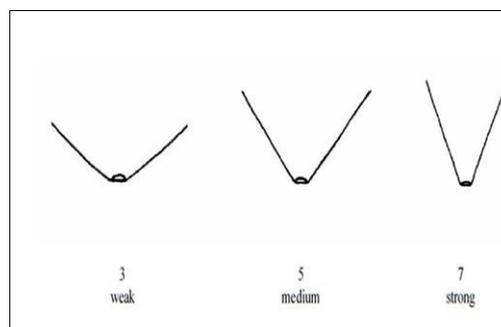


Dimensione trasversale del peziolo (PEAL)

Figura 15 – Alcuni caratteri IBPGR utilizzati per la caratterizzazione IBPGR, 1990



Forma della pianta (PIFO)



Sezione della foglia (FGSE)

1. Assente o molto basso



3. Basso



5. Medio



7. Alto



Arricciamento della foglia (FGCU)

Figura 16 - Alcuni caratteri UPOV utilizzati per la caratterizzazione UPOV, 2004

Choux de Jalhay –BE (CL)



Kale Bih - BIH (CL)



Berza –ES (CL)



**Fo 44-30 Chou Fourrager Cavalier-
FR (CL)**



HL 207/07 –GR A (CL)



LKK 038/07 –GR B ((CL)



Istria, Kale-Croatia –HRV (CL)



Cut & Come Again –IR ((CL)



Cavolo nero vecchio –IT A (CL)



Figura 17 – Tipi della core collection europea di cavolo da foglia studiata

Stilo Bivongi Latassa –IT B (CL)



Caltavuturo Romano -IT C (CL)



Couve Galega –PT A (CL)



Couve Todos os Dias –PT B (CL)



Artvin –TR A (CL)



Kocaeli –TR B (CL)



Veteran –DE (COM)



Hoj Amager Tofto - DK A (COM)



**Lav Opretvoksende Lavo-
DK B (COM)**



Figura 18 – Tipi della core collection europea di cavolo da foglia studiata

**Cavolo di Toscana nero Sgaravatti
-IT (COM)**



Garna Red F1 -SE (COM)



Wild Brassica oleracea -ES (WT)



Wild Brassica oleracea -FR (WT)



Wild Brassica oleracea -UK (WT)



Panoramica del Campo Sperimentale



Figura 19 – Tipi della core collection europea di cavolo da foglia studiata

Tabella 9 – Caratterizzazione biomorfologica della pianta

	ALDI	FGCI	FGNU	PEEM	PEFI	PIAL	PIDI	PIFO	PIHE	PIRA	STAL	STDI	TREM	TRFI	UNFI
IR (CL)	25,8 (46,0)	79,5 (46,6)	110,1 (45,7)	23,1 (0,0)	23,1 (0,0)	57,4 (48,5)	71,5 (52,3)	3,3 (32,5)	0,0 (0,0)	6,5 (28,8)	34,9 (47,6)	1,4 (30,8)	85,0 (4,1)	108,0 (0,0)	3,0 (0,0)
PT A (CL)	14,8 (30,2)	35,2 (47,0)	25,7 (51,8)	89,5 (0,0)	89,5 (0,0)	101,6 (16,2)	89,3 (18,8)	1,5 (85,6)	0,0 (0,0)	2,2 (115,4)	57,3 (20,3)	4,0 (19,3)	58,4 (18,3)	75,7 (19,2)	3,0 (0,0)
HRV (CL)	11,5 (29,2)	48,8 (50,4)	33,9 (49,9)	100,0 (0,1)	100,0 (0,1)	75,9 (47,9)	58,1 (27,4)	3,8 (48,5)	5,4 (15,7)	1,4 (165,0)	46,7 (29,7)	4,1 (20,8)	45,6 (35,0)	65,0 (31,4)	5,0 (0,0)
ES (CL)	20,0 (32,9)	36,2 (55,1)	25,0 (57,8)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	114,1 (19,8)	90,1 (10,1)	2,9 (61,2)	0,3 (447,2)	1,1 (174,2)	69,4 (32,3)	3,5 (10,1)	71,9 (14,0)	91,4 (14,5)	7,0 (0,0)
BE (CL)	15,2 (32,4)	54,5 (47,7)	33,7 (51,1)	85,0 (0,0)	70,6 (0,0)	53,8 (21,4)	66,8 (26,6)	3,4 (32,7)	0,0 (0,0)	3,4 (70,3)	34,0 (27,8)	2,3 (17,7)	93,4 (17,1)	115,0 (4,9)	5,0 (0,0)
IT (COM)	17,8 (107,2)	76,5 (39,4)	82,4 (38,9)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	77,2 (23,5)	65,0 (29,8)	1,7 (92,1)	0,6 (306,8)	3,1 (75,1)	38,0 (26,5)	2,8 (37,2)	56,5 (21,9)	85,2 (12,6)	5,0 (0,0)
TR B (CL)	12,2 (43,5)	74,7 (38,0)	61,6 (37,7)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	83,8 (18,4)	98,3 (19,4)	3,1 (28,3)	0,0 (0,0)	5,0 (41,3)	35,7 (27,9)	3,2 (32,0)	65,6 (17,2)	78,9 (12,5)	7,0 (0,0)
TR A (CL)	7,2 (50,6)	37,6 (62,2)	35,2 (46,9)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	67,7 (19,0)	83,7 (22,6)	2,6 (40,2)	0,0 (0,0)	2,6 (93,0)	23,8 (39,4)	3,5 (20,4)	78,9 (20,9)	89,2 (18,2)	7,0 (0,0)
DK A (COM)	23,0 (24,7)	50,9 (63,5)	35,4 (68,1)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	75,8 (21,0)	58,6 (23,9)	3,2 (59,8)	0,0 (0,0)	1,4 (144,3)	58,7 (22,5)	2,6 (17,4)	92,4 (13,2)	120,1 (9,2)	5,0 (0,0)
BIH (CL)	13,2 (36,8)	47,9 (63,5)	38,1 (78,1)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	56,5 (22,3)	59,4 (23,3)	2,0 (68,8)	3,3 (69,6)	2,5 (117,9)	36,1 (31,3)	2,9 (25,7)	27,4 (13,8)	47,7 (15,7)	5,0 (0,0)
FR (CL)	15,9 (145,8)	34,1 (82,3)	36,3 (49,5)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	77,5 (24,6)	90,3 (18,6)	3,0 (42,2)	0,0 (0,0)	1,5 (157,9)	44,7 (35,1)	4,8 (39,4)	88,4 (20,4)	110,1 (13,5)	3,0 (0,0)
SE (COM)	38,0 (141,3)	21,8 (34,1)	9,5 (38,9)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	14,3 (30,5)	21,5 (42,4)	2,0 (57,7)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	7,0 (30,9)	0,7 (85,1)	73,0 (0,0)	111,0 (0,0)	3,0 (0,0)
PT B (CL)	10,3 (29,6)	31,9 (22,7)	22,8 (43,3)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	77,9 (18,0)	94,7 (22,7)	2,8 (22,6)	1,5 (161,0)	0,9 (161,0)	43,7 (23,5)	4,4 (15,5)	32,9 (22,8)	57,9 (13,9)	5,0 (0,0)
GR A (CL)	17,4 (21,8)	108,9 (57,7)	69,0 (58,3)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	82,7 (13,4)	69,5 (23,8)	2,7 (64,8)	5,0 (0,0)	4,2 (62,7)	60,0 (12,4)	3,6 (18,9)	25,2 (33,1)	44,8 (23,1)	5,0 (0,0)
GR B (CL)	10,9 (24,6)	50,8 (37,5)	52,5 (22,7)	100,0 (0,0)	100,0 (0,1)	71,9 (22,3)	38,6 (43,2)	3,2 (48,3)	7,0 (0,0)	2,5 (104,3)	49,5 (28,9)	4,5 (15,0)	44,1 (49,6)	42,9 (38,9)	5,0 (0,0)
IT A (CL)	12,1 (17,1)	41,6 (36,7)	33,0 (48,2)	92,9 (0,0)	92,9 (0,0)	81,4 (21,9)	73,1 (25,2)	1,0 (0,0)	0,2 (374,2)	0,2 (374,2)	44,7 (27,1)	3,7 (22,9)	38,8 (32,9)	65,8 (23,5)	5,0 (0,0)
IT B (CL)	11,8 (31,5)	80,8 (49,6)	65,0 (49,7)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	72,0 (22,3)	77,9 (24,8)	3,0 (50,4)	1,7 (146,4)	4,7 (51,0)	43,1 (26,6)	3,9 (32,6)	27,4 (21,0)	52,9 (10,6)	7,0 (0,0)
IT C (CL)	9,0 (44,9)	50,7 (62,7)	51,4 (51,4)	100,0 (0,0)	100,0 (0,1)	84,2 (25,3)	86,6 (29,0)	3,5 (48,6)	0,0 (0,0)	4,2 (67,2)	44,3 (36,6)	5,2 (28,0)	25,2 (51,9)	51,1 (34,8)	3,0 (0,0)
UK (WT)	9,1 (39,0)	40,5 (48,3)	31,9 (44,3)	33,3 (0,0)	6,7 (0,0)	50,7 (29,3)	75,3 (22,8)	2,7 (32,3)	0,0 (0,0)	2,5 (90,6)	24,4 (33,7)	2,8 (26,2)	113,8 (10,3)	116,0 (0,0)	2,0 (0,0)
ES (WT)	8,2 (34,1)	45,2 (42,6)	32,6 (53,8)	100,0 (0,1)	94,1 (0,0)	59,8 (26,8)	70,1 (24,8)	2,5 (34,6)	3,3 (69,4)	2,2 (87,8)	30,5 (40,0)	4,0 (37,8)	57,6 (34,5)	75,8 (11,6)	5,0 (0,0)
FR (WT)	42,2 (156,2)	62,0 (46,2)	52,4 (58,2)	100,0 (0,1)	75,0 (0,2)	62,2 (17,9)	79,0 (18,7)	3,0 (47,1)	0,0 (0,0)	4,4 (67,4)	34,4 (25,4)	2,3 (58,7)	82,2 (57,5)	86,3 (75,0)	5,0 (0,0)
DE (COM)	13,7 (32,7)	33,8 (32,0)	25,6 (48,6)	66,7 (0,1)	50,0 (0,1)	101,1 (23,3)	85,7 (21,8)	2,9 (54,7)	0,0 (0,0)	0,6 (196,5)	70,8 (20,1)	5,4 (19,4)	113,1 (27,5)	124,0 (17,7)	5,0 (0,0)
DK B (COM)	5,6 (28,3)	41,3 (38,6)	22,7 (32,9)	80,0 (0,0)	60,0 (0,0)	40,1 (16,8)	53,3 (21,7)	2,2 (46,1)	0,0 (0,0)	0,7 (215,4)	15,6 (35,9)	2,8 (22,1)	107,3 (13,3)	125,4 (9,3)	7,0 (0,0)

Tabella 10 – Caratterizzazione biomorfologica della foglia, del peziolo e del petalo

	FGAN	FGAT	FGCO	FGCU	FGFO	FGLA	FGLO	FGLU	FGMA	FGSE	FGAG	PEAL	PECO	PELA	PELU	COPE
IR (CL)	0,6 (89,87)	5,6 (16,8)	2,0 (0,0)	1,0 (0,0)	6,0 (0,0)	19,7 (98,3)	0,1 (254,20)	15,0 (35,4)	2,9 (49,2)	4,0 (25,9)	3,1 (15,5)	3,0 (0,0)	1,9 (37,9)	0,4 (23,0)	9,6 (50,4)	3,0 (0,0)
PT A (CL)	0,5 (108,30)	5,4 (19,8)	2,7 (26,8)	1,3 (76,2)	2,0 (0,0)	25,4 (19,4)	0,2 (198,96)	43,7 (23,8)	1,1 (134,5)	4,1 (34,4)	2,9 (7,8)	3,9 (58,2)	1,6 (82,6)	1,1 (57,5)	14,8 (61,6)	1,0 (0,0)
HRV (CL)	0,1 (424,26)	4,6 (18,8)	2,2 (19,3)	2,3 (41,6)	2,2 (19,3)	19,6 (29,6)	0,0 (0,0)	31,3 (36,5)	3,8 (56,1)	3,2 (20,1)	2,7 (28,8)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	2,4 (21,1)
ES (CL)	0,9 (43,10)	6,1 (19,8)	3,5 (27,0)	1,4 (58,6)	3,2 (43,7)	26,6 (19,1)	0,1 (307,79)	47,7 (28,5)	3,5 (35,8)	3,8 (26,5)	3,0 (20,5)	1,8 (144,7)	1,2 (154,4)	0,4 (147,1)	7,8 (144,0)	2,0 (45,9)
BE (CL)	0,3 (162,02)	6,1 (16,5)	2,0 (10,7)	1,0 (0,0)	3,2 (68,4)	13,8 (25,3)	0,0 (0,0)	23,4 (19,5)	1,8 (103,0)	4,7 (24,3)	3,5 (19,3)	3,1 (14,1)	1,3 (54,8)	0,6 (34,1)	11,2 (30,7)	2,8 (13,7)
IT (COM)	0,1 (282,29)	5,9 (17,3)	4,0 (0,0)	3,0 (0,0)	4,0 (0,0)	7,7 (33,5)	0,1 (282,29)	37,7 (27,0)	4,5 (19,3)	3,1 (15,6)	2,5 (38,2)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	2,9 (8,5)
TR B (CL)	0,9 (39,04)	5,0 (0,0)	3,2 (30,8)	1,0 (0,0)	2,3 (34,4)	22,6 (15,2)	0,0 (0,0)	37,8 (15,3)	1,9 (97,0)	3,4 (23,9)	2,8 (19,3)	4,3 (29,1)	3,6 (41,0)	1,0 (39,3)	20,9 (25,1)	2,5 (20,7)
TR A (CL)	0,8 (51,30)	6,0 (22,9)	3,1 (27,1)	1,0 (0,0)	3,7 (60,2)	25,8 (21,1)	0,1 (307,79)	42,3 (18,6)	4,1 (24,9)	3,2 (34,5)	2,8 (18,7)	5,2 (17,2)	3,0 (47,1)	1,3 (25,2)	18,9 (32,1)	2,6 (20,0)
DK A (COM)	0,1 (291,04)	5,9 (17,4)	2,2 (32,6)	7,0 (0,0)	3,6 (24,1)	11,6 (21,3)	1,0 (0,0)	21,1 (22,2)	7,0 (0,0)	7,0 (0,0)	2,9 (11,2)	3,1 (15,2)	1,6 (60,7)	0,9 (120,9)	10,3 (33,0)	2,7 (16,8)
BIH (CL)	0,3 (177,70)	4,6 (33,4)	2,3 (20,4)	1,1 (40,7)	1,9 (36,3)	23,8 (23,6)	0,0 (0,0)	32,1 (22,6)	3,2 (58,8)	5,0 (13,0)	2,8 (20,0)	1,4 (159,6)	0,4 (170,1)	0,3 (161,5)	2,4 (170,2)	2,2 (17,4)
FR (CL)	0,5 (114,89)	5,0 (35,8)	2,3 (20,6)	1,0 (22,2)	2,0 (0,0)	23,8 (21,6)	0,1 (331,66)	38,8 (22,6)	3,2 (57,6)	3,4 (52,0)	3,1 (22,7)	6,5 (14,5)	2,5 (61,4)	1,4 (26,8)	16,6 (39,2)	3,0 (3,0)
SE (COM)	1,0 (0,0)	6,0 (19,3)	4,3 (11,8)	4,5 (22,2)	3,8 (35,6)	5,9 (22,4)	1,0 (0,0)	9,4 (31,2)	7,0 (0,0)	6,0 (19,3)	3,0 (27,2)	3,0 (54,4)	4,8 (10,5)	0,6 (86,8)	4,4 (71,6)	3,0 (0,0)
PT B (CL)	0,3 (161,02)	5,8 (24,1)	2,0 (0,0)	1,0 (0,0)	3,0 (0,0)	37,3 (22,7)	0,0 (0,0)	50,8 (12,6)	0,6 (210,8)	3,8 (27,2)	3,4 (20,6)	1,4 (210,8)	0,4 (210,8)	0,4 (218,4)	3,6 (212,4)	2,4 (21,5)
GR A (CL)	0,1 (447,21)	3,5 (25,4)	2,1 (14,7)	1,0 (0,0)	2,2 (45,7)	21,4 (19,1)	0,0 (0,0)	26,9 (27,1)	2,2 (99,3)	4,0 (30,4)	2,5 (24,7)	1,4 (159,6)	0,4 (167,7)	0,5 (251,1)	3,2 (188,2)	2,3 (19,7)
GR B (CL)	0,4 (139,57)	3,2 (20,5)	2,1 (11,8)	1,0 (0,0)	1,0 (0,0)	21,1 (39,2)	0,0 (0,0)	23,0 (36,0)	1,8 (103,0)	3,6 (26,2)	1,3 (36,3)	3,1 (89,9)	1,4 (86,44)	0,6 (104,7)	4,8 (99,5)	2,5 (20,7)
IT A (CL)	0,6 (89,87)	5,6 (21,9)	3,0 (29,2)	2,6 (35,1)	2,6 (25,1)	17,9 (29,3)	0,9 (42,37)	41,4 (27,4)	3,4 (50,8)	3,3 (22,1)	2,6 (29,4)	0,4 (374,2)	0,3 (374,2)	0,0 (0,0)	0,4 (374,2)	2,8 (13,2)
IT B (CL)	0,1 (263,90)	4,9 (18,8)	2,3 (20,9)	1,1 (45,6)	2,3 (20,2)	19,1 (22,4)	0,1 (387,30)	31,6 (26,7)	1,0 (146,4)	4,6 (18,0)	2,7 (18,3)	2,9 (69,6)	1,4 (92,7)	0,7 (76,9)	10,3 (75,1)	2,7 (18,3)
IT C (CL)	0,3 (177,70)	5,1 (8,8)	3,3 (13,7)	1,0 (0,0)	2,1 (10,9)	21,7 (24,0)	0,0 (0,0)	33,3 (22,7)	1,4 (107,2)	4,3 (31,2)	2,7 (22,2)	4,9 (16,1)	2,1 (51,0)	1,1 (15,2)	16,2 (33,8)	3,0 (0,0)
UK (WT)	0,5 (110,66)	4,9 (18,8)	2,5 (20,9)	1,0 (0,0)	3,3 (63,9)	18,7 (25,5)	0,1 (263,90)	29,1 (41,1)	2,2 (62,4)	3,7 (26,6)	3,3 (14,0)	3,9 (53,0)	2,1 (67,1)	10,8 (355,1)	13,9 (62,2)	2,0 (0,0)
ES (WT)	0,6 (76,13)	5,0 (0,0)	3,6 (19,9)	1,0 (0,0)	2,9 (8,3)	26,1 (27,1)	0,0 (0,0)	28,4 (25,5)	2,3 (57,2)	3,1 (15,6)	2,9 (11,5)	5,4 (23,8)	3,2 (37,3)	1,4 (27,2)	10,3 (31,4)	2,7 (17,8)
FR (WT)	0,2 (223,61)	6,2 (17,7)	2,8 (39,1)	1,0 (0,0)	2,4 (37,3)	17,4 (16,1)	0,1 (263,61)	33,6 (14,4)	3,2 (64,0)	3,4 (26,3)	3,0 (0,0)	1,8 (91,3)	0,8 (104,6)	0,4 (91,3)	7,0 (92,6)	2,3 (24,7)
DE (COM)	0,6 (77,61)	6,6 (11,6)	2,2 (17,5)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	24,3 (19,0)	0,4 (114,66)	40,3 (25,5)	3,9 (25,9)	4,6 (22,3)	2,7 (18,7)	4,6 (17,1)	2,6 (57,3)	1,4 (79,0)	20,5 (17,9)	2,9 (14,2)
DK B (COM)	0,0 (0,0)	5,0 (0,0)	2,0 (0,0)	7,0 (0,0)	2,0 (0,0)	11,3 (23,6)	0,9 (40,60)	20,7 (34,4)	7,0 (0,0)	7,0 (0,0)	2,9 (15,6)	3,7 (38,5)	1,3 (46,3)	0,7 (42,9)	8,7 (35,6)	2,1 (37,0)

Tabella 11 - Parametri associati e relativi coefficienti di correlazione ($P=0,01$)

Parametro	Coefficiente di correlazione	Parametro	Coefficiente di correlazione
STDI vs STAL	0,587	PEAL vs PELU	0,861
ALDI vs STDI	-0,620	PEAL vs PELA	0,951
PEEM vs TREM	-0,542	PECO vs FGAN	0,706
PIAL vs STAL	0,890	PECO vs PELU	0,639
PIAL vs STDI	0,678	PECO vs PELA	0,697
PIDI vs PIAL	0,684	PECO vs PEAL	0,748
FGFO vs STDI	-0,643	PIRA vs FGLO	-0,557
FGLU vs STDI	0,618	PIHE vs TREM	-0,552
FGLU vs PIAL	0,746	PIHE vs FGAG	-0,645
FGLU vs PIDI	0,785	PIHE vs FGAT	-0,789
FGLA vs STDI	0,624	FGNU vs PIRA	0,845
FGLA vs PIAL	0,538	FGCI vs PIRA	0,777
FGLA vs PIDI	0,671	FGCI vs FGNU	0,833
FGLA vs FGLU	0,678	FGSE vs FGLU	-0,538
FGAT vs FGAG	0,594	FGSE vs FGCU	0,773
FGCU vs PIDI	-0,527	FGSE vs FGMA	0,616
FGCU vs FGLA	-0,643	FGSE vs FGLO	0,685
FGMA vs PIDI	-0,563	TRFI vs TREM	0,948
FGMA vs FGLA	-0,657	TRFI vs FGAT	0,598
FGMA vs FGCU	0,846	TRFI vs FGMA	0,590
FGLO vs FGLA	-0,570	TRFI vs PIHE	-0,659
FGLO vs FGCU	0,835	PEFI vs TREM	-0,656
FGLO vs FGMA	0,781	PEFI vs PEEM	0,954
PELU vs PIDI	0,539	PEFI vs TRFI	-0,563
PELA vs PELU	0,872		

Tabella 12 - Percentuale di varianza delle componenti principali individuate con l'analisi dei fattori

Componente	% di varianza	% cumulata
CP1	24,0	24,0
CP2	16,2	40,3
CP3	12,6	52,9
CP4	11,7	64,6
CP5	9,6	74,3
CP6	7,0	81,3
CP7	5,9	87,3
CP8	3,8	91,0
CP9	3,1	94,1
CP10	2,6	96,6
CP11	1,6	98,2
CP12	1,1	99,2
CP13	0,8	100,0

Tabella 13 - Coefficiente di correlazione dei singoli parametri con la componente principale

Parametri	Componenti				
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
STAL	-0,500	0,220	0,244	6,201E-02	0,586
ALDI	0,577	-0,229	-0,190	0,186	0,390
TREM	0,560	-9,723E-03	0,551	-0,454	0,108
FGLU	-0,393	0,710	0,175	0,287	0,300
FGFO	0,674	-0,265	3,701E-02	0,348	0,199
FGAT	0,658	0,317	0,278	0,130	0,464
FGMA	0,694	-8,078E-03	-0,199	-0,566	5,787E-02
PELA	8,058E-03	0,198	0,774	-0,106	-0,436
FGAN	0,446	0,443	0,297	0,394	-0,302
PIRA	-0,195	-0,625	0,139	0,576	-3,971E-02
PIFO	-0,195	-0,616	0,557	5,310E-02	0,126
FGCO	0,524	0,413	-0,247	0,448	-0,292
COPE	0,388	-0,400	0,125	0,196	-0,120
% VARIANZA	24,0	16,2	12,6	11,7	9,6

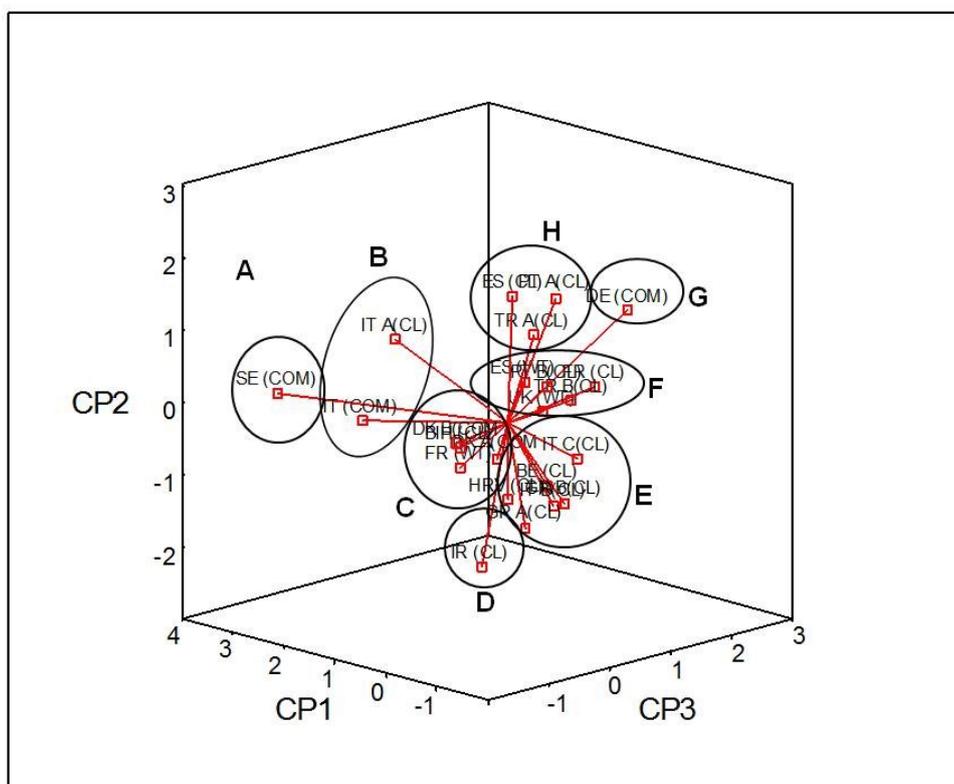


Figura 20 – Distribuzione dei materiali studiati nello spazio descritto dalle prime tre componenti principali

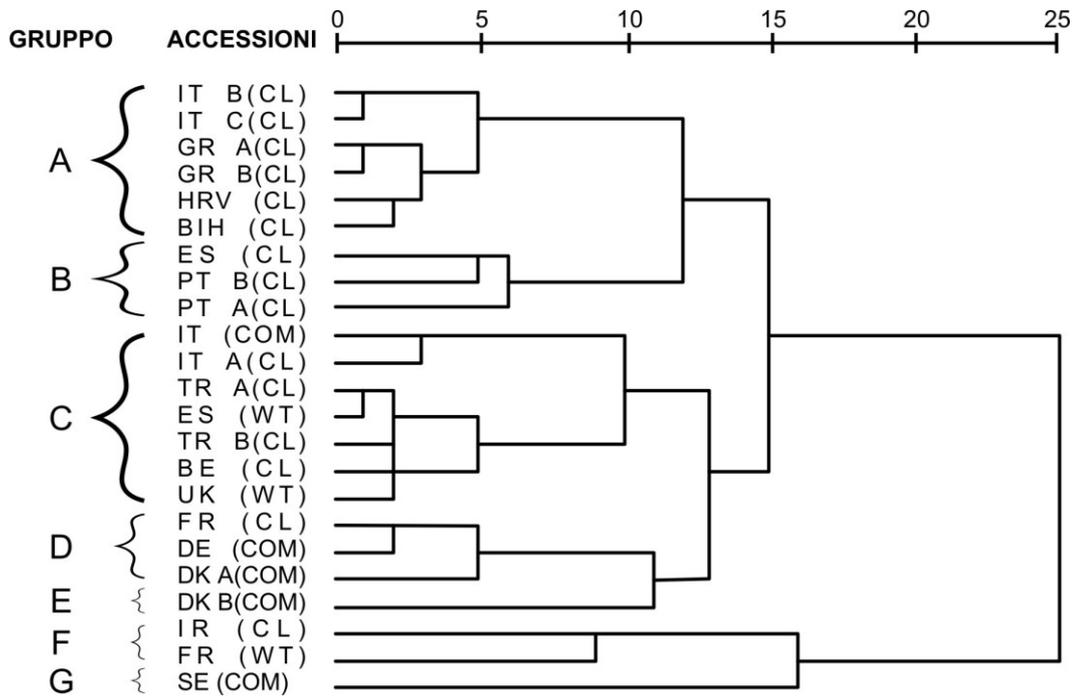


Figura 21 – Classificazione a grappolo dei materiali analizzati

2.2.2. Analisi della diversità bio-morfologica e nutraceutica delle principali tipologie di cavolo da foglia diffuse nelle aree di maggiore diffusione della coltura in Europa

2.2.2. Presentazione della problematica

La penisola iberica e quella italiana sono le aree geografiche europee dove il cavolo da foglia trova maggiore diffusione in coltura soprattutto negli orti familiari e suburbani. Ciò è la diretta conseguenza del tradizionale utilizzo di questo ortaggio in diverse regioni del Portogallo, della Spagna e dell'Italia dove il prodotto è ancora utilizzato nella preparazione di piatti tipici. La valorizzazione di tale coltura negletta, come abbiamo avuto modo di dire precedentemente, è sostenuta dall'importanza che le *Brassicaceae* da orto stanno assumendo in virtù della loro valenza nutraceutica e della rusticità delle stesse colture per le quali sono spesso adottati protocolli colturali basati su metodi biologici.

Il prodotto, inoltre, trova la possibilità di maggiore diffusione grazie al miglioramento delle caratteristiche dello stesso durante la fase di post-raccolta grazie alla disponibilità delle moderne tecnologie di trasformazione, quali la IV gamma. Le colture che forniscono prodotti rappresentati da organi vegetativi, come abbiamo detto, sono quelle che meglio si prestano ad essere valorizzate in quarta gamma dato che questa tecnologia consente di limitare le perdite d'acqua e di conseguenza il rapido avvizzimento delle foglie.

Sulla base di tale premesse e dell'ampia diversità di tipi di cavolo da foglia coltivati in Europa è apparso opportuno analizzare più in dettaglio la variabilità dei principali descrittori bio-morfologici e nutraceutici di un maggior numero di tipi di cavolo da foglia che sono diffusi in tali Paesi dove ciascuna area territoriale esprime spesso diverse tipologie poste in coltura. E' il caso, ad esempi del nostro Paese, dove nelle regioni centro-settentrionali italiane sono diffuse diverse tipologie di cavolo nero di Toscana, inserito anche nei cataloghi di diverse ditte sementiere nazionali ed estere, mentre nelle regioni meridionali sono diffusi una moltitudine di tipi, rappresentate soprattutto da selezioni aziendali che presentano tratti morfologici differenziati. Tale diversità è evidente in Sicilia dove viene denominato con il termine *cavulu vecchiu* nei comuni del massiccio etneo,

cavulu forte nelle aree collinari e montane della Sicilia centro-settentrionale, e più comunemente *cuvulu* negli altri territori.

La pianta si distingue da quelle delle altre colture afferenti a *B. oleracea* dal ciclo biologico perenne mentre per le altre questo carattere è stato perso nel corso del processo di domesticazione essendo tutte caratterizzate da un ciclo biologico annuale. Aspetto singolare che si osserva in Sicilia è la similitudine tra le cultivar di cavolo da foglia ed alcune di cavolo broccolo essendo spesso presenti tipi con caratteristiche intermedie tra le due colture e ciò fa supporre lo stretto legame filogenetico tra esse. In alcuni casi si assiste alla presenza di cultivar locali di broccolo per le quali si utilizzano sia le foglie che i germogli in accrescimento oltre che le infiorescenze che non presentano i tratti di veri e propri corimbi. E' il caso del *brocculu niuru* del versante occidentale dell'Etna, della *Scamuzzatura* dell'altopiano degli Iblei e delle aree collinari e montane dei Nebrodi, e dello *Sparaceddu* del Palermitano. Tale ipotesi è, peraltro, sostenuta dalla presenza in questi territori di specie spontanee di *Brassica* (n=9) che alimentano un continuo flusso genico tra questi ultimi e le cultivar locali di *B. oleracea* che hanno generato e continuano a generare una pluralità di combinazioni geniche che sono oggetto di studio oltre che da parte del DISPA di diversi gruppi di ricerca esteri.

Tale diversità è stata oggetto di attenzione da parte del BWG che ha avviato specifiche iniziative tese alla raccolta, catalogazione, conservazione, rigenerazione e valutazione, che rientrano nel programma operativo dell'ECPGR fin dalla sua costituzione.

La sezione di OrtoFloricoltura del DISPA alla quale è affidato pro-tempore il coordinamento del BWG già da alcuni decenni ha avviato specifiche attività di raccolta nei diversi territori siciliani individuando diverse tipologie di cultivar di colture afferenti a *B. oleracea*, principalmente di cavolfiore, cavolo broccolo e cavolo da foglia. Al momento la collezione di accessioni di *B. oleracea* conservate presso la sezione è rappresentata da oltre cinquecento accessioni delle quali circa il 60% di cultivar locali individuate prevalentemente in orti familiari e/ suburbani dell'Isola.

Obiettivo specifico della presente linea di ricerca è stato quello di caratterizzare le accessioni di cavolo da foglia provenienti da Italia, Portogallo e

Spagna per tratti morfo-biologici e nutraceutici al fine di individuare genotipi di interesse da utilizzare in futuri programmi di miglioramento genetico della coltura.

2.2.2.2. Materiali e metodi

Dopo aver osservato e caratterizzato bio-morfologicamente la *core collection* di tipologie di cavolo da foglia diffuse in coltura in Europa, l'attenzione è stata posta sulla diversità bio-morfologica e nutraceutica delle principali tipologie di tale coltura diffuse nelle aree di maggiore diffusione in Europa. In particolare sono state oggetto di studio 35 accessioni di cavolo da foglia appartenenti alla collezione del DISPA (Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari) provenienti da 4 Paesi Europei, ed in particolare sono presenti un'accessione proveniente dalla Francia, ventitre dall'Italia, dieci dal Portogallo ed una dalla Spagna, esse rappresentano 30 cultivar locali e 5 cultivar commerciali (tab. 14)

I lotti di seme delle accessioni allo studio sono stati utilizzati per effettuare la semina in contenitori nel gennaio 2010 e le piantine ottenute sono state trapiantate nella prima decade di marzo presso l'ASA. Le piante sono state disposte alla distanza di 1,0 m tra le file e 0,5 m sulla fila realizzando la densità colturale di 2 piante m⁻². Lo schema sperimentale è stato quello a blocchi randomizzati con tre ripetizioni di dieci piante ciascuna. Per tutta la durata del ciclo vegetativo le piante di cavolo da foglia sono state allevate adottando le pratiche agronomiche comunemente utilizzate per il cavolo broccolo. Dopo circa sette mesi dal trapianto ciascuna pianta posta in coltura è stata caratterizzata sulla base dei principali descrittori biomorfologici IBPGR (*International Board for Plant Genetic Resources*) e UPOV (*Union internationale pour la Protection des Obtentions Végétales*) al fine di distinguere le diverse accessioni.

I parametri rilevati sulla pianta, sulla foglia e sul peziolo sono stati gli stessi utilizzati per caratterizzare le piante della collezione europea di cavolo da foglia, caratteri questi che sono stati precedentemente illustrati (tab. 8; figg. 18,19), a tale elenco sono da escludere la percentuale delle piante indotte a fiore e la percentuale di piante giunte a fioritura poiché non è stato reputato necessario il loro calcolo matematico in quanto tutte le piante sono state indotte a fiore e sono poi giunte alla fioritura.

I dati registrati per ciascun carattere allo studio sono stati utilizzati per calcolare la media, la deviazione standard ed il coefficiente di variabilità, al fine di

valutare il livello di uniformità riscontrato per ciascun descrittore. Le medie di ciascun descrittore sono state utilizzate per predisporre una matrice numerica e per individuare le correlazioni che intercorrono tra di essi.

La matrice così ottenuta è stata utilizzata per eseguire l'analisi dei fattori in modo da poter definire il contributo di ciascun carattere nel determinare la variabilità totale. Sono state così individuate le componenti principali necessarie per distribuire i tipi allo studio su un sistema di assi cartesiani prendendo in considerazione le componenti principali più rappresentative della varianza.

La *hierarchical cluster analysis* (Chatfield e Collins, 1980) è stata eseguita con il metodo del *complete linkage furthest neighbour* (Massie *et al.*, 1996), utilizzando come unità di misura il quadrato della distanza euclidea; le medie dei parametri rilevati sono state preventivamente standardizzate mediante deviazione standard.

Sono state prelevate delle foglie da diverse piante della stessa accessione che sono state congelate a -80°C e successivamente liofilizzate. Campioni di prodotto liofilizzato sono stati utilizzati per determinare il contenuto e la quantità relativa di composti glucosinolati totali (GLST) (ISO 9167-1, 1992) costituiti da glucoiberina (GIB), progoitrina (PRO), glucorafanina (GRA), sinigrina (SIN), gluconapina (GNA), glucobrassicina (GBS), neo-gluco Brassicina (NGBS), Gluconasturtina (GST) ed altri glucosinolati (ALTRI) (tab. 15). E' stato determinato il contenuto di vitamina C (VITA) (Tillmans, 1932), di polifenoli totali (POLI) (Singleton e Rossi, 1965), di antocianine (ANTO) (Swain *et al.*, 1959) e di β -carotene (CARO) (Mayfield *et al.*, 1986) (tab. 15).

La determinazione dei glucosinolati è stata realizzata utilizzando circa 0,4 g di campione liofilizzato immerso in 5 ml di etanolo al 70% ad una temperatura $>70^{\circ}\text{C}$, il campione è stato omogeneizzato e successivamente posto a bagnomaria per 5 minuti, con un'altra provetta priva di campione ma piena di etanolo al 70% sono state eliminate le tracce di campione liofilizzato rimasto nell'omogeneizzatore. Il passaggio successivo è stato quello di porre le provette con il campione e l'etanolo in centrifuga per 4000 gpm per 15 minuti e successivamente è stato raccolto il surnatante che è stato collocato in una terza provetta, il contenuto della provetta utilizzata per raccogliere il campione liofilizzato rimasto nell'omogeneizzatore è stato versato nella prima provetta

contenente oramai il solo pellet e nuovamente centrifugato a 4000 gpm per 15 minuti. Ottenuto l'estratto è stata effettuata una desulfatazione mediante resina DEAE-Sephadex A-25 condizionata a pH 5,6 con buffer acetato 25 mM. La colonnina di estrazione è stata anch'essa condizionata a pH 5,6 mediante 3 lavaggi da 1 ml con buffer acetato 25 mM, successivamente sono stati aggiunti 2 ml dell'estratto del campione e, dopo aver lavato nuovamente con buffer acetato le colonnine, sono stati aggiunti 200 ml di *Helipox pomatia* sulfatase che è rimasta ad agire per 16 ore trascorse le quali è stata aggiunta alle colonnine acqua deionizzata così da ottenere gli eluati da iniettare in HPLC Agilent Technologies series 1200. L'analisi cromatografica è stata eseguita utilizzando una colonna Lichrospher 100 RP-18, 5 µm, 250x4 mm, i gradienti di eluizione utilizzati sono stati A (Acqua) e B (Acetonitrile), il flusso è stato di 1000 ml/min ed il programma di eluizione è stato 0 minuti 1% B, 1 minuti 1% B, 22 minuti 22% B e 25 minuti 1% B. La quantità dei glucosinolati individuati è stata espressa in µM/g di campione liofilizzato.

La determinazione della vitamina C è stata realizzata miscelando 100 mg di campione liofilizzato con 10 ml di acido metafosforico al 6%, tale miscela è stata posta in agitatore con un'ancoretta magnetica. Successivamente è stato prelevato 1 ml della miscela campione-estraente ed è stato aggiunto in un becker contenente acqua distillata il tutto seguito da una titolazione con 2,6-diclorofenolindofenolo allo 0,04%, il viraggio è avvenuto quando la soluzione è diventata rosa ed è stata persistente per almeno 15 secondi. In un secondo becker contenente sempre acqua distillata sono stati aggiunti 2 ml della miscela campione-estraente che è stata anch'essa titolata. Infine in un terzo becker contenente sempre acqua distillata sono stati aggiunti 3 ml della miscela campione-estraente e titolati. Infine è stata eseguita un'ultima titolazione alla miscela campione-estraente rimasta addizionata a 10 ml di acqua distillata. Durante tutte le titolazioni è stata registrata la quantità di ml di 2,6-diclorofenolindofenolo utilizzata per eseguire le diverse titolazioni. La quantità di vitamina C è stata espressa in mg/g di campione liofilizzato.

La determinazione dei polifenoli totali è stata effettuata su 0,2 g di campione liofilizzato omogeneizzato con 4 ml di etanolo all'80% a temperatura ambiente e centrifugato a 4000 gpm per 15 minuti. Il surnatante è stato raccolto e

conservato, mentre il pellet è stato nuovamente estratto con altri 4 ml di etanolo all'80% e centrifugato per altri 15 minuti a 4000 gpm. I due supernatanti sono stati uniti e portati a volume di 10 ml con etanolo all'80%. Successivamente è stato prelevato 1 ml di estratto che è stato unito a 3 ml di acqua, 0,5 ml di reattivo di Folin-Ciocalteu e 2 ml di sodio carbonato al 20%. Il tutto è stato agitato e posto a riposare per almeno due ore. Quando il liquido è apparso di colore blu è stata prelevata un'aliquota ed è stata misurata allo spettrofotometro Shimadzu a 650 nm. La quantità di polifenoli totali è stata espressa in mg/g di campione liofilizzato.

La determinazione delle antocianine è stata ottenuta miscelando 0,5 g di campione liofilizzato con 3 ml di una soluzione di metanolo ed acido cloridrico al 32% , successivamente centrifugato a 4000 gpm per 5 minuti, il surnatante ottenuto è stato conservato ed il pellet è stato nuovamente estratto per altre due volte con altri 3 ml della soluzione sopra menzionata e nuovamente centrifugato, le frazioni di estratto vegetale ottenute sono state riunite e filtrate su lana di vetro e portate a volume di 10 ml con la stessa soluzione di prima a concentrazione nota. In una provetta ad 1 ml di surnatante sono stati aggiunti 10 ml di una soluzione composta da metanolo ed acido cloridrico 3N, mentre in un'altra provetta ad 1 ml di surnatante sono stati aggiunti 10 ml di una soluzione composta da acqua ossigenata al 32% e la miscela di metanolo ed acido cloridrico 3N. Le provette sono state poste a riposo per almeno 2 ore e successivamente è stata effettuata la lettura dei campioni ponendo l'estratto in cuvette e leggendo l'assorbanza a 528 nm mediante lo spettrofotometro Shimadzu. La quantità è stata espressa in mg/g di campione liofilizzato.

La determinazione del β -carotene è stata realizzata estraendo 0,5 g di liofilizzato con 5 ml di acetone e posto a riposo per un paio d'ore. Successivamente la miscela conseguita è stata centrifugata per 10 minuti a 4000 gpm ed il supernatante ottenuto è stato diluito in egual volume con acqua distillata. Effettuata la diluizione, è stata letta l'assorbanza a 445 nm mediante lo spettrofotometro Shimadzu e calcolata la quantità. La quantità è stata espressa in mg/g di campione liofilizzato.

Anche per questi caratteri è stata predisposta una matrice numerica utilizzata per eseguire l'analisi dei fattori in modo da poter definire il contributo di

ciascun carattere nel determinare la variabilità totale. Sono state così individuate le componenti principali necessarie per distribuire i tipi allo studio su un sistema di assi cartesiani prendendo in considerazione le componenti principali più rappresentative della varianza..

E' stata anche eseguita la *hierarchical cluster analysis* (Chatfield e Collins, 1980) con il metodo del *complete linkage furthest neighbour* (Massie *et al.*, 1996), utilizzando come unità di misura il quadrato della distanza euclidea; le medie dei parametri rilevati sono state preventivamente standardizzate mediante deviazione standard.

2.2.2.3. Risultati e discussioni

Lo studio delle caratteristiche bio-morfologiche delle cultivar locali di cavolo da foglia provenienti dalla penisola iberica e da quella italiana conservate presso il DISPA hanno fatto accertare una elevata variabilità soprattutto per la predisposizione a formare il cespo (PIHE), presenza di antocianine (FGAN), rapporto tra dimensione longitudinale e trasversale del fusto (ALDI), forma della pianta (PIFO), lobatura della foglia (FGLO), dimensione longitudinale del peziolo (PELU), dimensione trasversale del peziolo espressa in centimetri (PELA) e con i valori dei caratteri IBPGRI (PEAL), colore del peziolo (PECO) e colorazione del petalo (COPE) nell'ordine, per le quali sono stati registrati valori del coefficiente di variabilità superiori al 50% (tabb. 16,17,18). Alcune accessioni allo studio hanno fatto osservare per diversi caratteri una variabilità elevata determinata essenzialmente dalla modalità di propagazione della cultivar attuata spesso con metodi empirici dagli stessi coltivatori. Nel complesso le accessioni che sono apparse più eterogenee sono state BH 17, BH 45, BH 46, BH 51 e BH 52 per quanto riguarda le accessioni italiane, e BH 27, BH 41 e BH 42 per quanto riguarda le accessioni portoghesi (tab. 14). Con riferimento ai descrittori presi in considerazione quelli che sono apparsi più variabili nell'ambito delle singole accessioni allo studio sono stati PIHE, TREM, TRFI,FGLO, FGMA, PEAL, PECO, PELA, PELU (tabb. 8,16,17,18).

La valutazione delle accessioni allo studio di cavolo da foglia per il contenuto in polifenoli totali, antocianine, β -carotene, e vitamina C, ha fatto rilevare una ampia variabilità soprattutto per il contenuto in antocianine, che sono variate da 0,1 a 0,7, rispettivamente per i tipi siciliani BH 2, BH 48, BH 49, i tipi portoghesi BH 22, BH 33, BH 35, la cultivar commerciale francese BH 36, e la cultivar commerciale portoghese BH 41, mentre il valore più alto è stato riscontrato per il tipo siciliano BH 51, ed in β -carotene, che ha oscillato da 0,3 a 1,3, rispettivamente per il tipo BH 48 mentre il valore maggiore è stato osservato per i tipi siciliani BH 1, BH 10, BH 14, BH 18, BH 30, BH 43, BH 45, BH 51 e BH 53, per la cultivar commerciale portoghese BH 5 e per la cultivar locale portoghese BH 22 (tab. 19). Variazioni modeste sono state accertate per il contenuto di polifenoli totali, compreso tra 16,5 e 31,1, rispettivamente per il tipo

portoghese BH 22 e quello siciliano BH 1, e per la vitamina C, variata da 6,0 a 13,4, rispettivamente per la cultivar commerciale italiana Cavolo nero di Toscana ed il tipo siciliano BH 10 (tab. 19).

Le analisi dei glucosinolati presenti nelle foglie delle accessioni del DISPA allo studio oltre a fare accertare la quantità complessiva dei composti glucosinolati ha fatto rilevare complessivamente la presenza di otto composti principali, quali la glucoiberina, la progoitrina, la glucorafanina, la sinigrina, la gluconapina, la glucobrassicina, la neoglucobrassicina, e la gluconasturtina oltre la presenza di altri composti rilevati in tracce (tab. 20). Nel complesso la quantità complessiva dei composti glucosinolati è variata da 5,4 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$, registrato per il tipo siciliano BH 50, a 53,8 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$ per il tipo siciliano BH 20 (tab. 20). Con riferimento ai singoli composti, i più variabili, in rapporto ai tipi di cavolo da foglia allo studio, sono apparsi la gluconapina, che ha oscillato tra 0 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$ e 1,5 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$, e la progoitrina, che ha oscillato tra 0 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$ e 2,5 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$, ed in entrambi i casi i valori più elevati sono stati accertati per il tipo siciliano BH 10 (tab. 19). Per quanto riguarda i glucosinolati contraddistinti che svolgono funzioni salutistiche, la glucorafanina è variata da 0 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$ a 3,8 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$, quest'ultimo valore rilevato per il tipo siciliano BH 48, la glucobrassicina da 0,3 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$ a 22,2 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$, rilevati rispettivamente per il tipo siciliano BH 2 e la cultivar commerciale francese BH 36, mentre la sinigrina è variata da 0 a 1,6, quest'ultimo valore rilevato per la cultivar commerciale portoghese BH 27, infine la gluconasturtina è variata da 0 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$ a 1,9 $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$, quest'ultimo valore rilevato per la cultivar commerciale portoghese BH 35 (tab. 20).

I dati acquisiti per i vari descrittori studiati hanno permesso di evidenziare diverse correlazioni tra diversi parametri rilevati (tabb. 8,21). In particolare tutti i descrittori sono apparsi correlati significativamente tra loro tranne presenza di antocianine, forma della lamina fogliare, portamento della lamina fogliare, arricciamento della foglia e sezione della foglia che sono apparsi indipendenti tra loro (tabb. 8,21). Tra i descrittori correlati quelli che sono stati scelti per rappresentarli nelle successive elaborazioni volte alla classificazione delle tipologie di cavolo da foglia provenienti dalla penisola iberica e italiana sono stati forma della pianta, rapporto tra dimensione longitudinale e trasversale del fusto, durata dell'intervallo trapianto-emergenza, numero di cicatrici fogliari presenti,

dimensione longitudinale della foglia, ondulazione della foglia, dimensione longitudinale del peziolo, e dimensione trasversale della pianta (tabb. 8,21).

L'analisi dei fattori ha fatto rilevare otto componenti principali, le prime tre delle quali esprimono il 64,4% della varianza registrata per i descrittori osservati (tab. 22). La prima componente principale (CP1) è correlata positivamente nell'ordine con PIDI e PELU e negativamente con PIFO e TREM, ed esprime il 24,8% della varianza, la seconda componente principale (CP2) è correlata positivamente con FGLU e negativamente con FGMA, ed esprime il 20,6% della varianza, mentre la terza componente principale (CP3) è correlata positivamente con FGCI e negativamente con ALDI, ed esprime il 19,0% della varianza (tabb. 8,22,23). La distribuzione delle accessioni di cavolo da foglia conservate presso il DISPA evidenzia 10 gruppi (fig. 22). Il gruppo A, rappresentato solo da BH 41 (PT), si distingue per valori modesti di ALDI, PIFO, FGFO e FGMA, il gruppo B, formato solo da BH 33 (PT), si contraddistingue per valori modesti rilevati per ALDI, TREM, FGAN, FGMA, e PELU, e valori elevati per PIFO, FGFO e FGCI, il gruppo C, rappresentato dalle accessioni italiane BH 48, BH 49 e BH 47 e da quelle portoghesi BH 35 e BH 42, si distinguono per i modesti valori rilevati di ALDI, TREM e PELU, il gruppo D, rappresentato dalle accessioni italiane BH 14, BH 17, BH 47 e BH 52, e dall'accessione portoghese BH 40, si distinguono per i modesti valori rilevati per ALDI, PIDI, e FGLU e positivi per FGCI, il gruppo E, rappresentato dalle accessioni italiane BH 43, BH 44, BH 45, e BH 50, e da quella portoghese BH 27, contraddistinto da valori modesti registrati per TREM e PELU ed elevati per PIDI, il gruppo F, costituito dalle accessioni italiane BH 10 e BH 12, contraddistinti per modesti valori di FGMA, il gruppo G, rappresentato dalla sola accessione italiana BH 5, è contraddistinto da valori elevati di PIDI, FGMA e FGCI, e da valori modesti di ALDI e TREM, il gruppo H, rappresentato da BH 30, BH 2 e BH 16, è contraddistinto per modesti valori di TREM e FGCI, il gruppo I, rappresentato dai tipi siciliani BH 15, BH 3, BH 46, BH 53, BH 20 e BH 3 e dai tipi portoghesi BH 22, BH 25 e BH 5, è contraddistinto da valori elevati di PIDI, PIFO e FGLU e da valori modesti di TREM e FGCI, ed infine il gruppo L, costituito dalla accessione spagnola BH 4, da quella portoghese BH 21 e da quella francese BH 36, ha fatto registrare valori elevati per PIDI e FGLU e modesto per FGCI (fig. 22; tabb. 8,14).

La matrice dei dati medi elaborati per ciascuna accessione e per ciascun carattere descrittore allo studio ha permesso di classificare con l'analisi a grappolo le cultivar locali italiane ed iberiche in otto gruppi sulla base dei descrittori scelti tra quegli associati e individuali; per i primi sono stati scelti ALDI, TREM, FGLU, FGMA, PIFO, PELU, PIDI ed FGCI, mentre quelli individuali sono rappresentati da FGAN, FGFO, FGAT, FGCU e FGSE (tabb. 8,21). Anche se non sempre possono essere attribuite ai singoli gruppi differenze univoche con gli altri possiamo osservare che le cultivar locali portoghesi sono prevalentemente distribuite nei gruppi B, C, ed F, anche se alcuni tipi portoghesi sono presenti anche nei gruppi A ed E, ampiamente rappresentati da accessioni di origine italiana (fig. 23; tab. 14).

L'analisi a grappolo classifica le accessioni in due ramificazioni di primo ordine, delle quali la prima è rappresentata dai gruppi A, B, C, D, E, F e G mentre la seconda dal gruppo H; quest'ultimo si differenzia rispetto agli altri gruppi dall'altra ramificazione di primo ordine per gli elevati valori registrati per ALDI (fig. 23; tabb. 8,14). La prima ramificazione di secondo ordine suddivide i gruppi A, B, C e D, dai gruppi E, F e G per i valori più modesti di FGMA osservati per gli ultimi tre gruppi (fig. 23; tabb. 8,14).

Nell'ambito della prima ramificazione di terzo ordine i gruppi A e B si differenziano da C e D, per i valori minori di FGLU e FGCI. Il gruppo A, costituito dalla cultivar portoghese BH 40, dalla cultivar commerciale italiana BH 17, dal tipo calabrese BH 52 e da quello siciliano BH 14, si differenzia dal gruppo B, rappresentato dalla cultivar portoghese BH 27, per valori più modesti osservati per ALDI e PIDI, e per quelli più elevati registrati per PIFO, FGLU, FGMA e FGCI, mentre il gruppo C, costituito dalle cultivar portoghesi BH 35, BH 42 e BH 33, si distingue dal gruppo D, rappresentato solamente dalla cultivar italiana BH 47, per il maggiore valore di FGLU e per un minore valore di TREM e PELU (fig. 23; tabb. 8,14). Infine, il gruppo E, rappresentato dalle cultivar italiane BH 2, BH 16, BH 30, BH 12, BH 51, BH 18, BH 43, BH 45, BH 48, BH 49, BH 44, BH 50, BH 3, BH 46, BH 53, BH 15 e BH 20, e da quelle portoghesi BH 25 e BH 5, si distingue dai gruppi F e G, per i valori più elevati osservati per FGMA (fig. 23; tabb. 8,14). Infine, il gruppo F, rappresentato dalle cultivar iberiche BH 4, BH 21, BH 22 e BH 41, si differenzia dal gruppo G, rappresentato solo dalla cultivar

commerciale francese BH 36 per modesti valori osservati per TREM, PIDI, FGMA e PELU (fig. 23; tabb. 8,14).

I dati rilevati per il contenuto in antocianine, di β -carotene, polifenoli totali e vitamina C hanno permesso di evidenziare solo una correlazione positiva tra antocianine e β -carotene (tabb. 15,24). I descrittori scelti per l'analisi fattoriale sono stati quelli indipendenti rappresentati dal contenuto in polifenoli totali ed in vitamina C e tra quelli non correlati il contenuto in β -carotene (tabb. 15,24).

L'analisi dei fattori ha fatto rilevare tre componenti principali, le prime due esprimono l'81,9% della varianza registrata (tab. 25). La prima componente principale (CP1) è correlata positivamente nell'ordine con il contenuto in polifenoli totali ed in vitamina C, ed esprime il 47,1% della varianza, la seconda componente principale (CP2) è correlata positivamente con il contenuto in polifenoli totali, ed esprime il 34,8% della varianza (tabb. 15,25,26). La distribuzione delle accessioni di cavolo da foglia conservate presso il DISPA per il contenuto dei suddetti antiossidanti ottenuta dall'analisi dei fattori, permette di distribuirle, sul piano cartesiano delimitato dalle prime due componenti principali, in sei gruppi (fig. 24; tab. 14). Il gruppo A, costituito dalla cultivar commerciale italiana BH 17 Cavolo nero di Toscana e dai tipi siciliani BH 12, BH 48 e BH 49, e dai tipi portoghesi BH 40, BH 41, si differenzia per un modesto contenuto in β -carotene, vitamina C ed elevati contenuti di polifenoli totali, il gruppo B, rappresentato da tre accessioni portoghesi BH 21, BH 33, BH 35, una spagnola BH 4, una francese BH 36 e cinque italiane BH 1, BH 2, BH 15, BH 20 e BH 53 è contraddistinto da un elevato contenuto in polifenoli totali e medio di β -carotene e vitamina C, il gruppo C, rappresentato dalle accessioni italiane BH 10 e BH 14, è contraddistinto da elevati contenuti di β -carotene e vitamina C, il gruppo D, costituito dalle cultivar italiane BH 16 e BH 18, e dalle cultivar portoghesi BH 5 e BH 22, è caratterizzato da modesti valori di polifenoli totali e medi di β -carotene e vitamina C, il gruppo E, costituito dalla cultivar calabrese BH 52 e da quella siciliana BH 46, presenta modesti contenuti di β -carotene, vitamina C e polifenoli totali, ed infine il gruppo F, rappresentato dalle restanti cultivar è contraddistinto da valori medi per i suddetti antiossidanti analizzati (fig. 24; tab. 14).

L'analisi a grappoli delle accessioni del DISPA sulla base del contenuto in polifenoli totali, β -carotene e vitamina C, ha permesso di raggrupparle in cinque

gruppi (fig. 25; tab. 14). La ramificazione di primo ordine suddivide i gruppi A e B da C, D ed E per un modesto contenuto in vitamina C osservata per questi ultimi, il gruppo A dal gruppo B per un minore contenuto in vitamina C, il gruppo C dai gruppi D ed E, per un maggiore contenuto in β -carotene, ed il gruppo D dal gruppo E, per un minore contenuto in β -carotene (fig. 25; tab. 14).

I dati acquisiti per gli otto composti glucosinolati individuati nelle foglie degli individui allo studio ha consentito di evidenziare diverse correlazioni tra essi mentre solo il contenuto in glucorafanina risulta essere indipendente non essendo correlato con gli altri (tab. 15,27). Tra i composti glucosinolati correlati quelli scelti per le successive elaborazioni volte alla classificazione delle tipologie di cavolo da foglia provenienti dalla penisola iberica e italiana sono stati sinigrina, progoitrina, glucobrassicina e neoglucobrassicina (tab. 15,27).

L'analisi dei fattori ha fatto rilevare cinque componenti principali, le prime due delle quali esprimono il 64,3% della varianza registrata per i composti glucosinolati rilevati (tab. 28). La prima componente principale (CP1) è correlata positivamente nell'ordine con GBS e NGBS, e negativamente con PRO e GRA, ed esprime il 35,1% della varianza, la seconda componente principale (CP2) è correlata negativamente con SIN, ed esprime il 29,2% della varianza (tabb. 15,28,29). La distribuzione delle accessioni di cavolo da foglia conservate presso il DISPA sul piano cartesiano descritto dalle prime due componenti principali suddivide le accessioni allo studio in otto gruppi (fig. 25; tab. 14). Il gruppo A, rappresentato solo dalla cultivar siciliana BH 48, si differenzia dagli altri per l'assenza di sinigrina, l'elevato contenuto di glucorafanina e progoitrina, e la modesta presenza di glucobrassicina, il gruppo B, che raggruppa le accessioni siciliane italiana BH 10 e BH 51, si caratterizza per l'assenza di sinigrina ed il modesto contenuto in glucobrassicina, il gruppo C che raggruppa la maggior parte delle accessioni allo studio si contraddistingue per l'assenza di sinigrina e la presenza media degli altri composti glucosinolati, il gruppo D, rappresentato dalle cultivar siciliane BH 15 e BH 44, per l'assenza di progoitrina, sinigrina e glucorafanina, e per l'elevato contenuto di neoglucobrassicina, il gruppo E, rappresentato dalle cultivar siciliane BH 1 e BH 3, dalla cultivar portoghese BH 25 e dalla cultivar francese commerciale BH 36, si contraddistingue per l'assenza di progoitrina, glucorafanina e sinigrina, mentre presenta elevati livelli di neo-

glucobrassicina, il gruppo F, rappresentato solamente dalla cultivar siciliana BH 20, si contraddistingue per l'assenza di progoitrina, sinigrina e glucorafanina, ed un elevato contenuto di glucobrassicina, il gruppo G, rappresentato dalla sola accessione portoghese BH 35, presenta l'assenza di glucorafanina, modesti contenuti di progoitrina, ed elevati di glucobrassicina, ed infine il gruppo H, rappresentato dalle accessioni portoghesi BH 5, BH 27, BH 33, BH 40, BH 42, BH 52, e da quella italiana BH 14, si differenzia per l'assenza di progoitrina, modesti valori glucobrassicina e neoglucobrassicina e valori medi di sinigrina e glucorafanina (fig. 26; tab. 14).

L'analisi a grappoli delle accessioni del DISPA sulla base del contenuto di glucosinolati, ha permesso di raggruppare le accessioni in sei gruppi (fig. 27; tab. 14). La ramificazione di primo ordine suddivide i gruppi A, B, C, e D da E ed F per un maggiore contenuto in progoitrina presente in questi ultimi, a loro volta i gruppi E ed F si distinguono per un elevato contenuto di glucorafanina presente nell'ultimo gruppo (fig. 27; tab. 14). La ramificazione di secondo ordine suddivide i gruppi A e B dai gruppi C e D per un minore contenuto medio di glucorafanina e neo-glucobrassicina. Nella ramificazione di terzo ordine i gruppi C e D si distinguono per un maggiore contenuto di neo-glucobrassicina, infine i gruppi A e B si suddividono per un modesto contenuto medio di glucorafanina e neo-glucobrassicina (fig. 27; tab. 14).

Il contenuto complessivo dei composti antiossidanti analizzati ha permesso di evidenziare diverse correlazioni tra di essi (tabb. 15,30). In particolare tutti i descrittori sono apparsi correlati significativamente tra loro tranne GRA e POLI che sono apparsi indipendenti tra loro (tabb. 15,30). Tra i composti antiossidanti correlati quelli che sono stati scelti, per rappresentarli nelle successive elaborazioni volte alla classificazione delle tipologie di cavolo da foglia provenienti dalla penisola iberica e italiana in gruppi omogenei, sono stati la sinigrina, la progoitrina, la glucobrassicina, la neo-glucobrassicina, il β -carotene, e la vitamina C (tabb. 15,30).

L'analisi dei fattori ha fatto rilevare otto componenti principali, le prime tre delle quali esprimono il 62,2% della varianza complessiva registrata per i composti antiossidanti analizzati (tab. 31). La prima componente principale (CP1) è correlata positivamente nell'ordine con neo-glucobrassicina, glucobrassicina e i

polifenoli totali e negativamente con la glucorafanina, ed esprime il 25,1% della varianza, la seconda componente principale (CP2) è correlata positivamente con la vitamina C e la progoitrina, e negativamente con la sinigrina, esprime il 22,1% della varianza, mentre la terza componente principale (CP3) è correlata negativamente con il β - carotene, ed esprime il 15,0% della varianza (tabb. 15,31,32). La distribuzione delle cultivar di cavolo da foglia allo studio nello spazio delimitato dalle prime tre componenti principali le suddivide in sette gruppi (fig. 28; tab. 14). Il gruppo A, rappresentato solamente dall'accessione siciliana BH10, si distingue per l'assenza della sinigrina e della glucorafanina, per il modesto contenuto in β -carotene, e per l'elevato contenuto in progoitrina, polifenoli totali e vitamina C, il gruppo B, rappresentato solamente dall'accessione siciliana BH 48, si differenzia per l'assenza della sinigrina e l'elevato contenuto in progoitrina e neo-glucobrassicina, il gruppo C, rappresentato dalle cultivar siciliane BH 16, BH 18, BH 46 e BH 49, si distingue per l'assenza della progoitrina e della glucorafanina, e per un elevato contenuto in β -carotene e polifenoli totali, il gruppo D, costituito dalle accessioni portoghesi BH 27, BH 33, BH 40 e BH 41, e da quella calabrese BH 52, si caratterizza per l'assenza della progoitrina e l'elevato contenuto in polifenoli totali, il gruppo E, costituito dalle cultivar portoghesi BH 5, BH 42 e BH 35, e da quella siciliana BH 16, si differenzia per l'assenza della progoitrina e l'elevato contenuto di polifenoli totali, il gruppo F, rappresentato dalle accessioni portoghesi BH 22 e BH 25, e da quelle siciliane BH 1, BH 3, BH 14, BH 15, BH 20, BH 50 e BH 53, si caratterizza per un elevato contenuto in polifenoli totali, ed infine il gruppo G, rappresentato dalle restanti accessioni, si caratterizza per l'assenza della sinigrina e l' elevato contenuto in polifenoli totali (fig. 28; tab. 14).

L'analisi a grappoli delle accessioni sulla base del contenuto complessivo di antiossidanti, ha permesso di raggruppare le accessioni in sette gruppi (fig. 29; tab. 14). La ramificazione di primo ordine suddivide i gruppi A, B, C, D ed E da F e G per un maggiore contenuto in progoitrina presente in questi ultimi, a loro volta i gruppi F e G si distinguono per un elevato contenuto di glucorafanina e glucobrassicina ed un modesto contenuto di β -carotene e vitamina C individuati nell'ultimo gruppo (fig. 29; tab. 14). La ramificazione di secondo ordine suddivide i gruppi A e B dai gruppi C, D ed E per un minore contenuto di neo-

glucobrassicina. I gruppi D ed E si suddividono per un modesto contenuto di neo-glucobrassicina. Nella ramificazione di terzo ordine i gruppi A e B si distinguono rispetto al gruppo C per un modesto contenuto di sinigrina, infine i gruppi A e B si suddividono per un elevato contenuto di glucorafanina (fig. 29; tab. 14).

Il complesso dei dati acquisiti, inerenti sia ai caratteri bio-morfologici rilevati che quelli relativi al contenuto dei composti antiossidanti rilevati, ha permesso di accertare diverse correlazioni tra essi (tabb. 8,15,33). In particolare tutti i descrittori sono apparsi correlati significativamente tra loro tranne per FGFO, FGAT e FGCU che sono apparsi indipendenti tra loro (tabb. 8,15,33). Tra i descrittori correlati quelli che sono stati scelti per rappresentarli nelle successive elaborazioni volte alla classificazione delle tipologie di cavolo da foglia provenienti dalla penisola iberica e italiana sono stati PIFO, ALDI, TREM, FGLU, FGAG, FGMA, PELU e PIDI, tra i descrittori bio-morfologici, e POLI, CARO, VITA, GRA, PRO, GBS e NGBS tra i composti antiossidanti (tabb. 8,15,33).

L'analisi dei fattori ha fatto rilevare otto componenti principali, le prime tre delle quali esprimono il 42,1% della varianza registrata per i descrittori osservati (tab. 34). La prima componente principale (CP1) è correlata positivamente nell'ordine con PIDI e FGAG e negativamente con PRO e ALDI, ed esprime il 15,5% della varianza, la seconda componente principale (CP2) è correlata positivamente con FGLU e negativamente con GRA e FGMA, ed esprime il 14,1% della varianza, mentre la terza componente principale (CP3) è correlata positivamente con PELU e NGBS, ed esprime il 12,5% della varianza (tab. 8,15,34,35). La distribuzione delle accessioni di cavolo da foglia allo studio sulla base delle prescelte caratteristiche bio-morfologiche e nutraceutiche ha permesso di evidenziare ben undici gruppi omogenei (fig. 30; tab. 14). Il gruppo A, rappresentato solo dall'accessione portoghese BH 41, è distinto per l'assenza di progoitrina e glucorafanina e dall'elevata presenza di polifenoli totali, e da un modesto contenuto in PELU, il gruppo B, rappresentato solo dalla cultivar commerciale francese BH 36, si distingue per l'assenza di progoitrina e glucorafanina e da elevate livelli di polifenoli totali, e da elevati valori di PIDI, FGLU e PELU, il gruppo C, rappresentato solamente dal tipo siciliano BH 20, si distingue per l'assenza di progoitrina e glucorafanina, da elevate concentrazioni di neo-glucobrassicina, e da elevati valori riscontrati per PIDI, FGLU e PELU, (fig.

30; tab. 14). Il gruppo D, rappresentato dalla sola accessione siciliana BH 1, si contraddistingue per l'assenza di progoitrina e glucorafanina, da elevate concentrazioni di neo glucobrassicina e polifenoli totali, il gruppo E, costituito dal tipo siciliano BH 10, si distingue per l'assenza della glucorafanina e da elevate quantità di progoitrina e polifenoli totali, e una ridotta dimensione di PIDI, il gruppo F, rappresentato dalla cultivar commerciale portoghese BH 51, e dai tipi siciliani BH 16, BH 18, BH 30, BH 43, BH 48, e BH 53, si contraddistingue per elevate quantità di polifenoli totali e FGLU, (fig. 30; tab. 14). Il gruppo G, costituito dalle cultivar portoghesi BH 40 e BH 42, dal tipo calabrese BH 52 e da quello siciliano BH 49, si caratterizza per l'assenza di progoitrina, livelli modesti di neo-glucobrassicina e PELU, e per elevate quantità di polifenoli totali, il gruppo H, costituito dalle cultivar portoghesi BH 21, BH 25, BH 33 e BH35 e dal tipo spagnolo BH 4, si differenzia per l'assenza di progoitrina e glucorafanina, da elevati livelli di polifenoli totali, FGLU e PIDI, (fig. 30; tab. 14). Il gruppo I, costituito dai tipi siciliani BH 3, BH 15 e BH 44, si caratterizza per l'assenza di progoitrina e glucorafanina, per le elevate quantità di neo-glucobrassicina, e PIDI, il gruppo L, rappresentato dai tipi siciliani BH 14, BH 47 e BH 53, si differenzia per elevate quantità di polifenoli totali e modeste quantità di progoitrina, ed infine il gruppo M, rappresentato dalla cultivar portoghese BH 27, e dai tipi siciliani BH 16, BH 45, BH 46, BH 50 e BH 51, si differenzia per modeste quantità di progoitrina (fig. 30; tabb. 8,14).

La classificazione delle accessioni di cavolo da foglia del DISPA sulla base dei descrittori precedentemente scelti permette la loro classificazione in sette gruppi (fig. 31; tab. 14). La ramificazione di primo ordine separa il gruppo G, rappresentato dalla sola accessione siciliana BH 10, da tutti gli altri per elevati valori di ALDI, TREM, PIDI e per gli elevati contenuti di vitamina C e progoitrina (fig. 31; tabb. 8,14). La ramificazione di secondo ordine suddivide i gruppi A, B e C dai gruppi D, E ed F, per l'assenza di glucorafanina, e l'elevata presenza nelle foglie di polifenoli totali e neo-glubrassicina che mediamente contraddistinguono le accessioni raggruppate in questi ultimi gruppi (fig. 31; tab. 14). Il gruppo C, rappresentato dalle cultivar commerciali portoghesi BH 27, BH 33, BH 40, e BH 42, dalla cultivar spagnola BH 4, dalla cultivar italiana cavolo nero di toscano BH 17, dal tipo calabrese BH 52 e dai tipi siciliani BH 14, BH 47, BH 49 e BH 50, si

distingue dai gruppi A e B mediamente per un più elevato contenuto in polifenoli totali, il gruppo B, rappresentato solo dal tipo siciliano BH 48, si distingue dal gruppo A, rappresentato dalla cultivar portoghese BH 5 e BH 22, e dai tipi siciliani BH 2, BH 12, BH 16, BH 18, BH 30, BH 43, BH 45, BH 46, BH 51 e BH 53, per un minor contenuto in β -carotene e maggiori concentrazioni di progoitrina, glucorafanina e neo-glucobrassicina (fig. 31; tab. 14). Infine, nella seconda ramificazione di secondo ordine il gruppo F, rappresentato solo dalla cultivar portoghese BH 41, si differenzia dai gruppi D ed E, per maggiori valori di FGLU, FGAT e modesti valori di FGMA, ed il gruppo E, costituito dalle cultivar locali portoghesi BH 21, BH 25, da quella portoghese commerciale BH 35, e dalla cultivar francese BH 36, si differenzia dal gruppo D, rappresentato dai tipi siciliani BH 1, BH 3, BH 15, BH 20 e BH 44, per un maggiore valore di FGLU e per un minore contenuto di β -carotene e di neo-glucobrassicina (fig. 31; tabb. 8,14).

Tabella 14 – Tipi della core collection delle aree di maggiore diffusione di cavolo da foglia conservati presso il DISPA

Sigla	Nome accessione	Provenienza	Codice accessione
<i>Cultivar locali</i>			
BH 1 (CL)	Cavolo D'estate	Salina (IT)	UNICT351
BH 2 (CL)	Cavolo D'estate	Piano Lipari (IT)	UNICT352
BH 3 (CL)	Cavolo D'estate	Lipari (IT)	UNICT353
BH 4 (CL)	Asa de cantaro	Pontevedra (ES)	UNICT354
BH 10 (CL)	Cavolo riccio	Polizzi Generosa (IT)	UNICT360
BH 12 (CL)	Cavolo	Pedara (IT)	UNICT362
BH 14 (CL)	Cavolo nero	Acireale (IT)	UNICT364
BH 15 (CL)	Cavolo vecchio	Nicolosi (IT)	UNICT365
BH 16 (CL)	Maiolino	Acireale (IT)	UNICT366
BH 18 (CL)	Cavolo vecchio	Trecastagni (IT)	UNICT368
BH 20 (CL)	Cavolo forte	Troina (IT)	UNICT370
BH 21 (CL)	Couve Portuguesa Avulso	Vila Real (PT)	UNICT371
BH 22 (CL)	Couve	Vila Real (PT)	UNICT372
BH 25 (CL)	Couve Galega	Porto (PT)	UNICT375
BH 27 (CL)	Couve Portuguesa Loures	Porto (PT)	UNICT377
BH 30 (CL)	Cavolo vecchio	Resuttano (IT)	UNICT380
BH 40 (CL)	Couve Penca da Povoaa raça ave	Porto (PT)	UNICT2610
BH 41 (CL)	Couve Penca Pao-de-açucar raça douro	Porto (PT)	UNICT2611
BH 42 (CL)	Couve tonxada raça augus	Porto (PT)	UNICT2612
BH 43 (CL)	Cavolo vecchio	Linguaglossa (IT)	UNICT2622
BH 44 (CL)	Cavolo vecchio	Caltavuturo (IT)	UNICT2623
BH 45 (CL)	Cavolo Forte	Capizzi (IT)	UNICT2909
BH 46 (CL)	Cavolo Forte	Capizzi (IT)	UNICT3020
BH 47 (CL)	Cavolo vecchio	Isnello (IT)	UNICT3141
BH 48 (CL)	Cavolo vecchio	Caltavuturo (IT)	UNICT3174
BH 49 (CL)	Cavolo da foglia	Villadoro (IT)	UNICT3303
BH 50 (CL)	Cavolo riccio	Resuttano (IT)	UNICT3381
BH 51 (CL)	Cavolo vecchio	Isnello (IT)	UNICT3461
BH 52 (CL)	Cavolo forte	Stilo (IT)	UNICT3421
BH 53 (CL)	Cavolo	Lingua – Salina (IT)	UNICT3553
<i>Cultivar commerciali</i>			
BH 5 (COM)	Couve trochuda "Penca de chaves"	Vila Real (PT)	UNICT355
BH 17 (COM)	Cavolo nero di Toscana	Sgaravatti (IT)	UNICT367
BH 33 (COM)	Couve Penca Branca	Casa Cesar Santos (PT)	UNICT383
BH 35 (COM)	Penca da Povoaa	Casa Cesar Santos (PT)	UNICT385
BH 36 (COM)	Da foraggio	Terzier (FR)	UNICT386

Tabella 15 – Composti antiossidanti determinati nelle accessioni di cavolo da foglia delle aree di maggiore diffusione

Abbreviazione	Nome esteso
<i>Glucosinolati</i>	
GBS	Glucobrassicina (indolico)
GIB	Glucoiberina (alifatico)
GLs Tot	Glucosinolati totali
GNA	Gluconapina (alifatico)
GRA	Glucorafanina (alifatico)
GST	Gluconasturtina (aromatico)
Neo-GBS	Neo-Glucobrassicina (indolico)
PRO	Progoitrina (alifatico)
SIN	Sinigrina (alifatico)
<i>Altri composti antiossidanti</i>	
ANTO	Antocianine
CARO	β -carotene
POLI	Polifenoli totali
VITA	Vitamina C

Tabella 16 – Caratterizzazione biomorfologica della pianta

	ALDI	FGCI	FGNU	PIAL	PIDI	PIFO	PIHE
BH 1	52,1 (51,0)	46,9 (33,7)	45,1 (41,3)	120,6 (13,0)	60,5 (24,1)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 2	13,9 (28,4)	37,0 (44,3)	32,9 (49,0)	63,4 (24,7)	59,3 (44,1)	1,4 (92,3)	0,0 (0,0)
BH 3	21,3 (25,1)	58,8 (27,3)	80,6 (19,1)	89,8 (10,4)	77,8 (8,0)	3,0 (0,0)	0,1 (0,0)
BH 4	19,5 (27,9)	34,8 (24,2)	66,9 (15,4)	71,9 (12,8)	71,0 (21,6)	3,2 (37,3)	0,1 (300,0)
BH 5	17,9 (15,0)	36,0 (58,6)	81,7 (34,1)	77,7 (16,2)	77,8 (17,3)	3,2 (31,1)	0,8 (49,0)
BH 10	50,7 (0,0)	12,8 (32,1)	22,3 (57,9)	114,2 (8,6)	36,1 (18,9)	5,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 12	23,2 (33,2)	68,3 (35,5)	77,9 (24,7)	110,3 (14,1)	84,6 (28,9)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 14	8,0 (33,7)	61,1 (25,8)	56,3 (29,1)	52,7 (0,0)	45,8 (17,3)	3,6 (37,5)	0,0 (0,0)
BH 15	10,0 (32,4)	62,9 (22,0)	102,9 (18,2)	74,9 (21,0)	87,7 (15,1)	3,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 16	16,1 (54,7)	22,3 (45,0)	33,3 (33,1)	56,5 (8,2)	59,3 (8,8)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 17	16,3 (11,7)	87,5 (64,5)	26,0 (52,2)	77,8 (8,2)	62,5 (40,5)	3,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 18	22,0 (30,7)	67,3 (24,4)	59,4 (22,0)	92,8 (10,5)	73,3 (14,5)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 20	14,4 (22,3)	46,5 (44,1)	79,4 (44,5)	89,5 (23,4)	91,4 (25,3)	1,8 (59,2)	0,0 (0,0)
BH 21	16,1 (35,3)	29,4 (27,1)	55,7 (20,2)	71,7 (16,2)	77,0 (15,7)	3,3 (23,0)	0,9 (44,1)
BH 22	26,5 (29,3)	40,1 (34,4)	43,8 (53,2)	78,3 (17,4)	75,6 (23,3)	4,0 (26,7)	0,1 (282,4)
BH 25	25,2 (39,9)	41,7 (35,0)	80,8 (28,0)	99,6 (7,6)	88,0 (20,5)	3,7 (38,6)	0,0 (0,0)
BH 27	20,3 (25,5)	57,5 (28,8)	37,3 (21,5)	95,3 (15,1)	85,0 (22,5)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 30	18,8 (25,5)	40,0 (35,4)	52,5 (20,2)	105,0 (33,7)	62,5 (39,6)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 33	18,8 (27,1)	127,4 (12,4)	35,6 (40,1)	95,0 (11,8)	73,0 (28,8)	4,6 (19,4)	1,0 (0,0)
BH 35	19,3 (23,3)	87,6 (18,1)	76,3 (38,4)	83,4 (9,4)	66,3 (16,9)	3,3 (15,0)	0,6 (300,0)
BH 36	16,8 (15,3)	39,2 (23,6)	60,7 (29,1)	101,0 (18,2)	87,3 (18,1)	3,4 (24,8)	0,0 (0,0)
BH 40	18,3 (24,1)	63,5 (26,5)	21,5 (37,8)	101,0 (13,2)	44,3 (24,5)	5,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 41	17,4 (4,7)	34,0 (8,3)	50,0 (14,1)	85,5 (14,1)	80,5 (0,9)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)
BH 42	12,7 (35,7)	88,3 (16,3)	66,7 (45,2)	76,7 (13,2)	86,7 (36,6)	3,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 43	13,6 (35,3)	84,4 (25,3)	68,4 (20,2)	75,6 (20,7)	67,8 (14,1)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 44	18,1 (23,4)	58,2 (24,6)	77,5 (36,2)	90,5 (14,8)	77,0 (18,7)	3,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 45	8,9 (10,4)	72,5 (70,0)	64,3 (50,0)	66,3 (17,1)	67,7 (32,2)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 46	11,2 (31,4)	40,6 (49,7)	61,0 (49,1)	77,0 (12,4)	92,3 (12,2)	2,5 (37,0)	0,0 (0,0)
BH 47	15,9 (35,8)	123,3 (26,1)	80,0 (12,5)	97,3 (12,9)	77,0 (19,6)	4,3 (26,7)	0,0 (0,0)
BH 48	12,3 (25,1)	88,8 (19,1)	74,0 (18,7)	77,0 (11,4)	74,0 (11,2)	3,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 49	9,2 (36,0)	92,4 (34,9)	59,6 (24,2)	81,2 (20,4)	78,0 (22,1)	3,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 50	9,9 (37,7)	56,0 (12,7)	53,0 (31,2)	61,3 (8,3)	65,8 (9,9)	3,0 (0,0)	0,5 (115,5)
BH 51	23,8 (43,9)	76,7 (21,1)	60,4 (35,5)	89,6 (11,7)	80,6 (36,3)	1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 52	17,2 (36,7)	63,3 (32,9)	19,0 (19,0)	94,7 (23,3)	43,7 (22,9)	5,0 (0,0)	0,0 (0,0)
BH 53	16,0 (41,5)	56,3 (28,4)	67,1 (17,8)	78,0 (14,8)	84,3 (13,6)	2,8 (52,7)	0,0 (0,0)

segue →

Attività per l'innovazione dei prodotti orticoli per tratti funzionali

	PIRA	STAL	STDI	TREM	TRFI	UNFI
BH 1	2,6 (40,4)	94,6 (11,7)	2,3 (45,8)	35,3 (62,2)	53,0 (137,9)	5,0 (0,0)
BH 2	2,3 (56,7)	32,4 (36,5)	2,4 (24,3)	0,0 (0,0)	39,4 (287,0)	3,0 (0,0)
BH 3	6,0 (34,4)	57,7 (19,2)	2,7 (14,2)	12,8 (89,6)	36,8 (37,9)	3,0 (0,0)
BH 4	6,1 (28,9)	49,3 (16,6)	2,7 (31,1)	12,9 (22,8)	60,9 (4,5)	3,0 (0,0)
BH 5	5,2 (58,0)	50,0 (17,4)	2,8 (17,4)	0,0 (0,0)	2,2 (161,0)	3,0 (0,0)
BH 10	2,3 (123,1)	95,3 (7,3)	2,0 (21,8)	69,0 (4,6)	78,6 (2,4)	3,0 (0,0)
BH 12	7,0 (0,0)	72,1 (22,8)	3,2 (17,4)	5,0 (300,0)	33,3 (51,1)	3,0 (0,0)
BH 14	6,6 (19,2)	26,8 (21,1)	3,6 (24,5)	50,0 (0,0)	63,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 15	7,0 (0,0)	42,1 (23,6)	4,5 (37,1)	32,7 (68,4)	59,7 (20,0)	7,0 (0,0)
BH 16	2,3 (66,7)	24,2 (44,1)	1,7 (39,9)	0,0 (0,0)	0,5 (200,0)	3,0 (0,0)
BH 17	3,3 (88,4)	39,3 (3,8)	2,4 (8,7)	38,0 (0,0)	64,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 18	3,0 (0,0)	65,2 (15,5)	3,1 (25,1)	15,2 (42,7)	50,0 (12,3)	3,0 (0,0)
BH 20	5,1 (53,6)	48,0 (31,6)	3,4 (32,6)	43,8 (59,4)	73,9 (19,5)	5,0 (0,0)
BH 21	5,3 (40,5)	42,1 (23,6)	2,8 (26,9)	7,0 (96,2)	34,4 (77,3)	3,0 (0,0)
BH 22	4,5 (46,0)	50,9 (25,9)	2,0 (20,0)	0,0 (0,0)	2,3 (185,2)	3,0 (0,0)
BH 25	5,7 (35,3)	66,9 (17,5)	2,8 (19,7)	7,3 (260,2)	45,1 (47,6)	3,0 (0,0)
BH 27	4,0 (50,0)	56,3 (19,7)	2,8 (20,3)	48,5 (10,3)	61,3 (7,4)	3,0 (0,0)
BH 30	5,0 (56,6)	68,0 (45,8)	3,5 (21,5)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 33	5,4 (40,6)	61,6 (20,2)	3,4 (22,2)	37,8 (15,1)	61,8 (12,1)	3,0 (0,0)
BH 35	4,4 (58,6)	61,3 (16,5)	3,2 (15,7)	42,1 (20,2)	64,1 (14,3)	3,0 (0,0)
BH 36	4,3 (58,1)	64,2 (19,8)	3,8 (17,1)	83,1 (22,0)	91,2 (18,9)	3,0 (0,0)
BH 40	0,0 (0,0)	69,5 (21,4)	3,8 (21,0)	42,7 (6,6)	71,8 (4,4)	3,0 (0,0)
BH 41	7,0 (0,0)	54,5 (11,7)	3,1 (7,0)	42,5 (8,3)	64,5 (7,7)	3,0 (0,0)
BH 42	5,7 (40,8)	45,7 (17,8)	3,7 (16,3)	35,0 (0,0)	73,0 (11,9)	3,0 (0,0)
BH 43	4,6 (47,6)	50,4 (22,5)	3,9 (19,9)	33,2 (3,3)	50,2 (29,2)	5,0 (0,0)
BH 44	5,9 (41,1)	64,1 (14,9)	3,7 (20,3)	49,9 (20,7)	68,8 (8,4)	7,0 (0,0)
BH 45	4,5 (65,5)	40,3 (27,0)	4,6 (34,2)	50,0 (24,0)	66,2 (9,2)	3,0 (0,0)
BH 46	4,8 (68,2)	37,3 (23,2)	3,5 (29,5)	1,0 (185,2)	69,1 (22,7)	5,0 (0,0)
BH 47	7,0 (0,0)	61,0 (19,9)	4,0 (16,8)	62,0 (5,6)	83,7 (4,8)	5,0 (0,0)
BH 48	5,0 (42,8)	47,6 (10,8)	4,0 (15,9)	49,6 (19,1)	61,5 (14,1)	3,0 (0,0)
BH 49	7,0 (0,0)	47,0 (24,5)	5,6 (37,7)	50,8 (14,6)	71,0 (6,3)	3,0 (0,0)
BH 50	4,0 (50,0)	40,4 (19,1)	4,3 (22,0)	46,5 (10,2)	66,3 (5,3)	5,0 (0,0)
BH 51	4,7 (55,0)	73,8 (13,6)	3,5 (34,2)	10,4 (112,2)	43,9 (20,6)	3,0 (0,0)
BH 52	0,0 (0,0)	57,7 (39,0)	3,4 (15,1)	36,0 (4,8)	76,7 (2,0)	3,0 (0,0)
BH 53	5,0 (42,2)	44,0 (28,7)	2,9 (30,8)	13,0 (55,5)	61,4 (12,7)	3,0 (0,0)

Tabella 16 – Caratterizzazione biomorfologica della foglia

	FGAN	FGAT	FGCO	FGCU	FGFO	FGLA	FGLO	FGLU	FGMA	FGSE
BH 1	0,00 (0,0)	5,3 (13,5)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	15,8 (29,5)	1,00 (0,0)	21,8 (27,8)	3,0 (0,0)	4,8 (14,9)
BH 2	0,00 (0,0)	5,0 (21,4)	3,8 (11,7)	1,0 (0,0)	3,1 (49,7)	17,1 (35,7)	1,00 (0,0)	26,9 (38,2)	3,5 (26,5)	3,3 (21,8)
BH 3	0,13 (326,6)	5,8 (19,1)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	16,8 (20,0)	0,38 (146,1)	26,4 (21,2)	3,0 (0,0)	4,3 (19,2)
BH 4	0,00 (0,0)	5,2 (40,4)	2,8 (15,9)	1,0 (0,0)	2,6 (20,6)	24,0 (14,0)	0,00 (0,0)	32,9 (16,6)	0,7 (198,4)	3,0 (0,0)
BH 5	0,00 (0,0)	5,0 (35,8)	2,8 (26,6)	1,0 (0,0)	1,8 (53,6)	23,5 (30,5)	0,00 (0,0)	30,6 (25,9)	4,3 (37,7)	3,3 (24,5)
BH 10	0,00 (0,0)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	12,2 (13,2)	1,00 (0,0)	20,4 (13,2)	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 12	0,11 (300,0)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	11,3 (30,6)	1,00 (0,0)	16,2 (34,6)	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 14	0,00 (0,0)	5,8 (17,8)	4,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	9,4 (17,3)	0,80 (52,7)	13,2 (21,3)	3,6 (26,8)	3,0 (0,0)
BH 15	0,00 (0,0)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	14,7 (21,4)	1,00 (0,0)	24,9 (18,2)	2,6 (44,1)	3,0 (0,0)
BH 16	1,00 (0,0)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	15,3 (28,0)	1,00 (0,0)	22,0 (22,0)	4,0 (28,9)	4,0 (28,9)
BH 17	1,00 (0,0)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	5,0 (0,0)	9,4 (33,0)	0,25 (200,0)	14,4 (32,3)	4,0 (28,9)	3,0 (0,0)
BH 18	0,11 (300,0)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	0,0 (0,0)	2,0 (0,0)	19,2 (18,5)	1,00 (0,0)	26,0 (17,1)	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 20	0,00 (0,0)	5,0 (0,0)	4,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	20,3 (26,8)	1,00 (0,0)	29,8 (15,7)	4,0 (26,7)	4,8 (14,9)
BH 21	0,00 (0,0)	3,0 (0,0)	2,7 (18,0)	1,0 (0,0)	1,0 (0,0)	27,0 (23,9)	0,00 (0,0)	32,6 (20,6)	1,7 (93,5)	3,3 (23,0)
BH 22	0,00 (0,0)	5,0 (21,4)	2,4 (21,8)	1,0 (0,0)	2,9 (12,3)	22,9 (12,9)	0,13 (282,8)	26,8 (14,7)	2,1 (88,7)	3,0 (0,0)
BH 25	0,11 (300,0)	5,7 (17,7)	3,7 (13,6)	1,0 (0,0)	2,7 (18,8)	20,9 (19,2)	0,67 (75,0)	28,6 (18,8)	3,9 (27,1)	3,2 (20,7)
BH 27	0,00 (0,0)	5,0 (0,0)	2,0 (0,0)	1,0 (0,0)	4,0 (0,0)	5,8 (8,7)	0,00 (0,0)	12,1 (32,7)	1,5 (115,5)	3,0 (0,0)
BH 30	0,00 (0,0)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	16,0 (8,8)	1,00 (0,0)	22,0 (6,4)	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 33	0,40 (136,9)	4,6 (19,4)	2,0 (0,0)	1,0 (0,0)	3,0 (0,0)	20,4 (28,3)	0,00 (0,0)	29,6 (22,5)	0,6 (223,6)	3,4 (26,3)
BH 35	0,00 (0,0)	3,9 (27,1)	2,0 (0,0)	0,0 (0,0)	3,0 (0,0)	18,7 (12,9)	0,00 (0,0)	31,1 (23,9)	3,4 (25,6)	3,4 (25,6)
BH 36	0,10 (316,2)	5,0 (26,7)	2,1 (15,1)	1,0 (0,0)	3,9 (8,1)	21,4 (22,1)	0,40 (129,1)	37,1 (17,6)	3,1 (44,2)	4,0 (26,4)
BH 40	0,83 (49,0)	4,3 (23,8)	2,0 (0,0)	1,0 (0,0)	3,0 (0,0)	9,5 (14,9)	0,00 (0,0)	17,8 (21,1)	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 41	0,00 (0,0)	7,0 (0,0)	2,0 (0,0)	1,0 (0,0)	1,0 (0,0)	24,5 (8,7)	0,00 (0,0)	45,0 (28,3)	0,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 42	0,00 (0,0)	6,3 (18,2)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,7 (57,3)	13,2 (25,3)	0,00 (0,0)	26,7 (21,3)	2,7 (94,4)	3,0 (0,0)
BH 43	0,20 (223,6)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	12,9 (14,1)	1,00 (0,0)	20,0 (9,4)	3,8 (28,8)	3,0 (0,0)
BH 44	0,50 (105,4)	5,2 (12,2)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	3,0 (0,0)	14,2 (18,4)	1,00 (0,0)	20,9 (19,0)	3,2 (19,8)	3,6 (37,5)
BH 45	0,67 (77,5)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	3,0 (0,0)	15,4 (17,8)	1,00 (0,0)	22,3 (20,2)	3,7 (28,2)	3,0 (0,0)
BH 46	0,88 (40,41)	4,8 (14,9)	3,9 (9,1)	1,0 (0,0)	2,4 (21,8)	22,9 (11,6)	1,00 (0,0)	31,3 (16,4)	3,3 (21,8)	3,8 (27,6)
BH 47	0,33 (173,2)	4,3 (26,7)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	9,7 (23,9)	1,00 (0,0)	16,5 (24,1)	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 48	0,13 (282,8)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	17,4 (13,0)	1,00 (0,0)	22,9 (11,3)	3,0 (0,0)	4,0 (26,7)
BH 49	1,00 (0,0)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,0 (0,0)	16,2 (23,7)	1,00 (0,0)	24,2 (22,3)	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 50	0,25 (200,0)	5,0 (0,0)	3,8 (13,3)	2,0 (57,7)	1,5 (38,5)	19,5 (39,4)	1,00 (0,0)	22,3 (16,6)	4,0 (28,9)	4,5 (22,2)
BH 51	0,20 (210,8)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	3,0 (0,0)	11,4 (20,8)	1,00 (0,0)	15,6 (32,6)	4,2 (24,6)	3,0 (0,0)
BH 52	0,33 (173,2)	5,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	1,3 (43,3)	14,0 (37,8)	0,33 (173,2)	19,0 (36,8)	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)
BH 53	0,10 (316,2)	4,8 (13,2)	3,0 (0,0)	1,0 (0,0)	2,1 (15,1)	20,1 (17,2)	1,00 (0,0)	29,9 (15,8)	3,6 (26,8)	3,6 (26,8)

Tabella 17 – Caratterizzazione biomorfologica del peziolo e del petalo

	FGAG	PEAL	PECO	PELA	PELU	COPE
BH 1	2,9 (12,3)	3,0 (0,0)	2,0 (0,0)	0,7 (33,3)	17,3 (43,3)	2,8 (16,8)
BH 2	2,8 (16,8)	3,4 (61,8)	1,6 (56,7)	0,7 (62,0)	13,9 (61,3)	1,0 (0,0)
BH 3	3,0 (0,0)	3,8 (29,2)	2,3 (36,3)	0,8 (21,0)	15,6 (19,6)	1,0 (0,0)
BH 4	3,0 (0,0)	4,8 (14,0)	1,6 (33,9)	1,4 (32,7)	11,9 (55,9)	1,0 (0,0)
BH 5	2,7 (51,2)	4,5 (59,2)	1,5 (55,8)	1,3 (74,3)	10,3 (78,1)	1,0 (0,0)
BH 10	2,0 (0,0)	3,6 (26,8)	3,0 (35,1)	0,4 (16,4)	15,8 (21,9)	3,0 (0,0)
BH 12	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)	2,2 (19,8)	0,5 (28,9)	15,1 (42,9)	1,0 (0,0)
BH 14	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)	1,3 (37,2)	0,4 (27,1)	7,8 (38,9)	1,0 (0,0)
BH 15	2,9 (13,2)	4,4 (22,0)	2,6 (20,8)	0,9 (15,3)	23,3 (18,5)	1,4 (55,1)
BH 16	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)	3,5 (28,6)	0,6 (34,1)	12,5 (33,6)	1,0 (0,0)
BH 17	3,0 (0,0)	1,5 (115,5)	2,0 (115,5)	0,2 (118,2)	5,0 (151,4)	2,0 (0,0)
BH 18	3,0 (0,0)	4,3 (23,1)	2,2 (30,0)	1,0 (25,6)	24,3 (23,4)	3,0 (0,0)
BH 20	3,0 (0,0)	3,5 (26,5)	2,0 (0,0)	1,0 (29,5)	26,1 (28,3)	1,3 (56,6)
BH 21	3,0 (0,0)	6,7 (11,3)	1,0 (0,0)	2,3 (29,6)	14,1 (28,1)	1,0 (0,0)
BH 22	3,0 (0,0)	5,3 (13,5)	1,4 (37,6)	1,5 (22,6)	15,8 (27,1)	1,0 (0,0)
BH 25	3,0 (0,0)	5,2 (23,0)	2,0 (0,0)	1,2 (31,6)	18,3 (27,1)	1,0 (0,0)
BH 27	3,0 (0,0)	1,5 (115,5)	1,0 (115,5)	0,2 (115,7)	1,9 (120,0)	1,0 (0,0)
BH 30	3,0 (0,0)	5,0 (0,0)	2,0 (0,0)	0,8 (25,5)	17,5 (4,0)	1,0 (0,0)
BH 33	2,4 (22,8)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	1,0 (0,0)
BH 35	2,9 (11,5)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	1,0 (0,0)
BH 36	3,0 (0,0)	4,8 (30,7)	2,2 (19,2)	1,0 (23,1)	22,8 (23,3)	3,0 (0,0)
BH 40	3,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	1,0 (0,0)
BH 41	3,0 (0,0)	3,5 (141,4)	0,5 (141,4)	0,8 (141,4)	9,5 (141,4)	1,0 (0,0)
BH 42	3,0 (0,0)	1,7 (173,2)	0,7 (173,2)	0,3 (173,2)	6,0 (173,2)	1,0 (0,0)
BH 43	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)	2,6 (34,4)	0,5 (14,9)	15,8 (12,2)	1,8 (60,9)
BH 44	2,9 (10,9)	3,4 (24,8)	2,4 (35,1)	0,7 (24,6)	16,7 (20,2)	1,3 (51,9)
BH 45	3,0 (0,0)	5,0 (0,0)	2,7 (3,87)	0,9 (18,3)	17,8 (23,0)	3,0 (0,0)
BH 46	2,6 (19,7)	5,0 (0,0)	3,3 (31,9)	1,3 (12,8)	24,0 (20,0)	1,8 (59,2)
BH 47	3,0 (0,0)	3,7 (31,5)	2,0 (0,0)	0,5 (35,9)	30,7 (71,5)	1,7 (59,2)
BH 48	3,1 (11,3)	4,3 (24,4)	2,3 (31,4)	0,8 (34,1)	19,6 (14,9)	1,0 (0,0)
BH 49	3,0 (0,0)	5,0 (28,3)	3,6 (24,9)	0,9 (26,4)	12,7 (28,3)	3,0 (0,0)
BH 50	3,0 (0,0)	4,5 (22,2)	1,5 (38,5)	1,0 (26,4)	17,3 (26,1)	1,5 (66,7)
BH 51	3,0 (0,0)	3,0 (0,0)	2,5 (28,3)	0,6 (38,0)	16,1 (42,6)	1,0 (0,0)
BH 52	3,0 (0,0)	1,0 (173,2)	0,7 (173,2)	0,1 (173,2)	3,7 (173,2)	3,0 (0,0)
BH 53	3,0 (0,0)	3,2 (19,8)	2,0 (0,0)	1,0 (21,2)	22,1 (24,1)	1,0 (0,0)

Tabella 18 – *Composti antiossidanti presenti nella core collection di cavolo da foglia delle aree di maggiore diffusione espressi in mg g^{-s.s.}*

	Polifenoli totali	β-carotene	Antocianine	Vitamina C
BH 1	31,1	1,3	0,6	9,2
BH 2	25,5	0,7	0,1	9,9
BH 3	23,5	1,0	0,4	8,7
BH 4	27,2	0,9	0,2	9,5
BH 5	17,1	1,3	0,5	7,9
BH 10	25,6	1,3	0,4	13,4
BH 12	24,6	0,9	0,5	7,0
BH 14	24,4	1,3	0,3	11,7
BH 15	29,6	1,2	0,6	9,5
BH 16	19,4	1,1	0,2	7,3
BH 17	27,8	1,1	0,2	6,0
BH 18	17,5	1,3	0,3	7,3
BH 20	28,6	1,1	0,3	9,1
BH 21	28,0	0,9	0,2	8,0
BH 22	16,5	1,3	0,1	9,8
BH 25	24,4	1,0	0,2	8,0
BH 27	23,4	1,1	0,2	7,2
BH 30	22,5	1,3	0,4	8,8
BH 33	28,6	1,0	0,1	7,2
BH 35	27,8	0,9	0,1	9,2
BH 36	26,3	0,6	0,1	8,6
BH 40	23,0	0,3	0,3	7,5
BH 41	26,3	0,6	0,1	6,6
BH 42	23,0	1,0	0,5	9,4
BH 43	22,7	1,3	0,3	10,2
BH 44	26,4	1,1	0,3	10,0
BH 45	23,0	1,3	0,4	8,4
BH 46	20,1	0,8	0,3	6,5
BH 47	25,0	1,2	0,6	9,0
BH 48	21,6	0,3	0,1	7,7
BH 49	23,8	0,6	0,1	8,2
BH 50	23,8	1,3	0,2	7,2
BH 51	24,8	1,3	0,7	9,6
BH 52	22,5	0,9	0,4	6,5
BH 53	28,7	1,3	0,6	9,6

Tabella 19 – Glucosinolati presenti nella core collection di cavolo da foglia delle aree di maggiore diffusione espressi in $\mu\text{M g}^{-\text{s.s.}}$

	GIB	PRO	GRA	SIN	GNA	GBS	Neo-GBS	GST	Altri	Gls Tot
BH 1						4,3	22,7		3,4	30,4
BH 2			0,6			0,3	3,6	0,4	0,6	5,6
BH 3						8,2	19,3		13,6	41,1
BH 4						6,0	2,3		4,5	12,9
BH 5	1,9			0,7		5,0	1,3	0,7	3,1	12,6
BH 10		2,5			1,5	0,9	0,3	0,5	1,9	7,5
BH 12			0,8			5,0	6,8		4,6	17,3
BH 14	0,6		0,3	0,8		5,0	0,5	0,7	1,4	9,2
BH 15						4,3	11,8		5,3	21,3
BH 16						5,7	1,6		2,4	9,7
BH 17						3,0	1,9		4,1	9,0
BH 18		0,9	1,1			3,6	0,8		1,1	7,5
BH 20						16,4	23,1		14,3	53,8
BH 21	3,0					5,7	6,1	1,3	4,1	20,2
BH 22						4,3	7,0		7,1	18,4
BH 25						20,8	5,7		7,7	34,2
BH 27	1,1			1,6		0,9	0,6	1,3	0,8	6,3
BH 30			2,2			1,3	4,2		6,1	13,8
BH 33	1,0			1,3		3,4	1,6	0,7	3,0	11,0
BH 35	2,5			0,9		13,1	5,4	1,9	9,3	33,1
BH 36						22,2	5,4		25,3	53,0
BH 40	2,3		0,3	1,8		2,2	0,8	0,5	1,8	9,7
BH 41	1,5			1,3		3,6	1,1	0,7	2,4	10,5
BH 42	2,5			0,9		1,8	0,5	0,4	1,0	7,1
BH 43			2,4			1,6	2,0		1,7	7,7
BH 44						3,4	14,2		3,1	20,7
BH 45			1,5			2,7	2,0		1,8	8,0
BH 46			1,8			2,2	2,2	0,7	1,7	8,6
BH 47		0,9	1,2			1,3	1,1	0,3	1,6	6,3
BH 48		2,3	3,8			4,1	8,1		3,5	21,8
BH 49			1,2			1,4	1,2		2,3	6,1
BH 50			0,7			0,8	0,7		3,2	5,4
BH 51			2,8			0,5	1,4	0,3	2,0	7,0
BH 52	1,9		0,9	0,7		2,7	0,8	0,6	1,6	9,2
BH 53	2,1		2,1	0,7		3,7	3,7	0,6	1,1	13,9

GIB=Gluciberina; PRO=Progoitrina; GRA=Glucorafanina; SIN=Sinigrina; GNA=Gluconapina;
GBS=Glucobrassicina; Neo-GBS=Neo-Glucobrassicina; GST=Gluconasturtina; Gls Tot=Glucosinolati totali

Tabella 21 – Parametri associati e relativi coefficienti di correlazione ($P = 0,01$)

Parametro	Coefficiente di correlazione	Parametro	Coefficiente di correlazione
ALDI vs STAL	0,810	PECO vs FGMA	0,447
ALDI vs STDI	-0,578	PECO vs FGLO	0,759
TREM vs STDI	0,442	PECO vs PELU	0,652
PIAL vs STAL	0,924	PECO vs PEAL	0,547
PIAL vs ALDI	0,698	PIRA vs PIDI	0,639
FGLA vs FGLU	0,884	PIHE vs FGLU	0,546
FGAG vs ALDI	-0,471	PIHE vs FGLA	0,559
FGMA vs FGCO	0,571	PIHE vs FGMA	-0,455
FGLO vs PIFO	-0,444	PIHE vs FGLO	-0,550
FGLO vs FGCO	0,653	PIHE vs PECO	-0,544
FGLO vs FGMA	0,540	FGNU vs PIDI	0,672
PELU vs FGCO	0,483	FGNU vs PELU	0,518
PELU vs FGLO	0,696	FGNU vs PIRA	0,744
PELA vs PIDI	0,433	FGCI vs STDI	0,539
PELA vs FGLU	0,505	FGCI vs PELA	-0,497
PELA vs FGLA	0,738	FGCI vs PEAL	-0,459
PELA vs PELU	0,545	UNFI vs PELU	0,450
PEAL vs FGLA	0,522	TRFI vs STDI	0,466
PEAL vs PELU	0,693	TRFI vs TREM	0,794
PEAL vs PELA	0,898	COPE vs TREM	0,468
PECO vs FGCO	0,478		

Tabella 22 – Percentuale di varianza delle componenti principali individuate con l'analisi dei fattori.

Componente	% di varianza	% cumulata
CP1	24,8	24,8
CP2	20,6	45,4
CP3	19,0	64,3
CP4	12,6	77,0
CP5	9,5	86,4
CP6	6,2	92,6
CP7	4,2	96,9
CP8	3,1	100,0

Tabella 23 – Coefficiente di correlazione dei singoli parametri con le componenti principali

Parametri	Componenti			
	CP 1	CP2	CP3	CP4
ALDI	-0,176	2,099E-02	-0,733	0,331
TREM	-0,557	7,585E-02	0,352	0,610
FGLU	0,468	0,771	-2,687E-02	9,923E-02
FGMA	0,111	-0,818	-1,898E-02	0,164
PIFO	-0,583	0,501	5,809E-02	0,256
PELU	0,638	-0,231	7,773E-02	0,645
PIDI	0,729	0,218	0,482	5,949E-02
FGCI	-0,363	-0,156	0,784	-7,713E-02

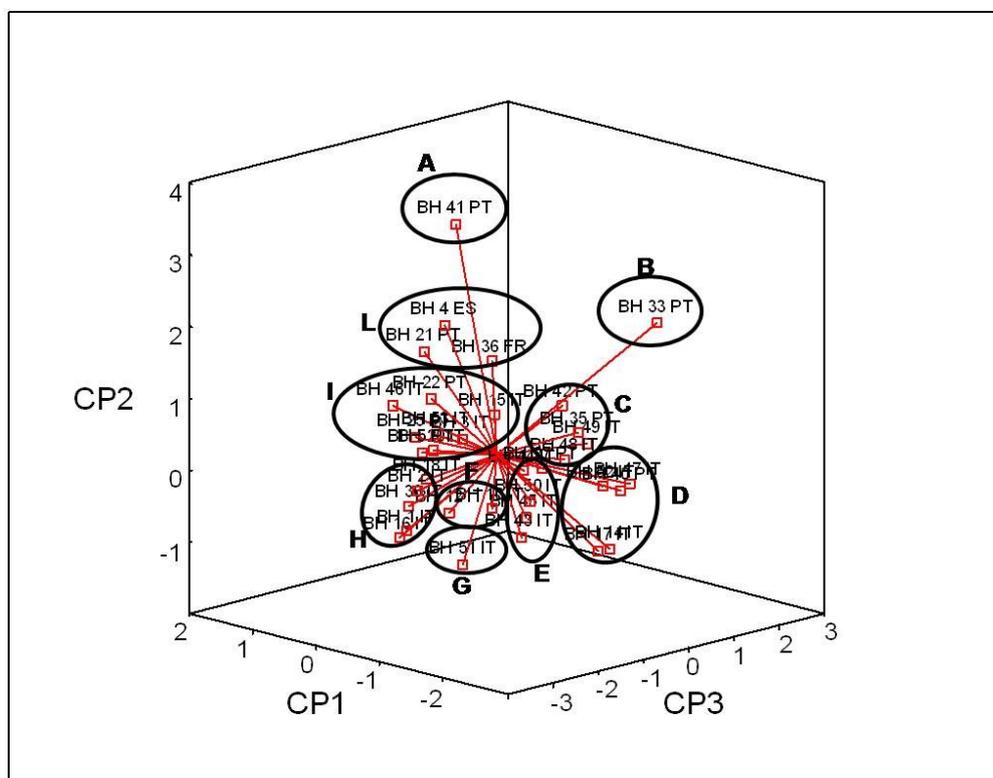


Figura 22 – Distribuzione dei materiali studiati nello spazio descritto dalle prime tre componenti principali

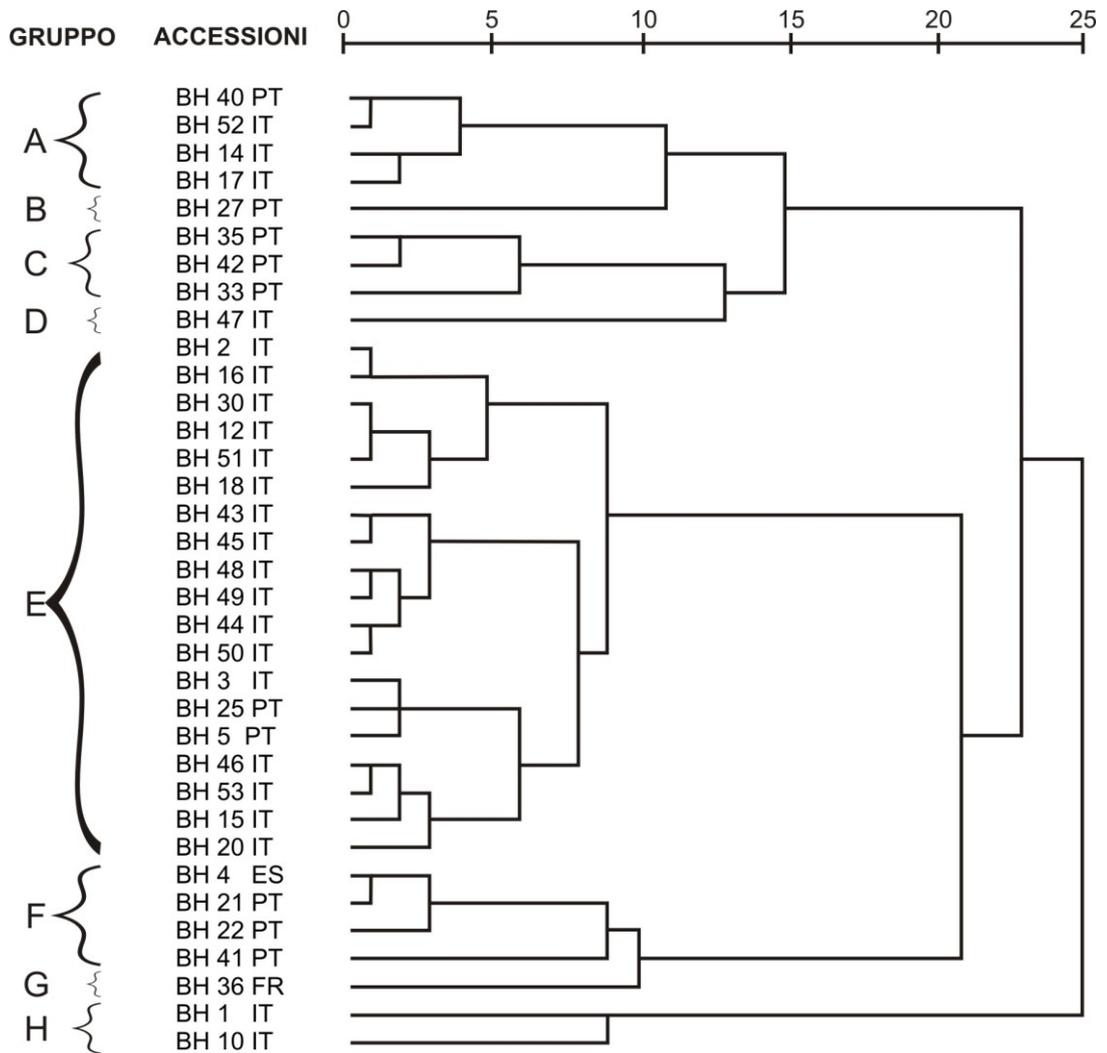


Figura 23 – Classificazione a grappolo dei materiali analizzati

Tabella 24 – Parametri associati e relativi coefficienti di correlazione ($P = 0,01$)

Parametro	Coefficiente di correlazione
ANTO vs CARO	0,534

Tabella 25 – Percentuale di varianza delle componenti principali individuate con l'analisi dei fattori

Componente	% di varianza	% cumulata
CP1	47,1	47,1
CP2	34,8	81,9
CP3	18,1	100,0

Tabella 26 – Coefficiente di correlazione dei singoli parametri con le componenti principali

Parametri	Componenti	
	CP 1	CP 2
CARO	0,749	-0,482
POLI	0,334	0,899
VITA	0,860	7,100E-02
% VARIANZA	47,1	34,9

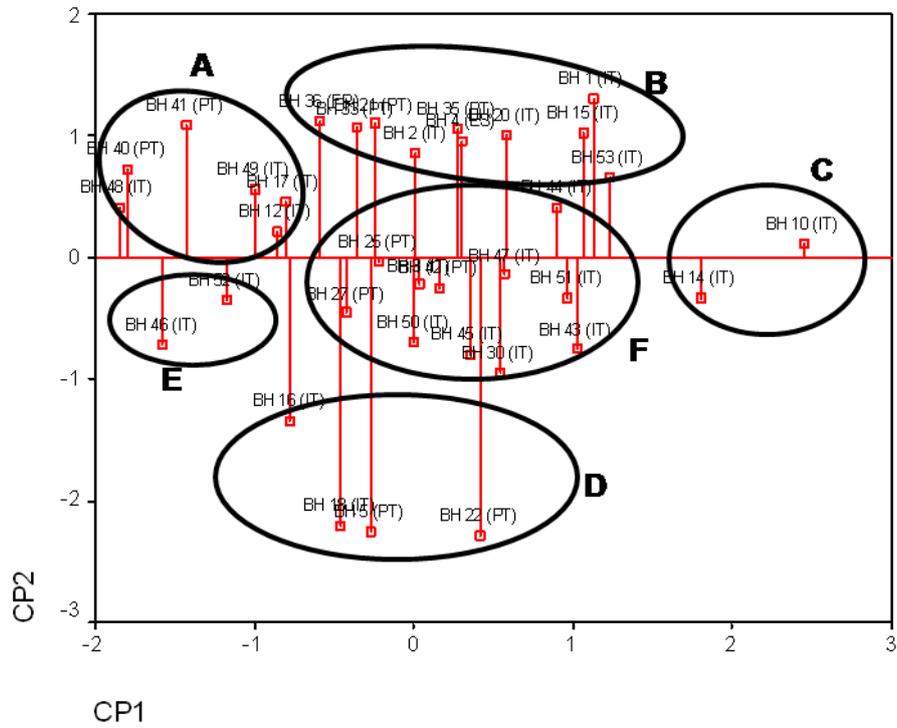


Figura 24 – Distribuzione dei materiali studiati nello spazio descritto dalle due componenti principali

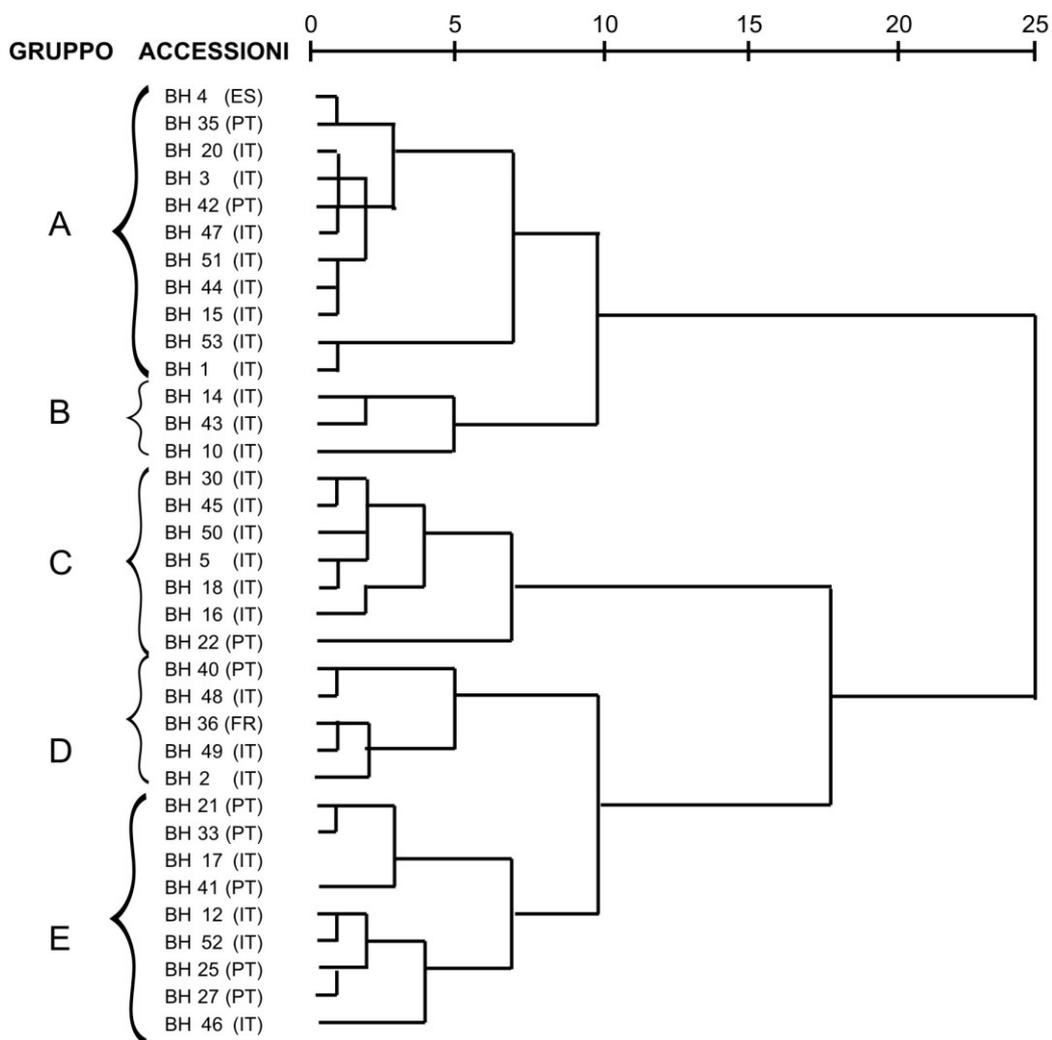


Figura 25 – Classificazione a grappolo dei materiali analizzati

Tabella 27 – Parametri associati e relativi coefficienti di correlazione ($P = 0,01$)

Parametro	Coefficiente di correlazione
SIN vs GIB	0,692
GNA vs PRO	0,679
GST vs GIB	0,751
GST vs SIN	0,621
ALTR vs GBS	0,814
ALTR vs NGBS	0,479
GLST vs GBS	0,862
GLST vs NGBS	0,752
GLST vs ALTR	0,881

Tabella 28 – Percentuale di varianza delle componenti principali individuate con l'analisi dei fattori

Componente	% di varianza	% cumulata
CP1	35,1	35,1
CP2	29,2	64,3
CP3	14,9	79,2
CP4	11,3	90,5
CP5	9,5	100,0

Tabella 29 – Coefficiente di correlazione dei singoli parametri con le componenti principali

Parametri	Componenti	
	CP1	CP2
SIN	-5,941E-02	-0,858
PRO	-0,514	0,478
GBS	0,758	0,206
NGBS	0,652	0,518
GRA	-0,699	0,428
% VARIANZA	35,1	29,2

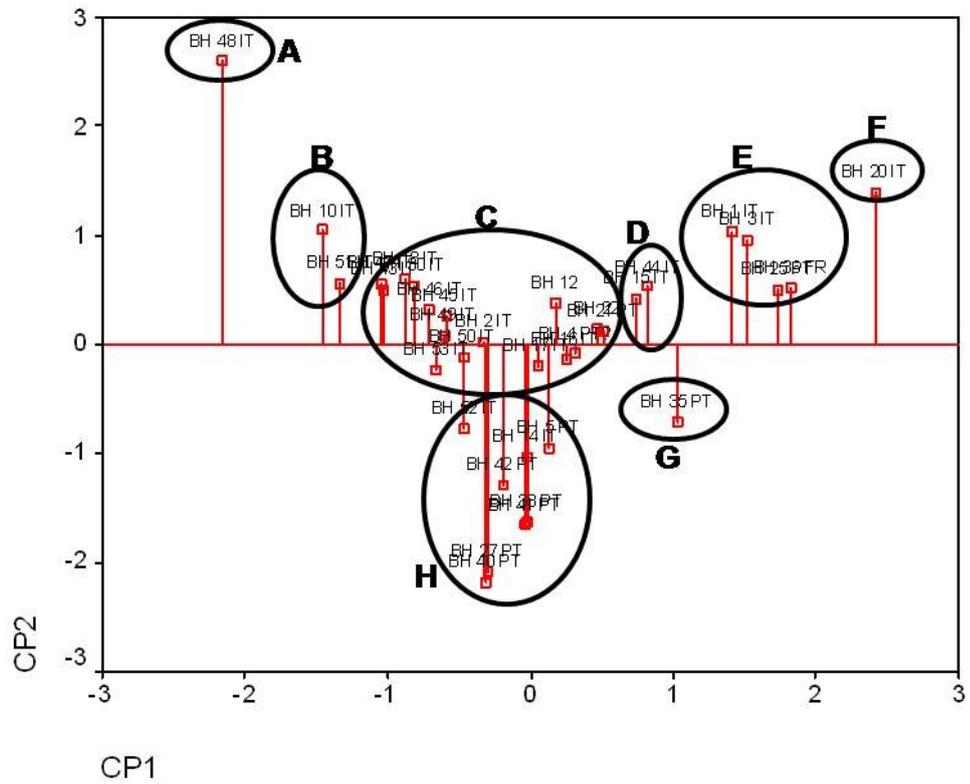


Figura 26 – Distribuzione dei materiali studiati nello spazio descritto dalle due componenti principali

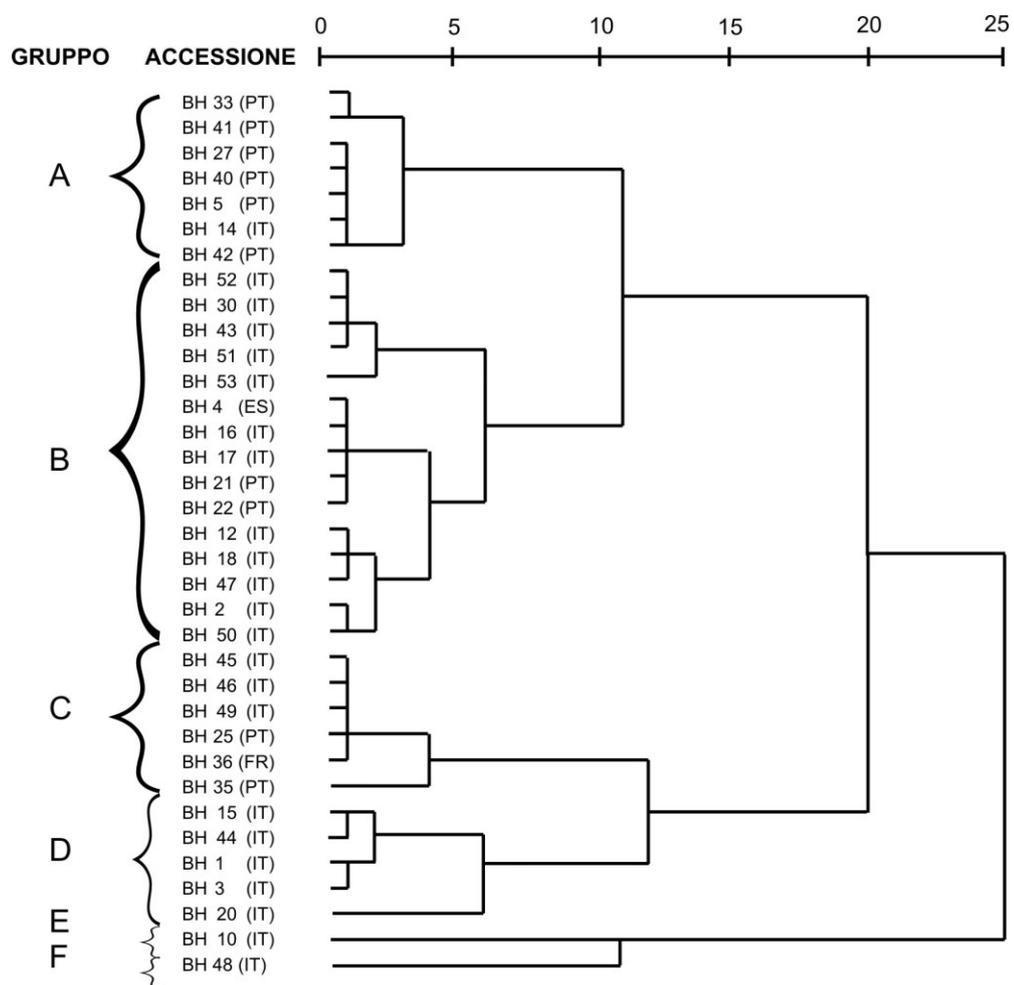


Figura 27 – Classificazione a grappolo dei materiali analizzati

Tabella 30 – Parametri associati e relativi coefficienti di correlazione ($P = 0,01$)

Parametro	Coefficiente di correlazione
SIN vs GIB	0,692
GNA vs PRO	0,679
GST vs GIB	0,751
GST vs SIN	0,621
ALTR vs GBS	0,814
ALTR vs NGBS	0,479
GLST vs GBS	0,862
GLST vs NGBS	0,752
GLST vs ALTR	0,881
ANTO vs CARO	0,534
VITA vs GNA	0,545

Tabella 31 – Percentuale di varianza delle componenti principali individuate con l'analisi dei fattori

Componente	% di varianza	% cumulata
CP1	25,1	25,1
CP2	22,1	47,2
CP3	15,0	62,2
CP4	12,7	74,9
CP5	9,8	84,7
CP6	6,1	90,8
CP7	4,9	95,7
CP8	4,3	100,0

Tabella 32 – Coefficiente di correlazione dei singoli parametri con le componenti principali

Parametri				
	CP1	CP2	CP3	CP4
SIN	-0,138	-0,706	-0,322	0,471
PRO	-0,372	0,508	0,407	0,483
GBS	0,681	-0,122	0,368	-0,150
NGBS	0,742	0,280	0,260	-0,127
CARO	5,362E-02	0,541	-0,698	-0,324
VITA	0,189	0,705	-0,310	0,431
GRA	-0,612	0,355	0,379	-0,113
POLI	0,651	3,332E-02	-1,362E-02	0,473
% VARIANZA	25,1	22,1	15,0	12,7

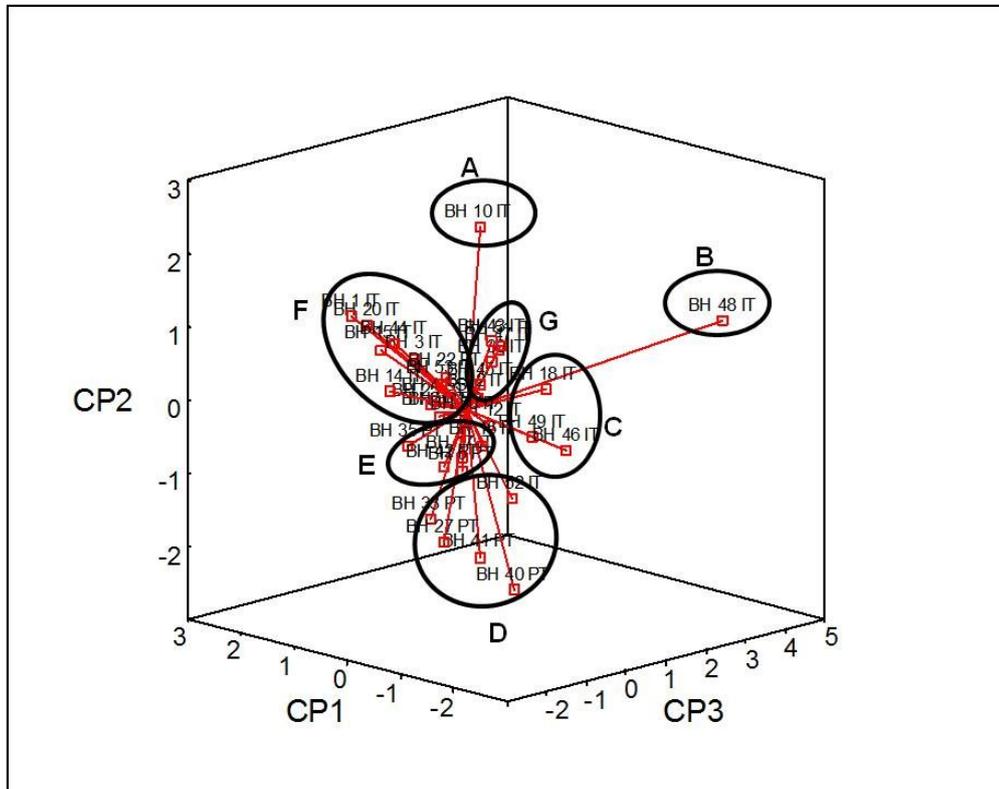


Figura 28 – Distribuzione dei materiali studiati nello spazio descritto dalle prime tre componenti principali

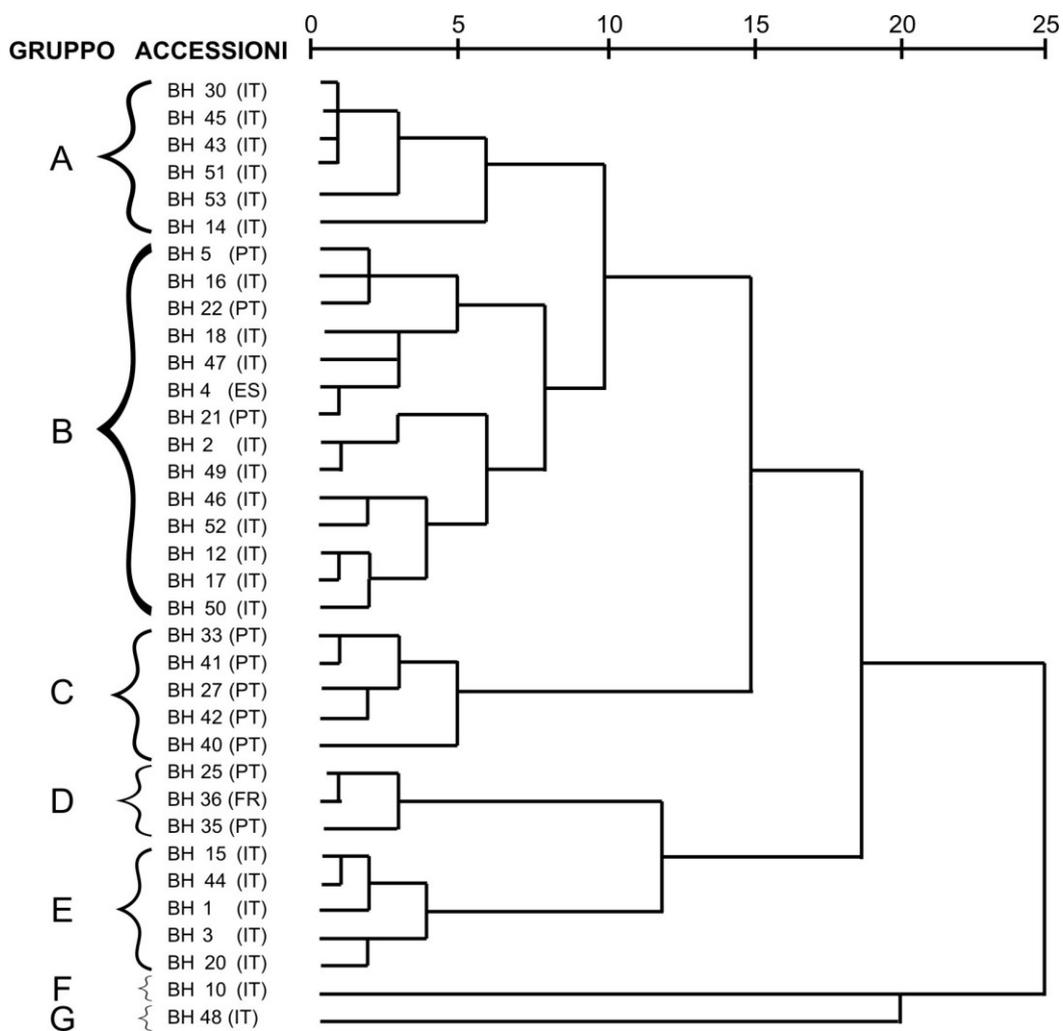


Figura 29 – Classificazione a grappolo dei materiali analizzati

Tabella 33 – Parametri associati e relativi coefficienti di correlazione ($P = 0,01$)

Parametro	Coefficiente di	Parametro	Coefficiente di
ALDI vs STAL	0,810	TRFI vs TREM	0,794
ALDI vs STDI	-0,578	COPE vs TREM	0,468
TREM vs STDI	0,442	POLI vs TRFI	0,470
PIAL vs STAL	0,924	ANTO vs CARO	0,534
PIAL vs ALDI	0,698	VITA vs FGAN	-0,431
FGLA vs FGLU	0,884	GIB vs FGLO	-0,657
FGAG vs ALDI	-0,471	GIB vs PELU	-0,556
FGMA vs FGCO	0,571	GIB vs PECO	-0,708
FGLO vs PIFO	-0,444	GIB vs PIHE	0,505
FGLO vs FGCO	0,653	GRA vs FGLO	0,522
FGLO vs FGMA	0,540	SIN vs FGCO	-0,550
PELU vs FGCO	0,483	SIN vs FGLO	-0,635
PELU vs FGLO	0,696	SIN vs PELU	-0,719
PELA vs PIDI	0,433	SIN vs PELA	-0,508
PELA vs FGLU	0,505	SIN vs PEAL	-0,680
PELA vs FGLA	0,738	SIN vs PECO	-0,752
PELA vs PELU	0,545	SIN vs GIB	0,692
PEAL vs FGLA	0,522	GNA vs STAL	0,443
PEAL vs PELU	0,693	GNA vs ALDI	0,593
PEAL vs PELA	0,898	GNA vs PIDI	-0,441
PECO vs FGCO	0,478	GNA vs FGAG	-0,758
PECO vs FGMA	0,447	GNA vs VITA	0,545
PECO vs FGLO	0,759	GNA vs PRO	0,679
PECO vs PELU	0,652	GBS vs FGLU	0,443
PECO vs PEAL	0,547	NGBS vs FGSE	0,668
PIRA vs PIDI	0,639	NGBS vs UNFI	0,456
PIHE vs FGLU	0,546	GST vs FGLO	-0,527
PIHE vs FGLA	0,559	GST vs PELU	-0,522
PIHE vs FGMA	-0,455	GST vs PECO	-0,586
PIHE vs FGLO	-0,550	GST vs PIHE	0,509
PIHE vs PECO	-0,544	GST vs GIB	0,751
FGNU vs PIDI	0,672	GST vs SIN	0,621
FGNU vs PELU	0,518	ALTR vs FGSE	0,457
FGNU vs PIRA	0,744	ALTR vs GBS	0,814
FGCI vs STDI	0,539	ALTR vs NGBS	0,479
FGCI vs PELA	-0,497	GLST vs FGSE	0,603
FGCI vs PEAL	-0,459	GLST vs GBS	0,862
UNFI vs PELU	0,450	GLST vs NGBS	0,752
TRFI vs STDI	0,466	GLST vs ALTR	0,881

Tabella 34 – Percentuale di varianza delle componenti principali individuate con l'analisi dei fattori

Componente	% di varianza	% cumulata
CP1	15,5	15,5
CP2	14,1	29,6
CP3	12,5	42,1
CP4	9,2	51,3
CP5	8,1	59,4
CP6	7,5	66,9
CP7	5,7	72,6
CP8	5,6	78,2
CP9	4,7	82,9
CP10	4,2	87,1
CP11	3,0	90,1
CP12	2,4	92,5
CP13	2,0	94,5
CP14	1,6	96,1
CP15	1,3	97,4
CP16	1,1	98,6
CP17	0,9	99,5
CP 18	0,6	100,0

Tabella 35 – Coefficiente di correlazione dei singoli parametri con le componenti principali

Parametri	Componenti							
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8
ALDI	-0,552	0,171	0,444	-9,502E-02	-0,305	-0,203	2,430E-02	-0,250
TREM	-0,403	0,292	-7,824E-03	1,999E-02	0,650	0,315	0,183	-0,130
FGLU	0,363	0,619	7,670E-02	0,462	-0,244	-0,128	6,562E-02	0,139
FGMA	4,190E-02	-0,559	0,319	-0,287	0,334	-0,108	0,121	0,439
PELU	0,254	-0,255	0,701	0,417	0,171	6,890E-02	6,774E-03	0,100
PIFO	-0,464	0,481	-0,297	0,222	0,160	8,463E-02	-1,731E-02	0,452
PIDI	0,737	0,175	0,247	0,153	3,511E-02	-3,437E-04	7,131E-02	-9,561E-02
POLI	-0,101	0,529	0,314	-0,220	0,219	0,281	-0,438	-0,280
CARO	-0,158	-0,420	0,469	-0,365	-0,360	0,103	5,114E-02	0,164
VITA	-0,539	-3,673E-02	0,531	-4,217E-02	-1,411E-02	9,998E-02	0,140	8,576E-02
GRA	0,124	-0,686	3,661E-03	0,425	0,300	-3,866E-02	-9,264E-02	-0,247
FGAG	0,692	-0,191	-0,121	-0,116	0,262	0,151	2,486E-02	-0,117
PRO	-0,601	-0,149	0,173	0,567	0,272	-0,165	0,160	-0,165
GBS	0,345	0,555	0,358	-9,052E-02	0,296	-0,242	0,240	0,319
NGBS	0,219	0,287	0,704	-0,137	4,372E-02	8,004E-02	-0,182	-0,145
FGFO	-9,003E-03	9,807E-02	-0,181	-0,616	0,380	-0,227	0,266	-0,190
FGAT	0,115	8,915E-02	2,098E-02	4,917E-02	-0,283	0,478	0,736	-0,232
FGCU	-4,354E-03	-0,115	-6,026E-02	1,496E-02	-4,181E-03	0,823	-0,153	0,244
% VARIANZA	15,5	14,1	12,5	9,2	8,1	7,6	5,7	5,6

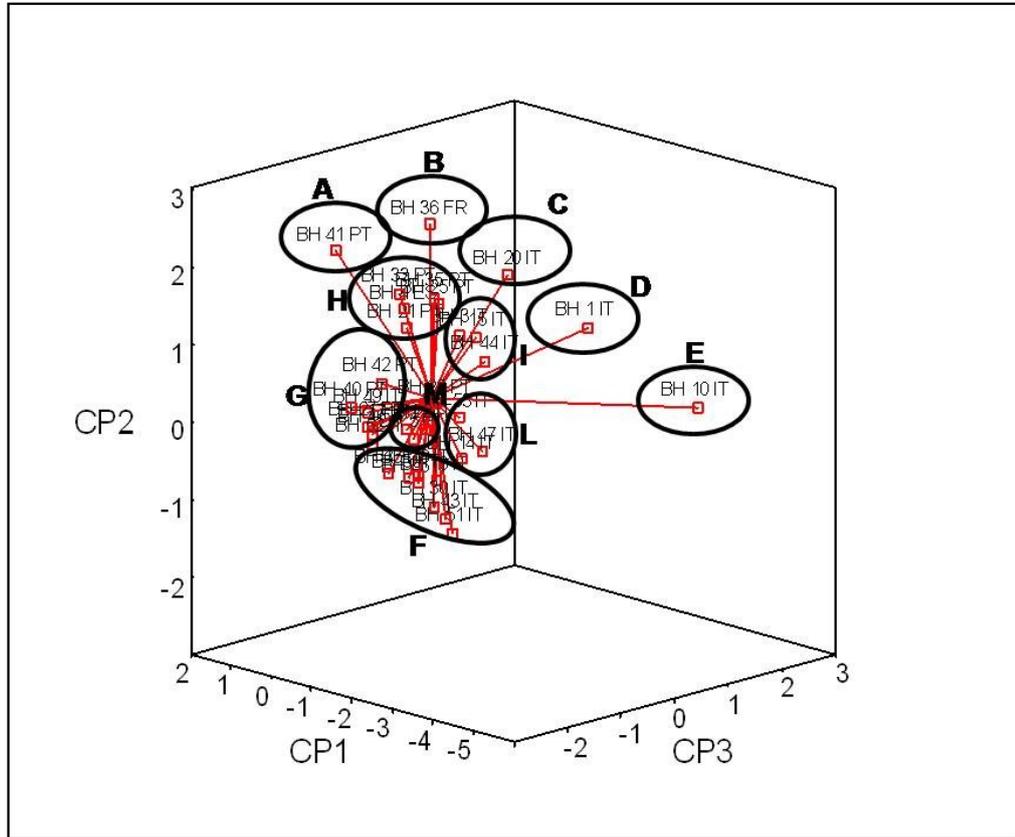


Figura 30 – Distribuzione dei materiali studiati nello spazio descritto dalle prime tre componenti principali

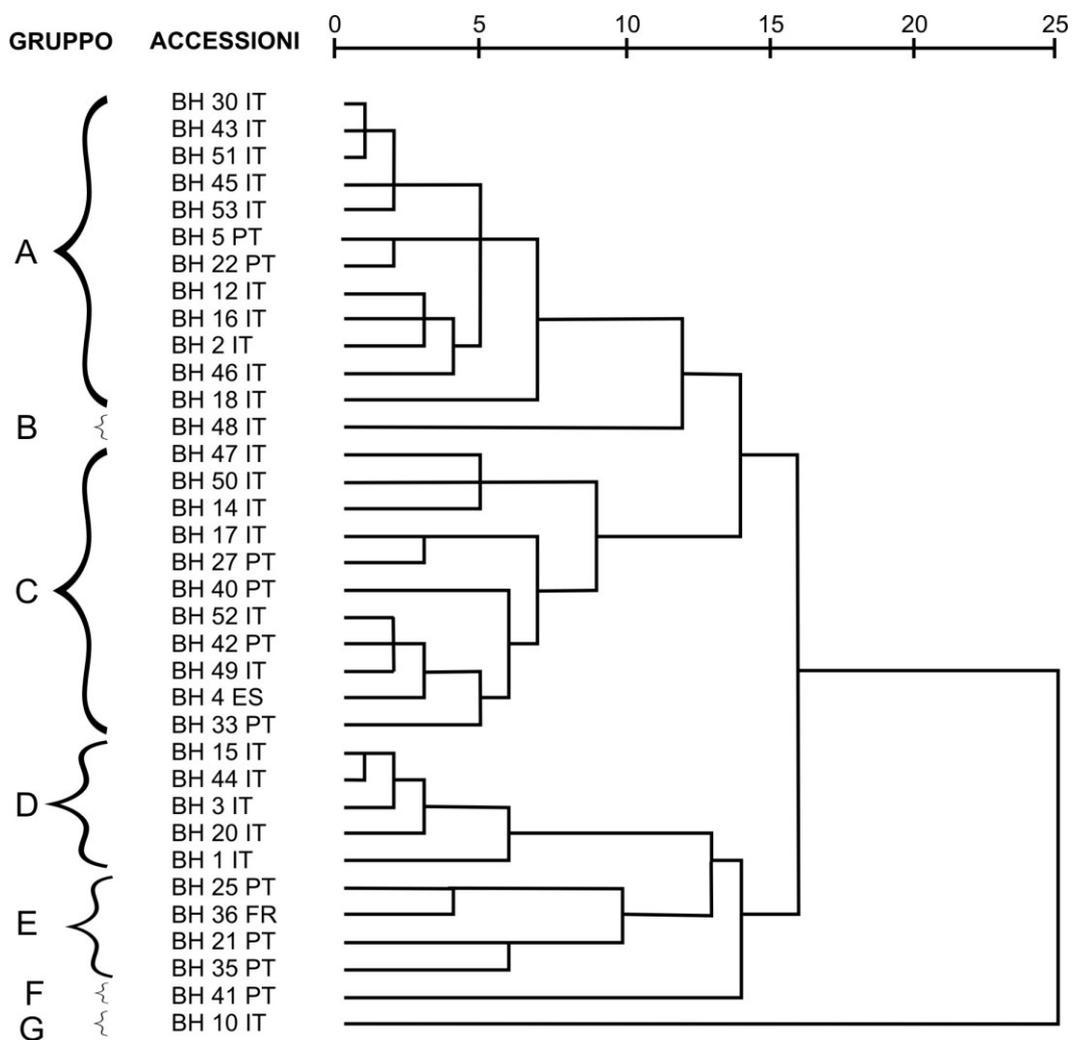


Figura 31 – Classificazione a grappolo dei materiali analizzati

2.2.3. Valutazione agronomica di due tipologie differenziali di cavolo da foglia coltivate in Sicilia

2.2.3.1. Presentazione della problematica

Il cavolo da foglia è coltivato sporadicamente in Sicilia negli orti familiari, e raramente in quelli suburbani, su terreni spesso marginali grazie all'elevato vigore vegetativo della pianta contraddistinta dalle altre colture ortive afferenti a *B. oleracea* per il ciclo biologico perenne anziché annuale. La coltura è spesso rappresentata da un numero limitato di individui dato che la pianta dopo alcuni anni dall'impianto riesce a fornire un gran numero di foglie e di giovani germogli in accrescimento che sono destinati soprattutto all'alimentazione del nucleo familiare. Piccoli impianti sono spesso presenti ai margini dei vigneti di diversi territori collinari e montani dell'Isola, dove la pianta trova condizioni ottimali per l'accrescimento e lo sviluppo. In tali contesti la coltura è spesso relegata in prossimità di scarpate dove grazie al robusto apparato radicale ed al vigore vegetativo della piante consente di limitare i processi di erosione del terreno, consolidando i terreni declivi. Tale funzione è spesso svolta anche negli orti suburbani dove si preferisce relegarla negli appezzamenti di terreno meno fertili e/o scoscesi e solo raramente la si ritrova disposta a file ordinate in appezzamenti pianeggianti, spesso occupati dalle colture annuali più diffuse. Il ciclo colturale si sovrappone spesso a quello biologico negli orti familiari mentre in quelli suburbani diventa annuale in conseguenza dell'elevata intensità colturale per il rapido avvicendamento delle colture negli appezzamenti di terreno coltivati, che permette una maggiore flessibilità dell'offerta in rapporto alla stagione ed alle dinamiche del mercato locale. In tali contesti la coltivazione viene avviata alla fine del periodo estivo fino in primavera, allorquando la pianta avvia la fase riproduttiva che determina lo scadimento qualitativo del prodotto. In rapporto alla destinazione del prodotto ed alla intensità del processo di coltivazione variano sia la densità colturale che la disposizione delle piante. In particolare, le piante vengono disposte negli orti familiari su file singole, spesso isolate tra loro, alla distanza di circa 50 cm sulla fila mentre negli orti suburbani la disposizione delle piante, effettuata su file semplici, presenta densità colturali ben più elevate al fine

di valorizzare al massimo la superficie di terreno occupata dalla coltura. In questi ultimi contesti la pianta non riesce a raggiungere le dimensioni raggiunte negli orti familiari consentendo così di potere infittire molto l'impianto della coltura.

L'ampia variabilità di tipologie di cavolo da foglia che si riscontra in Sicilia, osservata nel corso delle attività svolte nell'ambito della precedente linea di ricerca precedentemente esposta, ha determinato l'opportunità di valutare gli effetti della densità colturale al fine di evidenziare le variazioni dei principali tratti produttivi di tale ortiva al fine di delineare protocolli colturali più efficienti che consentono di migliorare e di standardizzare la qualità del prodotto. In tale ambito sono stati scelti materiali biologici ben differenziati per caratteristiche biomorfologiche e nutraceutiche al fine di potere acquisire utili informazioni ai fini dell'impianto della coltura.

2.2.3.2. Materiali e metodi

Sulla base di alcuni lavori scientifici svolti in precedenza presso il DISPA, della sezione di Ortofloricoltura della Facoltà di Agraria di Catania, nei quali sono stati valutati dal punto di vista bio-morfologico e nutraceutico alcune accessioni appartenenti alla collezione del DISPA, è stata posta l'attenzione su due tipi di tale collezione, differenziati per caratteristiche bio-morfologiche e nutraceutiche, al fine di valutare le variazioni dei principali tratti produttivi della coltura in rapporto alla densità colturale.

In particolare, l'attenzione è stata posta sui tipi siciliani di cavolo da foglia BH 10, coltivato nel comune di Polizzi Generosa (PA) e denominato Cavolo riccio, e BH 14, coltivato ad Acireale (CT) e denominato Cavolo nero, che presentano tratti bio-morfologici e nutraceutici distintivi, come già discusso nella precedente linea di ricerca. Il BH 10 si contraddistingue per un elevato rapporto tra la dimensione longitudinale e trasversale del fusto, per la forma colonnare e per la maggiore durata della fase vegetativa della pianta, per maggiori dimensioni longitudinali della foglia e del peziolo, e per un modesto numero di foglie presenti sul fusto principale rispetto al BH 14 che presenta la forma a cupola della pianta (fig. 31). Inoltre, i due tipi presentano livelli dei composti antiossidanti allo studio abbastanza simili e si distinguono soprattutto per il profilo dei composti glucosinolati; il BH10 è caratterizzato per l'assenza di glucorafanina e sinigrina, elevate quantità di progoitrina e di gluconapina, e modeste quantità di glucobrassicina, mentre il BH14 si contraddistingue per l'assenza di gluconapina e progoitrina, e modeste quantità di glucorafanina, sinigrina e glucobrassicina (fig. 31). Tra l'altro, anche il ciclo biologico è apparso differenziato in quanto il BH 10 presenta un ciclo annuale mentre il BH 14 è perenne, come comunemente accade per i diversi tipi di cavolo da foglia normalmente diffusi in coltura.

Sulla base di queste ultime indicazioni la presente linea di ricerca è stata articolata in due prove sperimentali ciascuna delle quali ha preso in considerazione separatamente i due tipi siciliani di cavolo da foglia individuati.

La prima prova ha preso in considerazione il BH 14 al fine di evidenziare i principali tratti produttivi della coltura e le principali caratteristiche del prodotto. Il fattore sperimentale preso in considerazione è stata la densità colturale. Lo

schema sperimentale adottato è stato a blocchi randomizzati, con quattro ripetizioni di 10 piante ciascuna. La semina è stata eseguita in contenitori alveolati nell'ottobre del 2009 (prima della collezione) e le piante sono state trapiantate nel dicembre dello stesso anno presso l'ASA. Le piante sono state disposte su file semplici, alla distanza di 0,6 m tra le file e di 0,8 m sulla fila per la densità colturale di 2,1 piante m⁻², alla distanza di 0,6 m tra le file e di 0,4 m sulla fila per la densità colturale di 4,2 piante m⁻², alla distanza di 0,6 m tra le file e di 0,2 m sulla per realizzare la densità colturale di 8,3 piante m⁻². Per tutta la durata del ciclo colturale le piante di cavolo da foglia sono state coltivate adottando le consuete cure colturali adottate per la coltivazione di colture di *B. oleracea*. Al fine di consentire un adeguato accrescimento alla pianta, la prima raccolta è stata effettuata prima dell'emergenza dell'infiorescenza e le successive raccolte hanno preso in considerazione i germogli originati all'ascella delle foglie, posti su ramificazioni di ordine crescente, della dimensione longitudinale superiore ai 20 cm.

I germogli raccolti sono stati caratterizzati, rilevando il peso fresco ed il corrispondente residuo secco, la dimensione longitudinale e trasversale, ed il numero di foglie. Sulla base dei dati raccolti è stata calcolata la produzione unitaria di germogli e la resa della coltura in rapporto alle densità colturali allo studio.

La seconda prova ha preso in considerazione il tipo BH10 al fine di evidenziare i principali tratti produttivi della coltura e le principali caratteristiche del prodotto. I fattori sperimentali allo studio sono stati l'anno di produzione e la densità colturali. Lo schema sperimentale adottato è stato a parcelle suddivise, conferendo l'anno di produzione alla parcella, e la densità alla sub-parcella, con quattro ripetizioni di 10 piante ciascuna. La semina è stata eseguita in contenitori alveolati in entrambi gli anni nel mese di ottobre ed il trapianto è stato realizzato durante il mese di dicembre presso l'ASA. A tale scopo le piante sono state disposte su file semplici, alla distanza di 0,6 m tra le file e di 0,8 m sulla fila per la densità colturale di 2,1 piante m⁻², alla distanza di 0,6 m tra le file e di 0,4 m sulla fila per la densità colturale di 4,2 piante m⁻², alla distanza di 0,6 m tra le file e di 0,2 m sulla per realizzare la densità colturale di 8,3 piante m⁻². Per tutta la durata del ciclo colturale le piante sono state coltivate adottando le consuete cure

colturali adottate per la coltivazione di colture di *B. oleracea*. Al fine di consentire un adeguato accrescimento alla pianta, la prima raccolta è stata effettuata prima dell'emergenza dell'infiorescenza e le successive raccolte hanno preso in considerazione i germogli originati all'ascella delle foglie, posti su ramificazioni di ordine crescente, della dimensione longitudinale superiore ai 20 cm.

I dati dei principali parametri climatici sono stati forniti dal Servizio Informativo Agrometeorologico Siciliano (SIAS) della Regione Siciliana.

I dati acquisiti per i principali parametri produttivi e del germoglio sono stati sottoposti ad ANOVA al fine di evidenziare le differenze minime significative tra le tesi a confronto.

2.2.3.4. Risultati e discussione

L'andamento del decorso termico durante il biennio di prove ha fatto registrare variazioni della temperatura minima comprese tra 9,7 °C e 24,8 °C e delle temperature massime comprese tra 17,6 °C e 39,1 °C, facendo evidenziare i livelli termici più freddi dalla terza decade di dicembre alla prima di febbraio, mentre le temperature più elevate hanno riguardato i mesi di luglio e di agosto (fig. 32). Ciò chiaramente è stato condizionato principalmente dalla radiazione solare i cui valori minimi hanno oscillato da 0,6 a 24,8 MJ m⁻² mentre per quelli massimi le variazioni sono state comprese tra 9,8 e 28,4 MJ m⁻² (fig. 33). Durante il biennio le precipitazioni complessive sono state di circa 700 mm facendo evidenziare le quantità più elevate durante le stagioni autunnali ed invernali mentre nel periodo estivo non sono state rilevate quantità apprezzabili (fig. 34).

Con riferimento al BH 14 la prima raccolta è stata realizzata nel maggio 2010, provvedendo a rimuovere la porzione apicale del fusto principale, ovvero cimando la porzione apicale della pianta per circa 20 cm. Le successive raccolte sono state effettuate alla ripresa vegetativa autunnale, che è seguita al periodo di riposo alla quale la pianta è andata incontro nella stagione estiva, durante i mesi di ottobre e dicembre del 2010, e febbraio e aprile 2011. Nel complesso la produzione di germogli registrata per pianta è apparsa più elevata, nella media delle densità colturali allo studio, per la raccolta finale di aprile e per quella di ottobre nell'ordine (tab. 36). Tale andamento è stato registrato per tutte le densità allo studio anche se i valori più elevati sono stati accertati per le densità colturali più basse per via della minore competizione instauratasi tra le piante poste a coltura (tab. 36). La produzione unitaria totale è variata significativamente in rapporto alla densità colturale tra 1291 e 1899 g, rispettivamente per la densità colturale più elevata e quella più modesta (tab. 36); in ogni caso la produzione unitaria complessivamente ottenuta per le due densità colturali più elevate non è apparsa significativamente differente come del resto non appare differente il corrispondente andamento delle produzioni cumulate (fig. 35; tab. 36).

La resa di giovani germogli e foglie è variata significativamente in rapporto alla densità colturale passando da 3981,9 g m⁻², a 7177,2 g m⁻² ed a 10715,3 g m⁻², rispettivamente per le densità 2,1 piante m⁻², 4,2 piante m⁻² e 8,3 piante m⁻²

(tab. 37). La resa ottenuta con densità colturale più elevata è variata significativamente rispetto a quanto osservato alla densità media dopo circa un anno dal trapianto (fig. 36; tab. 37).

Con riferimento alle principali caratteristiche morfobiometriche del germoglio non sono state accertate variazioni di rilievo in rapporto alla densità colturale probabilmente a causa della variabilità osservata tra i diversi genotipi della cultivar e della posizione della pianta dalla quale hanno preso origine (tab. 38). Nella media delle densità allo studio il germoglio ha presentato il peso di 95,2 g , la dimensione longitudinale e trasversale rispettivamente di 24,1 cm e 19,9 mm, e un numero di foglie pari a 10,8 (tab. 38).

Con riferimento al tipo di cavolo da foglia BH 10 nel complesso è stata osservata una contrazione significativa della produzione rispetto al tipo BH 14. Tra l'altro le piante non sono sopravvissute alla stagione estiva per effetto probabilmente della loro particolare sensibilità alle elevate temperature che hanno caratterizzato i mesi di luglio e di agosto (fig. 32; tab. 39).

Con riferimento alla produzione unitaria sono state osservate interazioni significative tra l'anno di produzione e la densità colturale, ed i corrispondenti valori hanno variato da 24,5 g a 99,3 g, rispettivamente per la raccolta del II anno alla densità colturale di 8,3 piante m⁻² e per la raccolta del I anno alla densità di 2,1 piante m⁻² (tab. 39). Nel complesso anche se nel primo anno la produzione unitaria è apparsa più elevata rispetto al secondo anno, le variazioni osservate per tale parametro sono apparse più variabili nel primo anno rispetto al secondo (tab. 39). Ciò probabilmente è da ricondurre ai più elevati livelli termici e radiativi che sono stati registrati durante la fase di accrescimento della pianta nel primo anno rispetto al secondo (figg. 32,33; tab. 39).

La resa del tipo BH 10 ha fatto osservare anch'essa una significativa interazione tra l'anno di produzione e la densità colturale in quanto il valore più elevato, pari a 631,2 g m⁻², è stato osservato al primo anno per la densità di 8,3 piante m⁻² mentre quello più modesto, pari a 62,4 g m⁻², è stato registrato in corrispondenza del secondo anno di prova per l'investimento unitario di 2,1 piante m⁻². Anche in questo caso i valori più modesti sono stati osservati nel secondo anno probabilmente a causa della stagione invernale più rigida osservata nel 2010 rispetto al 2011 (fig. 32; tab. 40). La resa ha fatto accertare,

nella media dei due anni allo studio, variazioni comprese tra 135,4 g m⁻² a 417,2 g m⁻², rilevate rispettivamente per le densità colturali 2,1 piante m⁻² e 8,3 piante m⁻² (tab. 40).

Il peso fresco del germoglio del BH 10 ha fatto accertare variazioni significative sia in rapporto all'anno di produzione che alla densità colturale. In particolare i valori del peso fresco sono variati da 27,8 g a 15,3 g, rispettivamente per il primo ed il secondo anno, e da 19,9 g a 24,1 g, rispettivamente gli investimenti unitari pari a 8,3 piante m⁻² ed a 2,1 piante m⁻² (tab. 41).

Per quanto riguarda le dimensioni del germoglio del tipo BH 10, non sono state accertate variazioni significative per quella trasversale mentre quella longitudinale ha fatto accertare valori significativamente più elevati nel secondo anno rispetto al primo (tabb. 42,43).

Il numero di foglie presenti nel germoglio del tipo BH 10 sono state condizionate dall'interazione tra i due fattori sperimentali allo studio, in quanto i corrispondenti valori sono variati da 8,3, per i germogli raccolti nel primo anno alla densità colturale di 2,1 piante m⁻², a 5,2 per quelli raccolti nel secondo anno nell'investimento unitario di 4,2 piante m⁻² (tab. 44).

Il residuo secco del germoglio del tipo BH 10 non ha fatto osservare variazioni significative in rapporto ai fattori sperimentali allo studio, variando da 11,6% a 12,4%, rispettivamente per i germogli raccolti al secondo anno alla densità colturale di 2,1 piante m⁻² e quelli raccolti nel primo anno alla densità di 4,2 piante m⁻² (tab. 45).

Nel complesso la presente linea di ricerca ha permesso di approfondire le caratteristiche produttive di due tipi siciliani di cavolo da foglia che già sulla base della caratterizzazione dei principali tratti bio-morfologici e nutraceutici della collezione del DISPA apparivano abbastanza diversificati. In particolare, il BH 10 è apparso nettamente differenziato rispetto alle diverse tipologie di cavolo da foglia siciliane per ciclo biologico, *habitus* della pianta, per dimensioni e forma della foglia e del peziolo, per l'elevato contenuto in progroitrina e gluconapina, e l'assenza di glucorafanina e sinigrina, per produttività di germogli e caratteristiche degli stessi.

Dal punto di vista agronomico appare più interessante il tipo BH 14 che condivide molte caratteristiche bio-morfologiche e nutrizionali delle diverse

tipologie di cavolo da foglia diffuse in Sicilia e analizzate nell'ambito della linea di ricerca illustrata in precedenza.

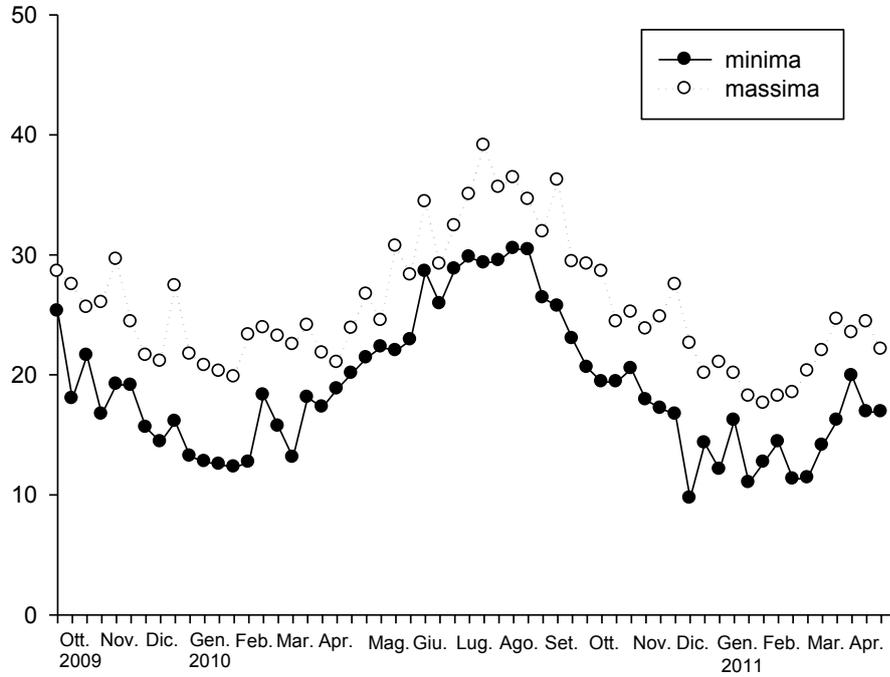


Figura 32 - *Decorso della temperatura minima e massima decadica dell'aria nel corso delle prove sperimentali (°C)*

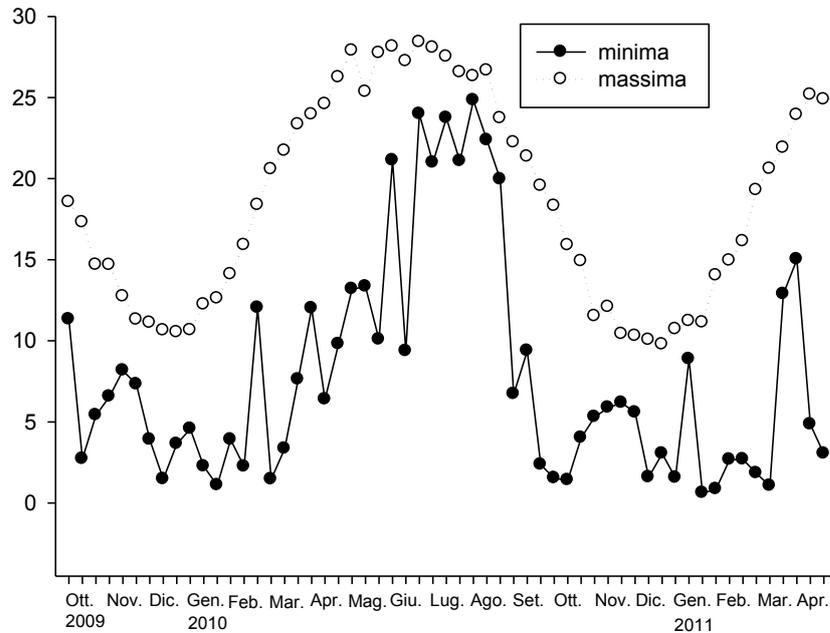


Figura 33 - *Decorso della radiazione solare decadica minima e massima nel corso delle prove sperimentali (MJ mq⁻¹)*

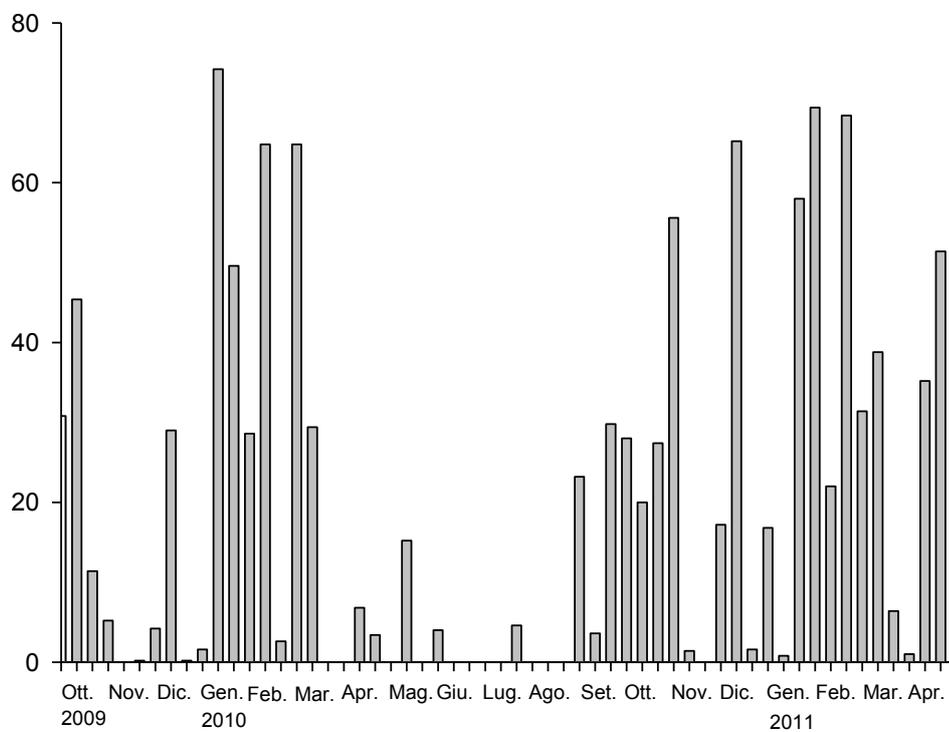


Figura 34 - Precipitazioni decadiche nel corso delle prove sperimentali (mm)

Tabella 36 – Produzione unitaria del tipo BH 14 in rapporto alla densità colturale ed alle singole raccolte (g pianta⁻¹)

Densità (piante m ⁻²)	Raccolte 2010			Raccolte 2011		Totale
	Maggio	Ottobre	Dicembre	Febbraio	Aprile	
2,1	100,7	560,0	373,3	253,0	630,0	1899,0
4,2	94,8	564,0	376,0	182,5	487,5	1708,8
8,3	86,0	315,0	210,0	157,5	522,5	1291,0
Media	93,8	479,7	319,8	197,7	546,7	

	D.M.S.	
	P=0,05	P=0,01
Densità	344,3	521,6

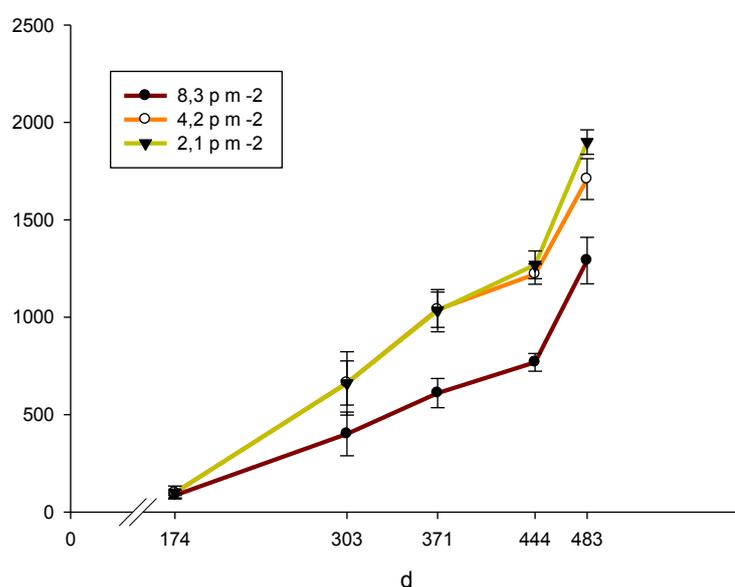


Figura 35 - Produzione unitaria cumulata in rapporto alla densità colturale (g m⁻²)

Tabella 37 – Resa del tipo BH 14 in rapporto alla densità colturale ed alle singole raccolte ($g\ m^{-2}$)

Densità (piante m^{-2})	Raccolte 2010			Raccolte 2011		Totale
	Maggio	Ottobre	Dicembre	Febbraio	Aprile	
2,1	211,4	1176,0	784,0	493,5	1323,0	3987,9
4,2	415,1	2368,8	1579,2	766,5	2047,5	7177,2
8,3	713,8	2614,5	1743,0	1307,3	4336,8	10715,3
Media	446,8	2053,1	1368,7	855,8	2569,1	

D.M.S.		
	P=0,05	P=0,01
Densità	1076,4	1630,9

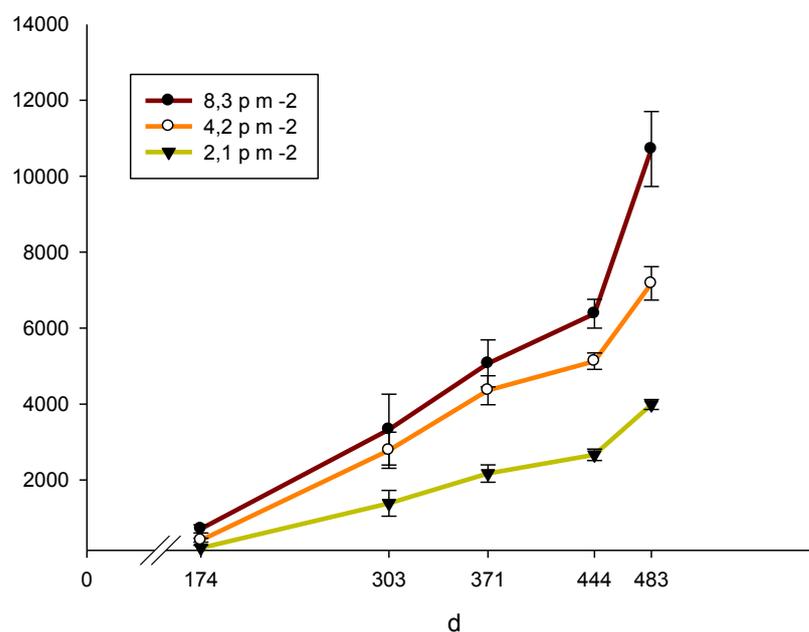


Figura 36 - Resa cumulata in rapporto alla densità colturale ($g\ m^{-2}$)

Tabella 38 – Principali caratteristiche dei germogli del tipo BH 14 in rapporto alla densità colturale

Densità (piante m ⁻²)	Peso fresco (g)	Dimensione		Foglie (n)
		trasversale (mm)	longitudinale (cm)	
2,1	100,7	20,8	23,1	11,5
4,2	98,8	19,5	24,6	11,0
8,3	86,0	19,3	24,7	9,9
Media	95,2	19,9	24,1	10,8

D.M.S.

	Peso fresco		Diametro fusto		Altezza		Foglie	
	P=0,0 5	P=0,0 1	P=0,0 5	P=0,0 1	P=0,0 5	P=0,0 1	P=0,0 5	P=0,0 1
Densità	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabella 39 – Produzione unitaria del tipo BH 10 in rapporto alla densità colturale ed all'anno di raccolta (g pianta⁻¹)

Densità (piante m ⁻²)	I anno	II anno	Media
	Marzo	Marzo	
2,1	99,3	29,7	64,5
4,2	86,3	29,2	57,8
8,3	76,04	24,5	50,3
Media	87,2	27,8	

D.M.S.

	P= 0,05	P= 0,01
Anno (A)	4,5	6,2
Densità (D)	5,5	7,6
A x D	7,7	10,7

Tabella 40 – Resa del tipo BH 10 in rapporto alla densità colturale ed all'anno di raccolta (g m⁻²)

Densità (piante m ⁻²)	I anno	II anno	Media
	Marzo	Marzo	
2,1	208,5	62,4	135,4
4,2	362,4	122,7	242,6
8,3	631,2	203,2	417,2
Media	400,7	129,4	

D.M.S.

	P= 0,05	P= 0,01
Anno (A)	27,8	38,4
Densità (D)	34,0	47,0
A x D	48,1	66,5

Tabella 41 – Peso fresco del germoglio raccolto dal tipo BH 10 in rapporto alla densità colturale (g)

Densità (piante m ⁻²)	I anno	II anno	Media
2,1	31,9	16,2	24,1
4,2	26,5	14,8	20,7
8,3	24,9	14,9	19,9
Media	27,8	15,3	

D.M.S.

	P= 0,05	P= 0,01
Anno (A)	1,9	2,6
Densità (D)	2,3	3,2
A x D	n.s.	n.s.

Tabella 42 – Dimensione trasversale del germoglio raccolto dal tipo BH 10 in rapporto alla densità colturale (mm)

Densità (piante m ⁻²)	I anno	II anno	Media
2,1	6,1	6,1	6,1
4,2	6,0	5,5	5,8
8,3	5,6	7,6	6,6
Media	5,9	6,4	

D.M.S.

P= 0,05

P= 0,01

Anno (A)

n.s.

n.s.

Densità (D)

n.s.

n.s.

A x D

n.s.

n.s.

Tabella 43 – Dimensione longitudinale del germoglio raccolto dal tipo BH 10 in rapporto alla densità colturale (cm)

Densità (piante m ⁻²)	I anno	II anno	Media
2,1	21,3	25,8	23,6
4,2	21,0	24,8	22,9
8,3	21,4	25,0	23,2
Media	21,2	25,2	

D.M.S.

P= 0,05

P= 0,01

Anno (A)

1,0

1,4

Densità (D)

n.s.

n.s.

A x D

n.s.

n.s.

Tabella 44 – Foglie presenti nel germoglio del BH 10 in rapporto alla densità colturale (n)

Densità (piante m ⁻²)	I anno	II anno	Media
2,1	8,3	5,5	6,9
4,2	8,0	5,2	6,6
8,3	7,0	6,0	6,5
Media	7,8	5,5	

D.M.S.

	P= 0,05	P= 0,01
Anno (A)	0,4	0,6
Densità (D)	n.s.	n.s.
A x D	0,7	0,9

Tabella 45 – Residuo secco del germoglio del BH 10 in rapporto alla densità colturale (%)

Densità (piante m ⁻²)	I anno	II anno	Media
2,1	11,8	11,6	11,7
4,2	12,4	11,8	12,1
8,3	11,8	11,7	11,8
Media	12,0	11,7	

D.M.S.

	P= 0,05	P= 0,01
Anno (A)	n.s.	n.s.
Densità (D)	n.s.	n.s.
A x D	n.s.	n.s.

2.2.4. Valutazione delle principali caratteristiche del cavolo da foglia prodotto in IV gamma in rapporto ad alcune variabili di processo

2.2.4.1 Presentazione della problematica

Le pregiate caratteristiche dei germogli di cavolo da foglia consentono di individuare per tale coltura ortiva negletta un potenziale prodotto innovativo da inserire nel mercato. La sua richiesta è piuttosto sostenuta nelle regioni centro-settentrionali del nostro Paese mentre rimane piuttosto occasionale nelle rimanenti regioni meridionali dove la coltura non è specializzata ma relegata soprattutto negli orti familiari e raramente in quelli suburbani.

La particolare struttura organografica del prodotto, come abbiamo detto in precedenza, condiziona la rapida perdita dell'acqua presente nei tessuti della foglia che determina il progressivo avvizzimento della stessa ed un peggioramento delle caratteristiche qualitative del germoglio. Tali inconvenienti hanno determinato, come già detto in precedenza, la diffusione del prodotto solo nei mercati locali anche se le moderne tecnologie di trasformazione di IV consentono di individuare nuove strategie per il rilancio e la valorizzazione di tale coltura. Per tali motivi il prodotto è ancora poco diffuso, essendo conosciuto soprattutto a livello amatoriale, ma l'ulteriore ampliamento della superficie coltivata necessita di ulteriori approfondimenti non solo per poter gestire meglio la fase di post-raccolta del prodotto ma anche per definire protocolli di coltivazione più efficienti. La predisposizione di un adeguato quadro di riferimento che prenda in considerazione i diversi segmenti della filiera produttiva consentiranno di potere disporre in tempi brevi di un prodotto innovativo che soddisfi le nuove richieste del consumatore, sempre più attento agli aspetti qualitativi con particolare riferimento a quelli salutistici.

La caratterizzazione dei principali tipi di cavolo da foglia diffusi in coltura in Europa, con particolare attenzione a quelli posti in coltura nella penisola iberica ed in quella italiana, attuata con le due linee di ricerca precedentemente illustrate e discusse, ha permesso di delineare il quadro generale della diversità disponibile per tale ortiva e di individuare le tipologie che meglio soddisfano le esigenze del consumatore.

Le nuove tecnologie di IV gamma messe a punto negli ultimi decenni consentono di migliorare notevolmente la qualità del prodotto durante la fase di post-raccolta, offrendo nuove prospettive a diverse colture ortive il cui prodotto è rappresentato dagli organi vegetativi della pianta, come nel caso della lattuga, della rucola, etc.

Tra le varianti di processo che sembrano esercitare effetti significativi sulle caratteristiche post-raccolta del prodotto, attenuando le variazioni della qualità, emergono la temperatura e l'atmosfera di conservazione.

La temperatura, infatti, gioca un ruolo importante nelle variazioni dei ritmi dei principali processi metabolici, quali la fotosintesi e la respirazione, che condizionano direttamente la qualità degli organi vegetativi della pianta. Tra questi la respirazione sembra essere il processo che condiziona maggiormente il mantenimento delle caratteristiche della foglia mentre il processo fotosintetico è fortemente attenuato in conseguenza dei modesti livelli di radiazione luminosa alla quale il prodotto è esposto in fase post- raccolta.

2.2.4.2. Materiali e metodi

Questa linea di ricerca è stata condotta nell'annata agraria 2010/2011 utilizzando i germogli di cavolo da foglia ottenuti nell'ambito della linea di ricerca precedentemente illustrata, realizzata presso l'ASA (37°27' N, 15°4' E, 10 m s.l.m.), mentre per il confezionamento e la conservazione del prodotto si è fatto riferimento alla sezione di Catania dell'Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo (ISAFOM) del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

Nel complesso sono state condotte le seguenti quattro prove sperimentali:

- 1) Per la prima prova sono stati utilizzati i germogli del tipo BH 14, Cavolo nero coltivato ad Acireale (CT). Il fattore allo studio è stato rappresentato dalla temperatura di conservazione, che è variata da 0°, a 4° e 8°C. I campioni sono stati raccolti il 21 febbraio 2011. Circa 300 g di germogli sono stati ripuliti in laboratorio e conservati in sacchetti per alimenti in PET12/EVOH5/PE65 chiusi ermeticamente mediante sigillatrice prima di porli in un armadio termico alla temperatura di 0° C, 4°C o di 8°C. Per ciascuna temperatura di conservazione sono stati poste 4 confezioni, che rappresentano altrettante ripetizioni;
- 2) Per la seconda prova sono stati utilizzati i germogli del tipo BH 14 raccolti l'1 aprile 2011 per valutare gli effetti dell'atmosfera modificata sulle variazioni delle principali caratteristiche del prodotto. A tale scopo è stato predisposto uno schema sperimentale a parcelle suddivise, ed i fattori sperimentali allo studio sono stati rappresentati dalla temperature di conservazione (parcella principale) e l'atmosfera modificata (sub-parcella); ciascuna tesi è stata rappresentata da quattro ripetizioni. In particolare, sono state prese in considerazione tre livelli termici, 0°, 4° e 8°C, e cinque miscele di atmosfera modificata (MAP), quali atmosfera ambiente (M1), 70%N₂-30%CO₂ (M2), 50%N₂- 50%CO₂ (M3), 100% N₂ (M4) e 100% CO₂ (M5). Ciascuna confezione, rappresentata da buste per alimenti in

PET12/EVOH5/PE65, è stata riempita con 300 g di germogli, preventivamente sottoposti a mondatura e cernita, che successivamente è stata sigillata ermeticamente a caldo dopo l'inserimento delle diverse miscele di gas. Le confezioni così ottenute, che rappresentano le singole ripetizioni, sono state successivamente poste per una settimana nei diversi armadi termostatati alla temperatura di 0° C, 4°C o di 8°C;

- 3) Per la terza prova è stato studiato l'effetto dell'epoca di raccolta sulle principali caratteristiche dei germogli del tipo di cavolo da foglia BH 14 utilizzando la combinazione migliore di temperatura (4°C) e MAP (70%N₂-30%CO₂) di conservazione emersa dalla prova precedente. A tale scopo sono stati utilizzati i germogli raccolti l'1 ed il 10 aprile e ciascuna confezione, rappresentata da buste per alimenti in PET12/EVOH5/PE65, è stata riempita con 300 g di germogli, preventivamente sottoposti a mondatura e cernita, che successivamente è stata sigillata ermeticamente a caldo dopo l'inserimento della miscela di gas. Le confezioni così ottenute, che rappresentano le singole ripetizioni, sono state successivamente poste per una settimana in un armadio termostatato alla temperatura di 4°C .
- 4) Per la quarta prova sono stati utilizzati i germogli del tipo BH 10 per valutare gli effetti dell'atmosfera modificata sulle variazioni delle principali caratteristiche del prodotto. I fattori sperimentali studiati sono stati la temperatura e l'atmosfera modificata, sulla base di uno schema sperimentale a parcelle suddivise, conferendo alla parcella principale la temperatura di conservazione ed alla sub-parcella la miscela di atmosfera modificata; a tale scopo sono stati valutati tre livelli termici, 0°C, 4°C e 8°C , e tre MAP, quali atmosfera ambiente (M1), 70%N₂-30%CO₂ (M2), 100% CO₂ (M3). Ciascuna confezione, rappresentata da buste per alimenti in PET12/EVOH5/PE65, è stata riempita con 300 g di germogli, preventivamente sottoposti a mondatura e cernita, che successivamente è stata sigillata

ermeticamente a caldo dopo l'inserimento delle diverse miscele di gas. Le confezioni così ottenute, che rappresentano le singole ripetizioni, sono state successivamente poste per una settimana nei diversi armadi termostatati alla temperatura di 0° C, 4° C o di 8° C;

Per tutte le prove sperimentali, all'inizio della prova (Tempo 0) e poi, dopo tre e sette giorni, sono stati rilevati per ciascuna ripetizione i seguenti parametri: peso fresco (g), percentuale di ossigeno e di anidride carbonica nell'atmosfera della confezione, parametri cromatici $L^*a^*b^*$, e residuo secco. La percentuale di ossigeno e anidride carbonica è stata rilevata con il DAN Sensor previa taratura dello strumento in sacchetto di PET12/EVOH5/PE65 vuoto. I parametri cromatici sono stati rilevati mediante il colorimetro Minolta CR 300 sulla base del sistema L^* , a^* e b^* (C.I.E., 1976) per il quale L^* indica la luminosità (indice di bruno), a^* l'asse verde-rosso (indice di rosso) e b^* l'asse blu-giallo (indice di giallo). In considerazione delle ampie fluttuazioni che i valori di L^* , a^* e b^* fanno registrare, di norma, si riporta, quale indice di colore, anche il rapporto a/b (tinta/cromo) che esprime, con maggiore attendibilità e con variabilità più contenuta fra le osservazioni effettuate, l'intensità della colorazione rossa. Infatti, tanto più il valore del rapporto sarà alto, maggiormente dominante risulterà il colore rosso.

Un campione di circa 200 g di germogli è stato posto in stufa termoventilata alla temperatura di 75° C, fino al raggiungimento del peso costante (Lotti e Galoppini, 1980). L'umidità è stata calcolata come segue:

$$Umidità(\%) = \frac{a-b}{a} * 100$$

dove a rappresenta il peso fresco del campione e b il peso del campione essiccato.

Tutti i dati sono stati elaborati statisticamente con ANOVA, Il test di Barlett è stato utilizzato per studiare l'omogeneità della varianza. In caso di 'F' significativo, le medie le medie sono state statisticamente separate con il test di Student-Newmann-Keuls (Snedecor e Cochran, 1989).

2.2.4.3. Risultati e discussioni

Con riferimento alla prima prova sperimentale, il processo di respirazione del cavolo da foglia conservato fino a 7 giorni è stato misurato avvalendoci delle variazioni della quantità di ossigeno e di anidride carbonica presente nella confezione sigillata durante il periodo di conservazione in rapporto al momento del confezionamento, cioè al tempo zero. Nella media dei giorni di conservazione il maggior consumo di ossigeno, pari all'8,6 %, è stato registrato alla temperatura di 8°C, a cui ha corrisposto una maggiore produzione di anidride carbonica, pari al 10,1% (fig. 37).

In figura 37 sono riportati i risultati concernenti la variazione del contenuto di ossigeno consumato e di anidride carbonica prodotta dal tipo BH 14 in relazione alle temperature di stoccaggio. Al tempo zero non sono state riscontrate differenze significative tra le tre temperature allo studio. Dopo tre e sette giorni sono state evidenziate differenze significative della percentuale di ossigeno e di anidride carbonica presente nella confezione (tab. 46; fig. 37). In particolare, la percentuale di ossigeno presente nella confezione è oscillata dopo tre giorni tra un valore minimo del 7,8 % registrata alla temperatura di 8°C ed un valore massimo del 14,3% osservato a 4°C (fig. 37). Alla temperatura di 0°C la percentuale di ossigeno presente nella confezione dopo tre giorni è apparsa pari all'11,6%, e tale valore è rimasto pressoché invariato dopo 7 giorni di conservazione (fig. 37). Per contro, una drastica riduzione del contenuto di ossigeno presente nella confezione di cavolo da foglia è stata riscontrata alla temperatura di 4 e 8°C, pari rispettivamente al 3,0% ed allo 0,6 % (fig. 37). La percentuale di ossigeno presente nella confezione di germogli di cavolo da foglia è variata, nella media dei giorni di rilevamento, dal 13,4% all'8,6% rispettivamente per la temperatura di conservazione di 0°C e di 8°C, mentre i valori hanno oscillato, nella media delle temperature allo studio, dal 18,1% al 4,4% durante i giorni della settimana allo studio (tabb. 46,47). La percentuale di anidride carbonica ha fatto osservare un significativo incremento dei valori che sono variati, nella media dei giorni di

rilevamento, dal 6,6% al 10,1%, rispettivamente per la temperatura di conservazione di 0°C e di 8°C, mentre tali valori hanno oscillato, nella media delle temperature di conservazione analizzate, dal 3,1% all'11,9% durante la settimana di rilevamento (tabb. 46,47).

La quantità di anidride carbonica prodotta durante il processo di respirazione dei germogli di cavolo da foglia è risultata più elevata alle temperature di 4 e di 8°C, esprimendo valori prossimi al 13% nell'atmosfera confinata della confezione dopo 3 e 7 giorni di conservazione (fig. 37). Alla temperatura di 0°C al minore consumo di ossigeno è corrisposta una minore presenza di anidride carbonica (8,7%) dopo 3 e 7 giorni di conservazione (fig. 37).

Con riferimento ai parametri cromatici rilevati sulla lamina fogliare, sono state evidenziate ampie fluttuazioni per L^* , che è stato influenzato sia dalla temperatura che dalla durata di conservazione, facendo registrare valori, nella media dei giorni di conservazione e nella media dei livelli termici 0 e 4°C non significativamente differenti, pari a 41,9 rispetto al valore registrato alla temperatura di 8°C, pari a 45,1, che è apparso significativamente differente rispetto ai primi due (fig. 38). Il parametro L^* è variato in rapporto alla temperatura, nella media dei giorni di rilevamento, da 42,0 a 43,0, mentre durante la settimana di conservazione allo studio, e nella media delle temperature allo studio, da 41,6 a 43,4, facendo osservare in ambedue i casi un incremento della luminosità della colorazione (tabb. 46,47; fig. 38).

Per quanto riguarda i parametri a^* e b^* , sono state riscontrate sensibili variazioni sia tra diversi giorni di conservazione che per le diverse temperature di conservazione allo studio (tabb. 46,47; fig. 38). Nel complesso la temperatura di 4°C ha fatto registrare meno variazioni di colore rispetto al campione fresco (fig. 37). Le variazioni maggiori sono state accertate alla temperatura di 8°C, mentre le foglie dei germogli conservati a 0°C hanno fatto rilevare un incremento significativo dei valori registrati per tale parametro, presentando una componente gialla più marcata (tabb. 46,47; fig. 38). Il contenuto in residuo secco del germoglio nella media delle tre temperature è rimasto pressoché costante, oscillando

dal 12,0% al 13,3%, manifestando nell'arco del periodo di conservazione una riduzione inferiore all'1% (tabb. 46,47).

Con riferimento alla seconda prova sperimentale, il processo di respirazione del tipo di cavolo da foglia BH14 è stato anch'esso monitorato rilevando la quantità di ossigeno e di anidride carbonica presenti nello spazio di testa della confezione utilizzata per la conservazione dei germogli.

La percentuale di ossigeno presente nella confezione è stata prossima allo 0 % per le diverse MAP adottate (M2, M3, M4 ed M5), mentre è stata pari a 17,2 % per le confezioni per le quali era stata utilizzata l'atmosfera ambiente M1 (tab. 48). Il processo di respirazione è risultato influenzato significativamente dall'atmosfera di conservazione, dalla temperatura e dalla durata di conservazione (tab. 48). Con riferimento alla temperatura la percentuale di ossigeno più modesta è stata riscontrata a 8°C, mentre dopo 7 giorni di conservazione il quantitativo di ossigeno rilevato nello spazio di testa è apparso prossimo allo zero per tutte le MAP allo studio (tab. 48).

La percentuale di anidride carbonica rilevata nella confezione è risultata influenzata dal tipo di atmosfera utilizzata. Come riscontrato per la quantità di ossigeno l'utilizzo dell'atmosfera ambiente (M1) ha determinato un maggiore ritmo di respirazione dei germogli (tab. 49). Infatti, nella media della temperatura, i valori percentuali di anidride carbonica sono passati dal 4,3% del giorno 0, al 20,2% ed al 26,1% dopo 3 e 7 giorni di conservazione (tab. 4). La quantità di anidride carbonica è variata significativamente in rapporto alla temperatura, e nella media dei giorni di conservazione, dal 18,6% registrato a 0°C, al 22,6% ed al 28,2%, rilevato rispettivamente a 4°C ed a 8°C (tab. 49).

I processi respiratori sono risultati rallentati nelle tesi M2 ed M3, in quanto l'anidride carbonica netta prodotta dal campione, data dalla differenza tra la quantità misurata e la quantità utilizzata per il confezionamento, ha fatto rilevare valori, nella media delle temperature allo studio, pari a 8,1% ed a 9,6%, rispettivamente per 3 giorni e 7 giorni (tab. 49). Con riferimento alla temperatura di conservazione, e nella media dei

trattamenti M2 ed M3, la percentuale di anidride carbonica è variata dal 6,6%, all' 8,8% ed all'11, 2%, rispettivamente a 0°C, 4°C e 8°C (tab. 49). Nel trattamento che ha previsto l'utilizzo del 100% di azoto (M4), la produzione di anidride carbonica è risultata influenzata dal tempo e dalla temperatura di conservazione. Nella media delle temperature allo studio, la percentuale di anidride carbonica presente è stata pari a 14,5% (3 giorni) e 20,7% (7 giorni), mentre nella media dei giorni di conservazione la percentuale di anidride carbonica è variata non significativamente, nella media delle temperature, dal 15,3% al 21,0% rispettivamente a 0°C e 8°C (tab. 49).

Con riferimento ai parametri cromatici misurati sulle lamine fogliari al giorno 0 e dopo 3 e 7 giorni di conservazione, i dati hanno mostrato una differente risposta cromatica in relazione sia alla temperatura di conservazione che alla miscela di gas utilizzati, mostrando una Interazione significativa tra la miscela di gas utilizzata e la temperatura di conservazione (tabb. 50,51). In particolare il parametro cromatico L* misurato al giorno 0 è stato, nella media delle cinque miscele di gas utilizzate, pari a 43,3, con valori che sono oscillati tra 35,8 per M4 e 47,0 per M3 (tab. 50). Il parametro L* è variato significativamente, nella media delle temperature e delle miscele di gas allo studio, da 42,3 a 39,7 rispettivamente dopo 3 e 7 giorni di conservazione, e nella media dei giorni di rilevamento, da 42,0 a 40,8 rispettivamente alle temperature di 0°C e di 8°C (tab. 50).

In considerazione delle ampie fluttuazioni che i valori di a* e b* hanno fatto registrare, il rapporto a/b (tinta/cromo) esprime, con maggiore attendibilità e con variabilità più contenuta fra le osservazioni effettuate, l'intensità della colorazione rossa. Infatti, tanto più il valore del rapporto sarà alto, maggiormente dominante risulterà la componente rossa del colore e minore quella verde, ovvero le foglie sono apparse imbrunite e meno verdi rispetto al giorno 0. Il rapporto a/b alla raccolta è stato pari a -0,6 ed è rimasto pressoché costante al variare delle temperature di conservazione, della miscela di gas utilizzata e della durata di conservazione, eccetto per M1 che alla temperatura di conservazione di 8°

è passato da -0,6 a 3,3 già dopo tre giorni di conservazione (tab. 51). Questo valore è probabilmente attribuibile ai processi di respirazione del campione stesso, che ha visto una maggiore produzione di CO₂ netta rispetto alle altre tipologie di MAP (tabb. 49,51).

Il residuo secco ha fatto rilevare differenze statisticamente significative in rapporto ai fattori allo studio, facendo registrare oscillazioni inferiori al 2% (figg. 39,40).

Anche visivamente è stato possibile osservare le variazioni dei prodotti in funzione dell'atmosfera di conservazione, della temperatura e dei giorni di conservazione (figg. 41,42,43,44,45).

Con riferimento alla terza prova sono riportati i risultati concernenti la variazione del contenuto di ossigeno consumato e di anidride carbonica prodotta dal tipo BH 14 di cavolo da foglia conservato ad atmosfera ambiente in relazione all'epoca di raccolta. Solo al tempo zero sono state riscontrate differenze significative tra le due epoche allo studio, con valori pari allo 0% (I raccolta) e 3,43 % (II raccolta). Nella media dei giorni di conservazione il maggior contenuto di ossigeno è stato registrato nella seconda raccolta, con un valore di 1,15% (tabb. 52,53; fig. 46).

La quantità di anidride carbonica prodotta durante il processo di respirazione non è risultata influenzata dall'epoca di raccolta, ma solo dalla durata della conservazione, con incrementi costanti passando dal tempo zero a 3 e 7 giorni (tabb. 7, 8; fig. 5).

L'analisi dei parametri cromatici ha evidenziato per L* variazioni solo in rapporto dalla durata di conservazione e non dall'epoca di raccolta (tabb. 52,53; fig. 47). Nella media delle due raccolte infatti questo parametro è risultato pari a 41,96 a zero giorni, 41,04 dopo 3 giorni e 40,53 alla fine della prova (tab. 53); differenze significative tra le due raccolte sono emerse solo al tempo zero (tab. 53; fig. 47)

Il rapporto a/b alla raccolta era pari a -0,60 ed è rimasto pressoché costante al variare della durata della conservazione e dell'epoca di raccolta (tabb. 52,53). Nella media della durata di conservazione tale rapporto è risultato più elevato per la II epoca di raccolta, pari a -0,56, rispetto alla prima, pari a -0,63 (tab. 52), mentre nella media delle due epoche di

raccolta l'indice è risultato più elevato a 7 giorni, pari a -0,56, rispetto a zero e tre giorni, rispettivamente pari a -0,61 e -0,62 (tab. 53; fig. 47).

Il residuo secco del germoglio non è apparso significativamente influenzato né dall'epoca di raccolta né dal giorno di conservazione e nella media di tutti i fattori allo studio è stato pari a 13,2 g 100 g⁻¹ s.f. (tabb. 52,53; fig. 48).

Nel complesso è stata verificata per ambedue le raccolte una sostanziale uniformità del processo di respirazione dei germogli del tipo di cavolo BH 14 confermando quando emerso già dalle precedenti prove che mostrano un significativo aumento della respirazione con il passare dei giorni e con l'incremento della temperatura che hanno conseguenze anche sulla colorazione delle foglie (tabb. 52,53; fig. 48).

Con riferimento alla quarta prova il processo di respirazione dei germogli del tipo di cavolo da foglia BH 10 è stato misurato dalla variazione della percentuale di ossigeno e di anidride carbonica presente nello spazio di testa della confezione utilizzata per la conservazione del prodotto (tabb. 54,55).

Alla raccolta la percentuale di ossigeno presente è stata prossima allo zero % in M2 ed M3, ed al 17,6 % per M1 (tab. 54). Il processo di respirazione con l'atmosfera ambiente è risultato influenzato dalla durata di conservazione, in quanto dopo 7 giorni di conservazione il quantitativo di ossigeno rilevato nello spazio di testa era pari a zero (tab. 54).

La percentuale di anidride carbonica rilevata nei diversi campioni è risultata influenzata significativamente dal tipo di atmosfera utilizzata. Come riscontrato per la quantità di ossigeno, l'utilizzo dell'atmosfera ambiente M1 per la conservazione ha comportato dei processi di respirazione più intensi (tab. 55). I valori percentuali di anidride carbonica sono passati dal 4,5% a giorno 0, al 27,2% ed al 33,6%, rispettivamente dopo 3 e 7 giorni di conservazione (tab. 55).

I processi respiratori sono risultati rallentati nelle tesi M2 e M3 (tabb. 54,55). Infatti in termini di anidride carbonica netta, nella tesi M2 sono stati rilevati valori pari all'1,3% dopo 3 giorni, ed al 7,0% dopo una settimana

(tab. 55). In M3, la quantità di anidride carbonica è sempre rimasta pari al 100% (tab. 55).

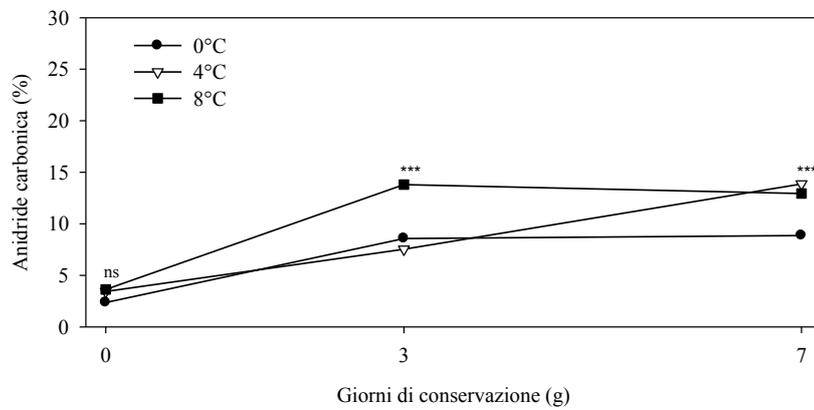
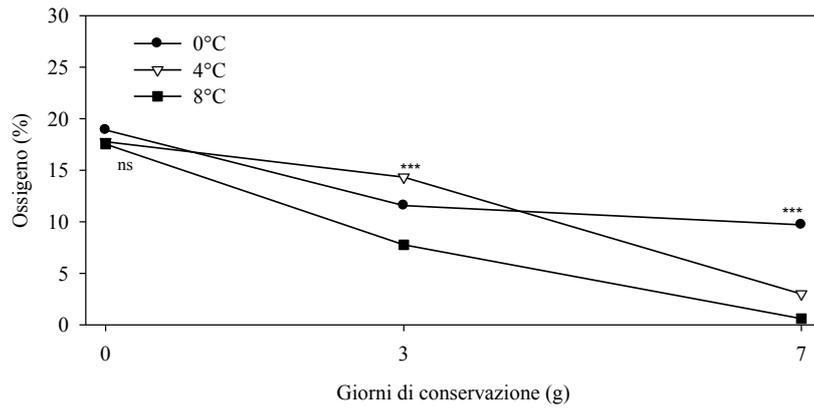
Per quanto riguarda i parametri cromatici L^* , a^* , b^* delle foglie alla raccolta e dopo 3 e 7 giorni di conservazione, i dati acquisiti hanno mostrato una differente risposta in relazione alla miscela di gas utilizzato. In particolare il valore del parametro L^* è variato significativamente, nella media delle tre miscele di gas utilizzate, da 44,7 a 40,5 nell'arco della settimana di conservazione (tab. 56).

In considerazione delle fluttuazioni che i valori di a^* e b^* hanno fatto registrare, si riporta anche in questo caso quale parametro della colorazione il rapporto a^*/b^* (tinta/cromo) come descritto nella seconda sperimentale di questa stessa linea di ricerca. Nella media delle tre miscele di gas utilizzate il rapporto a^*/b^* è stato pari a -0,50, -0,55 e -0,53, rispettivamente al giorno 0, 3 e 7 (tab. 57). Nella media dei giorni di conservazione non sono state registrate differenze significative tra le tipologie di gas utilizzati (tab. 57).

Il residuo secco dei germogli del tipo BH 10, pari nella media di tutti i fattori allo studio a 12,8 g - 100 g p.f., non ha fatto rilevare differenze statisticamente significative per effetto del MAP utilizzato e della durata di conservazione, con oscillazioni inferiori al 2% rispetto al campione fresco (tab. 58).

Anche visivamente è stato possibile osservare le variazioni dei prodotti in funzione dell'atmosfera di conservazione, della temperatura e dei giorni di conservazione (fig. 49).

Nel complesso le prove hanno consentito di ampliare le conoscenze sulla dinamica del processo di respirazione e della colorazione della foglia in rapporto alle miscele di gas ed ai giorni di conservazione, fornendo utili informazioni per meglio gestire il processo di trasformazione di IV gamma del cavolo da foglia. Le prestazioni migliori sono state offerte dalla miscela di gas 70%N₂-30%CO₂ mentre la temperatura ottimale di conservazione è stata compresa tra 0°C e 4°C.



ns: non significativo; *** significativo a $P < 0,001$

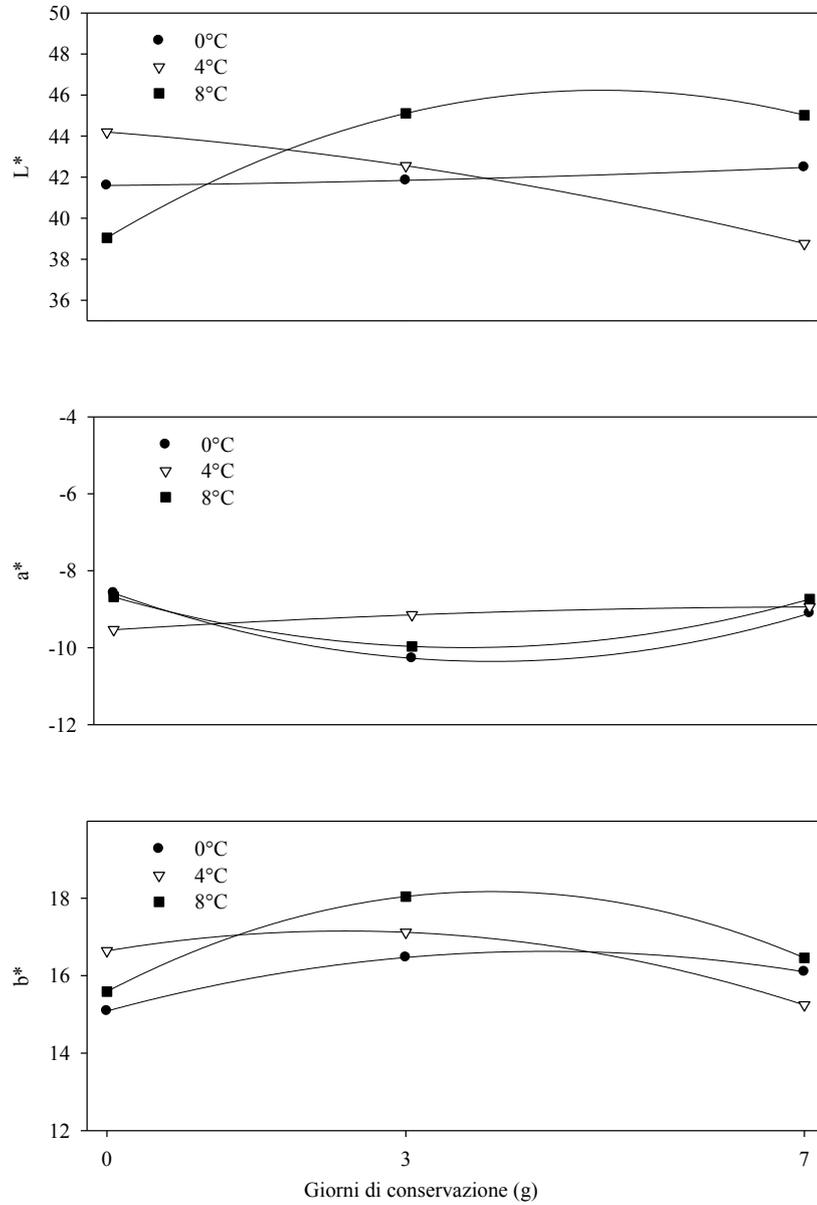
Figura 37 – Variazione dei processi di respirazione del genotipo BH 14 sottoposto a conservazione in relazione alla temperatura

Tabella 46 - Parametri rilevati durante l'esperimento, nella media dei giorni di conservazione

Parametro	Temperatura (°C)		
	0	4	8
Ossigeno (%)	13,4	11,7	8,6
Anidride Carbonica (%)	6,6	8,3	10,1
L*	42,0	41,9	45,1
a*	-9,3	-9,2	-9,1
b*	15,9	16,3	16,7
Residuo secco (g 100 g ⁻¹ s.f.)	12,0	12,7	12,7

Tabella 47 - Parametri rilevati durante l'esperimento, nella media delle temperature di stoccaggio

Parametro	Giorni di conservazione		
	0	3	7
Ossigeno (%)	18,1	11,2	4,4
Anidride Carbonica (%)	3,1	10,0	11,9
L*	41,6	41,9	43,4
a*	-8,9	-9,8	-8,9
b*	15,8	17,2	15,9
Residuo secco (g 100 g ⁻¹ s.f.)	12,4	12,0	13,2



ns: non significativo; *significativo a $P < 0,05$; ** significativo a $P < 0,01$; *** significativo a $P < 0,001$

Figura 38 — *Variazione dei parametri cromatici dei germogli del genotipo BH 14 sottoposto a conservazione in relazione alla temperatura*

Tabella 48 – Quantità di ossigeno (%) presente nello spazio di testa della confezione in relazione alla miscela di gas ed alla temperatura ed ai giorni di conservazione

MAP	0°C			4°C		8°C	
	0 giorni	3 giorni	7 giorni	3 giorni	7 giorni	3 giorni	7 giorni
M1	17,2 a*	3,0 a	0,1	1,3 a	0	0	0
M2	0,2 b	0,1 b	0	0 b	0	0	0
M3	0 b	0,1 b	0	0 b	0	0	0
M4	0,2 b	0,1 b	0	0 b	0	0,1	0
M5	0,2 b	0,1 b	0,2	0,1 b	0	0	0,1
Media	3,6	0,7	0,1	0,3	0	0	0
Effetti medi della temperatura							
		3 giorni	7 giorni				
M1		1,4 a	0				
M2		0 b	0				
M3		0,1 b	0				
M4		0,1 b	0				
M5		0,1 b	0,1				
Media		0,3 a**	0 b				
Effetti medi della durata di conservazione							
		0°C	4°C	8°C			
M1		1,6 a	0,6 a	0			
M2		0,1 b	0 b	0			
M3		0,1 b	0 b	0			
M4		0,1 b	0 b	0,1			
M5		0,1 b	0,1 b	0,1			
Media		0,4 a**	0,1 b	0 b			

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il tempo di conservazione o le temperature utilizzate;

Tabella 49 – *Quantità di anidride carbonica (%) presente nello spazio di testa della confezione, in relazione alla miscela di gas ed alla temperatura ed ai giorni di conservazione*

MAP	0°C		4°C		8°C		
	0 giorni	3 giorni	7 giorni	3 giorni	7 giorni	3 giorni	7 giorni
M1	4,3 d*	16,2 d	20,9 d	18,8 d	26,5 d	25,5 d	30,9 d
M2	28,9 c	38,3 c	40,1 c	36,7 c	42,0 c	41,6 c	43,8 c
M3	46,9 b	54,4 b	53,8 b	57,6 b	58,8 b	60,1 b	59,3 b
M4	2,7 d	12,2 d	18,4 d	14,0 e	18,7 e	17,1 e	24,9 e
M5	100,0 a	100,0 a	100,0 a	98,5 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Media	36,6	44,2	46,6	45,1	49,2	48,9	51,8
Effetti medi della temperatura							
		3 giorni	7 giorni				
M1		20,2 d	26,1 d				
M2		38,8 c	42,0 c				
M3		57,4 b	57,3 b				
M4		14,5 e	20,7 d				
M5		99,5 a	100,0 a				
Media		46,1 b**	49,2 a				
Effetti medi della durata di conservazione							
		0°C	4°C	8°C			
M1		18,6 d	22,6 d	28,2 d			
M2		39,2 c	39,4 c	42,7 c			
M3		54,1 b	58,2 b	59,7 b			
M4		15,3 d	16,4 d	21,0 d			
M5		100,0 a	99,3 a	100,0 a			
Media		45,4 a	47,2 ab	50,3 b			

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il tempo di conservazione o le temperature utilizzate;

Tabella 50 – *Indice del colore (L*) in relazione al tipo di gas utilizzato, alla temperatura di stoccaggio e ai giorni di conservazione*

MAP	0°C			4°C		8°C	
	0 giorni	3 giorni	7 giorni	3 giorni	7 giorni	3 giorni	7 giorni
M1	42,8 b*	45,2 a	39,1 b	42,0 a	38,8 b	43,2 a	44,7 a
M2	42,8 b	42,8 b	40,9	39,8 b	36,4 b	41,6 b	35,8 c
M3	47,0 a	41,5 b	40,3	43,9 a	41,7 a	39,9 b	38,4 bc
M4	38,6 c	46,7 a	38,5 b	41,9 a	38,8 b	41,0 b	41,2 b
M5	45,3 a	43,4 b	41,6	38,4 b	40,4 ab	43,5 b	38,8 bc
Media	43,3	43,9	40,1	41,2	39,2	41,8	39,8
Effetti medi della temperatura							
		3 giorni	7 giorni				
M1		43,5 a	40,9 a				
M2		41,4 b	37,7 b				
M3		41,8 b	40,1 a				
M4		43,2 a	39,5 a				
M5		41,7 b	40,3 a				
Media		42,3 a**	39,7 b				
Effetti medi della durata di conservazione							
		0°C	4°C	8°C			
M1		42,1 a	40,4 b	44,0 a			
M2		41,8 a	38,1 c	38,7 b			
M3		40,9 a	42,8 a	39,2 b			
M4		42,6 a	40,4 b	41,1 b			
M5		42,5 a	39,4 bc	41,1 b			
Media		42,0 a	40,2 b	40,8 b			

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il tempo di conservazione o le temperature utilizzate;

Tabella 51 – Rapporto a*/b* in relazione al tipo di gas utilizzato, alla temperatura di stoccaggio e ai giorni di conservazione

MAP	0°C			4°C		8°C	
	0 giorni	3 giorni	7 giorni	3 giorni	7 giorni	3 giorni	7 giorni
M1	-0,6	-0,6	-0,7	-0,6	-0,6	3,4 a*	3,3 b
M2	-0,6	-0,6	-0,6	-0,7	-0,6	-0,6 b	-0,5 b
M3	-0,5	-0,7	-0,6	-0,6	-0,6	-0,6 b	-0,5 b
M4	-0,7	-0,6	-0,7	-0,6	-0,6	-0,6 b	-0,5 b
M5	-0,5	-0,6	-0,6	-0,7	-0,6	-0,6 b	-0,5 b
Media	-0,6	-0,6	-0,6	-0,6	-0,6	0,2	0,3
Effetti medi della temperatura							
		3 giorni	7 giorni				
M1		0,7 a	0,7 a				
M2		-0,6 b	-0,6 b				
M3		-0,7 b	-0,6 b				
M4		-0,6 b	-0,6 b				
M5		-0,7 b	-0,6 b				
Media		-0,4	-0,3				
Effetti medi della durata di conservazione							
		0°C	4°C	8°C			
M1		-0,7	-0,6	3,3 a			
M2		-0,6	-0,6	-0,6 b			
M3		-0,6	-0,6	-0,6 b			
M4		-0,6	-0,6	-0,6 b			
M5		-0,6	-0,7	-0,5 b			
Media		-0,6 b**	-0,6 b	0,2 a			

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il tempo di conservazione o le temperature utilizzate;

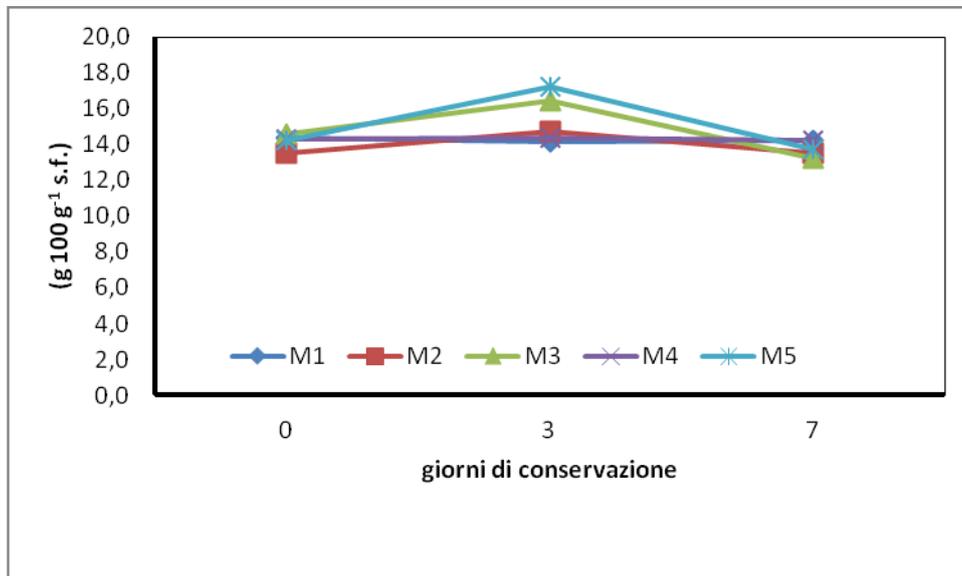


Figura 39 – *Variazione del residuo secco del germoglio in relazione al tipo di gas utilizzato nella media delle temperature di conservazione (g 100 g⁻¹ s.f.)*

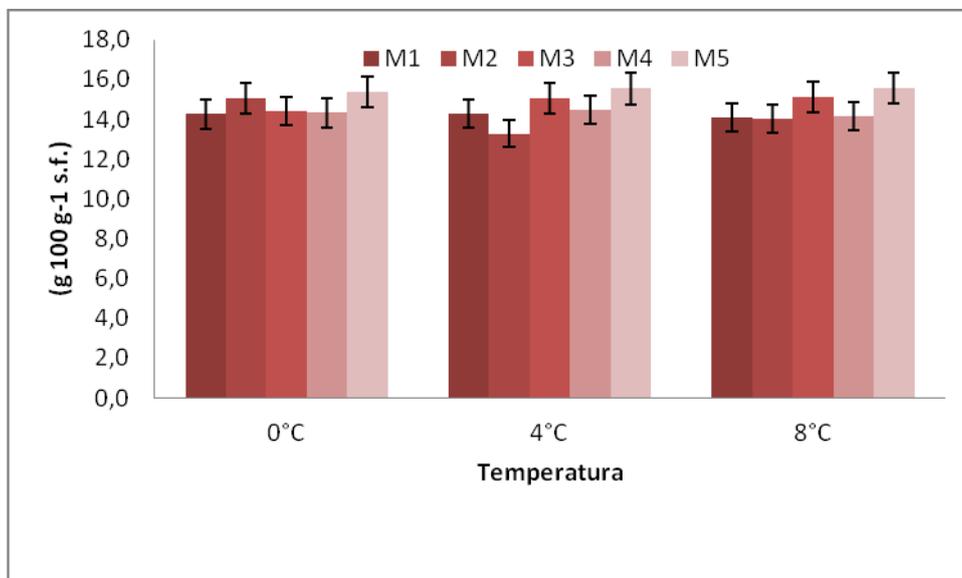


Figura 40 – *Variazione del residuo secco in relazione alla miscela di gas ed alle temperature di conservazione (g 100 g⁻¹ s.f.)*



Figura 41—BH 14: Caratteristiche del prodotto conservato in atmosfera ambiente in rapporto alla temperatura ed ai giorni di conservazione



Figura 42 —BH 14: Caratteristiche del prodotto conservato in atmosfera 100% CO₂ in rapporto alla temperatura ed ai giorni di conservazione



Figura 43—BH 14: Caratteristiche del prodotto conservato in atmosfera 100% N₂ in rapporto alla temperatura ed ai giorni di conservazione



Figura 44 —BH 14: Caratteristiche del prodotto conservato in atmosfera 70% N_2 /30% CO_2 n rapporto alla temperatura ed ai giorni di conservazione



Figura 45 — BH 14: Caratteristiche del prodotto conservato in atmosfera 50% N_2 /50% CO_2 in rapporto alla temperatura ed ai giorni di conservazione

Tabella 52 – Parametri rilevati durante il periodo della prova, nella media dei giorni di conservazione

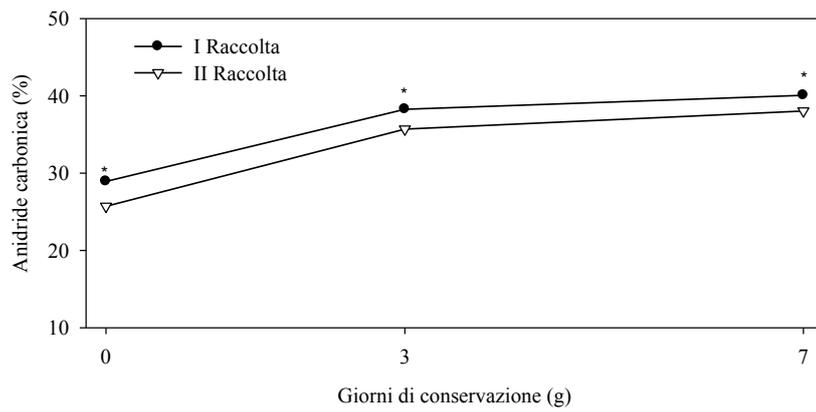
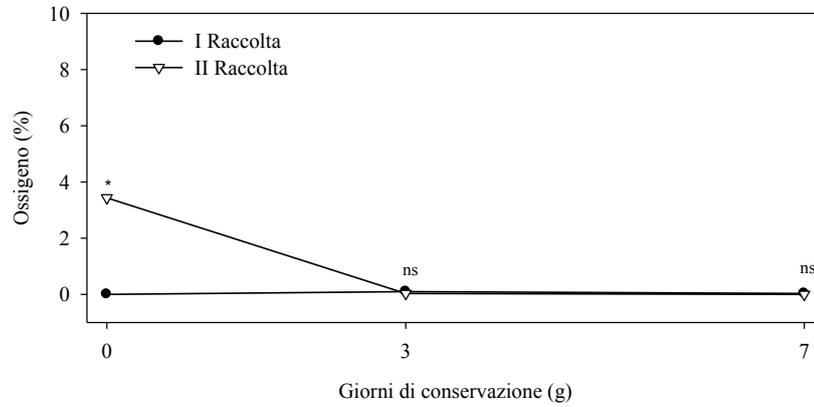
Parametro	I Raccolta	II Raccolta
Ossigeno (%)	0,04 b	1,15 a
Anidride carbonica (%)	35,7 a	33,1 a
L*	40,7 a	41,6 a
a*/b*	-0,63 b	-0,56 a
Residuo secco (g 100 g ⁻¹ s.f.)	13,09 a	13,30 a

*Lettere differenti nell'ambito della stessa riga indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le 2 raccolte

Tabella 53 – Parametri rilevati durante il periodo della prova, nella media delle due raccolte

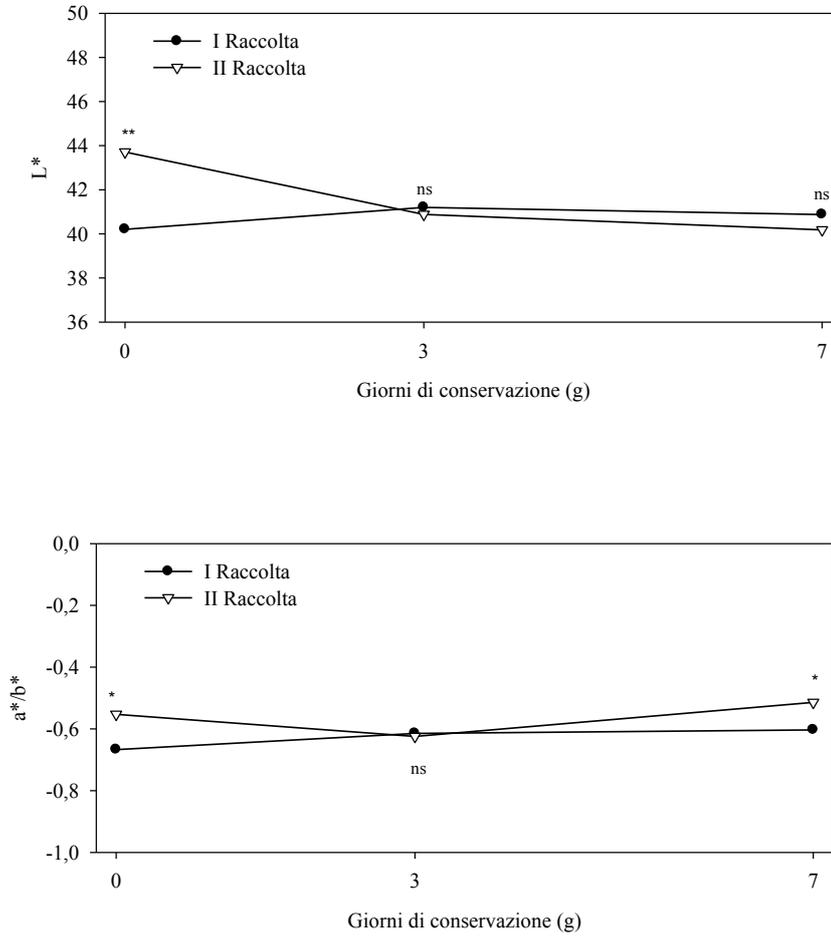
Parametro	0 giorni	3 giorni	7 giorni
Ossigeno (%)	1,72 a	0,07 b	0,02 b
Anidride carbonica (%)	27,32 b	36,98 ab	39,05 a
L*	41,96 a	41,04 ab	40,53 b
a*/b*	-0,61 b	-0,62 b	-0,56 a
Residuo secco (g 100 g ⁻¹ s.f.)	13,77 a	13,31 a	12,49 a

*Lettere differenti nell'ambito della stessa riga indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra i giorni di conservazione



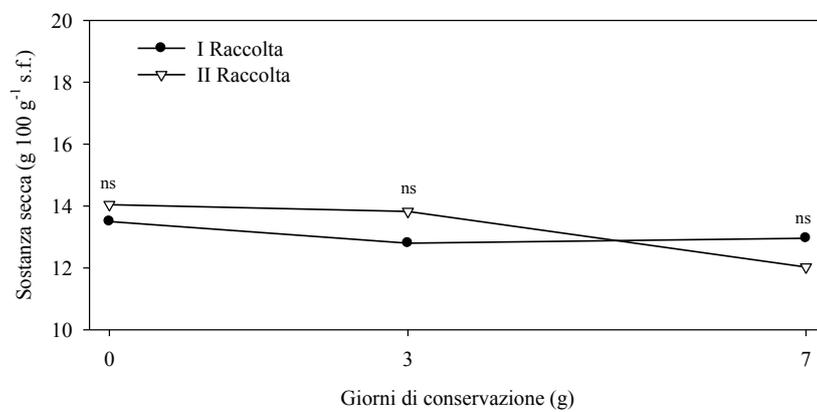
ns: non significativo; * significativo a $P < 0,05$

Figura 46 – Processo di respirazione del genotipo BH 14 sottoposto a conservazione in relazione all'epoca di raccolta



ns: non significativo; ** significativo a $P < 0,01$; * significativo a $P < 0,05$

Figura 47 – *Variazione dei parametri del colore nel genotipo BH 14 sottoposto a conservazione in relazione all'epoca di raccolta*



ns: non significativo

Figura 48 – *Variazione del contenuto in residuo secco nel genotipo BH 14 sottoposto a conservazione in relazione all'epoca di raccolta*

Tabella 54 – *Quantità di ossigeno (%) presente nello spazio di testa dei film plastici, in relazione al tipo di gas utilizzato e ai giorni di conservazione*

MAP	Giorni			Media
	0	3	7	
M1	17,6 a*	0	0	5,9 a
M2	0,1 b	0	0	0 b
M3	0,3 b	0	0	0,1 b
Media	6,0 a**	0 b	0 b	2,0

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il giorni di conservazione;

Tabella 55 – *Quantità di anidride carbonica (%) presente nello spazio di testa dei film plastici, in relazione al tipo di gas utilizzato e ai giorni di conservazione*

MAP	Giorni			Media
	0	3	7	
M1	4,5 c	27,2 b	33,6 b	21,8 b
M2	31,6 b	31,3 b	37,0 b	33,3 b
M3	100 a	100 a	100 a	100 a
Media	45,4 c	52,8 b	56,8 a	51,7

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il giorni di conservazione;

Tabella 56 – *Indice del colore (L*) in relazione al tipo di gas utilizzato e ai giorni di conservazione*

MAP	Giorni			Media
	0	3	7	
M1	44,3 b*	43,8	42,7 a	43,6 a
M2	45,7 a	42,7	43,2 a	43,8 a
M3	44,3 b	43,6	35,8 b	41,2 b
Media	44,7 a**	43,4 ab	40,5 b	42,9

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il giorni di conservazione;

Tabella 57 – *Rapporto a*/b* in relazione al tipo di gas utilizzato e ai giorni di conservazione*

MAP	Giorni			Media
	0	3	7	
M1	-0,53 b	-0,53 a	-0,53 a	-0,53
M2	-0,49 a	-0,59 b	-0,49 a	-0,53
M3	-0,49 a	-0,52 a	-0,56 b	-0,52
Media	-0,50 a	-0,55 b	-0,53 b	-0,53

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il giorni di conservazione;

Tabella 58 – *Contenuto in residuo secco in relazione al tipo di gas utilizzato e ai giorni di conservazione (g 100 g⁻¹ s.f.)*

MAP	Giorni			Media
	0	3	7	
M1	13,5	12,6	12,9	13,0
M2	13,1	12,6	13,1	12,9
M3	13,5	11,6	12,7	12,6
Media	13,4	12,3	12,9	12,8

*Lettere differenti nell'ambito della stessa colonna indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra le tipologie di MAP

**Lettere differenti nell'ambito della riga delle medie indicano differenze significative a $P \leq 0,05$ tra il giorni di conservazione;



Figura 49 – BH 10: Caratteristiche del prodotto in rapporto all'atmosfera di conservazione

2.2.5. Valutazione delle principali caratteristiche di germinelli di specie ortive diverse in rapporto ad alcune variabili di processo

2.2.5.1. Presentazione della problematica

Tra le iniziative tese all'innovazione di prodotto in orticoltura già da qualche decennio è stata posta l'attenzione sui germinelli di diverse specie ortive, ovvero sulla produzione di giovani plantule ottenute dalla germinazione di semi, provvisti della radichetta.

Tali produzioni sono tradizionali per i popoli asiatici che da diversi secoli conoscono le proprietà nutrizionali e l'elevata digeribilità di tali prodotti rispetto ai corrispondenti semi, e che spesso sono contraddistinti da un elevato valore nutraceutico conferito da diversi composti antiossidanti.

Recentemente tali prodotti sono stato oggetto di particolare attenzione in diversi Paesi europei e dell'America settentrionale a seguito delle evidenze sperimentali che attestano oltre alle proprietà antiossidanti anche quelle antitumorali. E' il caso, ad esempio, dei germinelli di cavolo broccolo che presentano elevate concentrazione di polifenoli totali, di vitamine, e di composti glucosinolati rispetto a corrispondente prodotto fresco tradizionalmente utilizzato, cioè il corimbo. L'utilizzo dei germinelli nella dieta alimentare presenta il vantaggio di consentire l'assunzione di minori quantità giornaliere di prodotto e di una maggiore quantità di composti nutraceutici.

Sulla base di tali considerazioni è stata attivata la presente linea di ricerca per rispondere all'esigenza di ampliare le conoscenze su tali produzioni, di diversificare l'assortimento dei germinelli diffusi sul mercato, aumentando il numero di specie utilizzate, e di individuare varianti di processo che consentono di incrementare il contenuto dei composti antiossidanti nel prodotto.

In tale ambito è stato realizzata una preventiva valutazione delle prestazioni offerte da diverse specie, afferenti a famiglie botaniche differenti, per la produzione di germinelli, e successivamente, per le specie che hanno presentato interessanti caratteristiche del processo di germinazione e del contenuto di composti ossidanti, è stato valutato l'effetto della temperatura sul processo di germinazione e sul contenuto dei principali composti nutraceutici.

2.2.5.2. Materiali e metodi

Il processo di produzione di germinelli di specie diverse è stato studiato articolando le prove sulla base di alcune variabili sperimentali, quali il genotipo e la temperatura di germinazione.

Con riferimento al genotipo è stato realizzato la valutazione del processo di germinazione e dei corrispondenti germinelli di diciotto specie, afferenti a sette famiglie botaniche, e per alcune di esse sono state prese in considerazione diverse cultivar (tab. 59). Oltre alla valutazione dei parametri quantitativi del processo di produzione dei germinelli sono stati studiati anche gli effetti della frigoconservazione, alla temperatura di 4 °C per la durata di una settimana, su eventuali variazioni delle caratteristiche qualitative del prodotto finito, facendo particolare riferimento sia alle caratteristiche morfobiometriche che a quelle nutraceutiche.

Con riferimento alla temperatura di germinazione sono state utilizzate, sulla scorta dei risultati della precedente prova, quattro fra le specie che hanno fatto registrare i migliori risultati in termini di produttività (tab. 60). La prova è stata articolata prendendo in considerazione tre diversi livelli termici per la produzione di germinelli, ovvero: 10, 20 e 30 °C, con lo scopo di valutare l'effetto delle temperature sul processo di germinazione, sulla resa in prodotto finito, nonché sul contenuto di composti antiossidanti e sulle caratteristiche biometriche dei germinelli stessi. In questo caso, per ciascuna combinazione dei fattori sperimentali, sono stati realizzati tre cicli di produzione di germinelli, ciascuno dei quali ha rappresentato una ripetizione.

I lotti di seme sono stati forniti dalla S.A.I.S. sementi, tranne per carota, rucola coltivata, daikon, senape bianca, girasole, frumento tenero e crescione comune, forniti da VIVO s.r.l., senape nera e senape spontanea raccolti allo stato spontaneo presso l'ASA, e il frumento duro della varietà Simeto è stato fornito dall'azienda Gangi di Resuttano.

Per la realizzazione di entrambe le prove il seme è stato sottoposto ad imbibizione in acqua distillata per 12 ore e successivamente posto all'interno del

germogliatore rotazionale Vitaseed, commercializzato dalla VIVO S.r.l., fino all'ottenimento del prodotto finito (fig. 50).

Nella prima prova è stato posto a germinare un volume di 50 ml di seme per ciascuna specie, mentre per quanto riguarda la seconda prova sono stati utilizzati 50 g di seme per ciascuna specie e per ciascun ciclo di germinazione.

Il germinatoio, al suo interno, era provvisto di un cilindro forato in cui è stato alloggiato il seme, un recipiente contenete acqua al disotto di esso e dotato di un sistema meccanico che prevedeva la roteazione del cilindro stesso in modo da consentire l'immersione del seme in acqua ogni due ore per una durata di due minuti, in maniera tale da garantire l'umidità relativa necessaria alla germinazione del seme ed al processo di produzione dei germinelli (fig. 50).

Contemporaneamente è stato monitorato, in entrambe le prove, il processo di germinazione utilizzando un campione di 200 semi per specie, suddiviso su quattro scatole Petri da 10 cm di diametro, ciascuna delle quali rappresentava una ripetizione. Il seme è stato collocato, all'interno di ciascuna scatola Petri, fra due strati di carta filtro imbibiti con 10 ml di acqua distillata. Le piastre sono state poste al buio con i germinatoi alla stessa temperatura al fine di potere monitorare costantemente il processo di germinazione del seme. Giornalmente è stato rilevato il numero di semi germinati, a completa distensione dei cotiledoni. Il processo di germinazione è stato ritenuto concluso al raggiungimento del 90% dei semi germinati o, in alternativa se non raggiunta tale soglia, superato un periodo di tre giorni in cui non si registrava alcuna germinazione di nuovi semi.

Dal rilievo dei dati ottenuti è stata successivamente calcolata la germinabilità (%), il tempo medio di germinazione (T.M.G.) ed il coefficiente di uniformità germinativa (C.U.G.). Gli ultimi due parametri sono stati determinati applicando le seguenti formule:

$$T.M.G. = \sum(t \times n) / \sum n$$

$$C.U.G. = \sum (T.M.G. - t)^2 \times n / \sum n$$

dove 't' esprime il tempo (giorni) intercorso dall'inizio alla fine della prova ed 'n' il numero totale di semi germinati.

Dei vari lotti di seme delle specie utilizzate nelle prove sono stati rilevati il peso di 1000 semi, il numero di semi in un grammo e l'umidità; in aggiunta, sono state rilevate le principali caratteristiche morfobiometriche del seme e dei germinelli, ovvero le dimensioni longitudinale e trasversale dei cotiledoni, dell'asse ipocotile e della radichetta dei germinelli ed il perimetro dei semi, utilizzando il software IM50 della Leica, versione 4.0 release 117.

Una volta ottenuti i germinelli, con riferimento alla prima prova, questi sono stati suddivisi in due parti uguali; di queste, una parte è stata immediatamente conservata in congelatore alla temperatura di $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, e l'altra, come già accennato, è stata posta in frigorifero alla temperatura di $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ per sette giorni e successivamente congelata a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Il congelamento dei germinelli si è reso necessario per conservare integralmente il campione prima di essere successivamente liofilizzato, mediante l'uso del liofilizzatore Heto PowerDry LL3000 della Analitica dei Mori, alla temperatura di $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ per la durata di 5 giorni, cioè fino a quando al raggiungimento del peso costante. Il materiale così liofilizzato è stato quindi sottoposto ad analisi per la determinazione del quantitativo di vitamina C (Tillmans, 1932), polifenoli totali (Singleton e Rossi, 1965), β -carotene (Mayfield *et al.*, 1986), antocianine (Swain *et al.*, 1959) e glucosinolati (ISO 9167-1, 1992).

Con riferimento a quest'ultimo parametro il quantitativo è stato determinato solo per le diverse specie afferenti alla famiglia delle *Brassicaceae*, non essendo questi metaboliti presenti nelle altre specie.

Con riferimento alla prima lo schema sperimentale adottato è stato a blocchi randomizzati, mentre con riferimento alla seconda prova è stato a parcelle suddivise, conferendo la parcella alla temperatura di germinazione e della sub-parcella alla specie saggiata. I dati acquisiti sono stati sottoposti ad ANOVA allo scopo di evidenziare le minime differenze significative.

2.2.5.3. Risultati e discussioni

Con riferimento alla prima prova, i dati acquisiti hanno permesso di accertare, nel loro complesso, differenze fra i diversi genotipi posti a confronto. La determinazione dei parametri morfobiometrici del seme utilizzato nelle prove ha consentito, in primo luogo, di evidenziare la diversa morfologia del materiale di partenza che fa riferimento alle diverse caratteristiche dei materiali di propagazione delle specie oggetto di studio (tab. 61).

Relativamente alla prova in questione, il processo di germinazione del seme utilizzato ha fatto rilevare differenze sia per quanto concerne la sua germinabilità, sia per quanto riguarda il tempo medio di germinazione che il coefficiente di uniformità germinativa (tab. 62, figg. 51, 52, 53, 54, 55, 56,57,58,59,60,61,62,63,64). I valori della germinazione, per circa l'80% dei genotipi utilizzati, si sono attestati al di sopra del 90% eccezion fatta per le due cultivar di finocchio, per una di cavolo verza, una di ravanello, una di rucola, per la valeriana e la senape spontanea (tab. 62, figg. 51,52, 53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64). Per quest'ultima specie e per la rucola selvatica a foglia frastagliata i valori della germinabilità sono stati rispettivamente pari al 2% ed al 41%. Con riferimento a *Sinapis arvensis* tuttavia vi è da precisare che si trattava di seme proveniente da piante diffuse allo stato spontaneo e che, verosimilmente, al momento dell'avvio delle prove si trovava ancora in fase di dormienza.

Per quanto riguarda il tempo medio di germinazione, le specie afferenti alla famiglia delle *Brassicaceae* hanno fatto registrare i valori più modesti rispetto a quelle delle altre famiglie poste a confronto, con valori che si sono attestati fra i 2,2 ed i 7,6 giorni (tab. 62). Per tutte le specie afferenti alle altre famiglie il T.M.G. è stato più prolungato; mediamente i lotti di seme hanno fatto registrare valori di T.M.G. pari a 8 giorni, variando da 3 a circa 12 giorni, rispettivamente per frumento tenero e finocchio (tab. 62).

Il C.U.G. ha fatto rilevare anch'esso un'elevata variabilità fra i genotipi posti allo studio (tab. 62). I valori che esprimono maggiore uniformità sono stati registrati ancora una volta per le specie afferenti alla famiglia delle *Brassicaceae*, ad eccezione del cavolo di Bruxelles 'Mezzo nano' e del cavolo 'Laciniato nero di

Toscana'. Per quanto riguardano la famiglia delle *Alliaceae*, così come per quella delle *Apiaceae*, i valori del C.U.G. sono stati decisamente più elevati, facendo rilevare una minore uniformità di germinazione nelle specie studiate (tab. 62). Fra tutti i genotipi allo studio il frumento tenero è stato quello che ha mostrato la maggiore uniformità avendo fatto registrare la totale germinabilità del seme e pertanto il valore del C.U.G. è stato pari a 0 (tab. 62).

La produttività delle singole specie e cultivar prese in considerazione per la realizzazione delle prove ha fatto rilevare anch'essa un'elevata variabilità in termini di produzione di germinelli (tab. 63). L'incremento percentuale del peso dei germinelli su quello del seme utilizzato per la realizzazione della prova ha fatto accertare differenze notevoli tra per i genotipi allo studio, variando fra poco più del 1000% per *Brassica nigra* al 154% per *Sinapis alba*, entrambe appartenenti alla famiglia delle *Brassicaceae* (tab. 63). Nell'ambito delle famiglie prese in considerazione la minore variabilità fra le specie, in termini di incremento del peso dei germinelli sul seme, è stata accertata per le *Alliaceae*. Nell'ambito delle specie in cui sono stati posti a confronto più genotipi, la maggiore uniformità di produzione di germinelli, nel complesso delle cultivar, è stata rilevata per *Foeniculum vulgare*, *Allium cepa* e *Brassica oleracea* var. *italica* (tab. 63).

Fra i parametri rilevati che fanno riferimento alle caratteristiche qualitative dei germinelli il residuo secco consente di mettere in luce la maggiore o minore consistenza del prodotto. Questo parametro, che evidenzia le caratteristiche fisiche dei germinelli, è indicatore della più o meno marcata croccantezza del prodotto la quale, se eccessivamente elevata (o bassa), potrebbe determinare una minore gradevolezza di quest'ultimo da parte del consumatore. Fra le specie poste a confronto il 32% presentavano un residuo secco al di sotto del 10%, per cui un quantitativo di acqua presente nei tessuti dei germinelli al di sopra del 90% (tab. 63). Nell'ambito delle famiglie la variabilità, con riferimento a questo parametro, è apparsa relativamente alta così come nell'ambito delle specie per le quali cui sono state studiate più cultivar, ad eccezione del cavolo broccolo per il quale per tutti e quattro i genotipi allo studio la percentuale del residuo secco calcolata è stata pari a circa il 7% (tab. 63).

L'analisi del profilo nutraceutico dei germinelli delle diverse specie allo studio è stata rivolta alla determinazione dei polifenoli totali, β -carotene, antocianine,

vitamina C e dei glucosinolati alifatici, indolici ed aromatici. La determinazione del quantitativo di componenti antiossidanti è stata realizzata, in un primo approccio, facendo riferimento al seme utilizzato e, successivamente, ai germinelli. Lo scopo di tale confronto era quello di mettere in luce le eventuali variazioni del quantitativo di metaboliti secondari presenti nei tessuti successivamente all'avvio del processo di germinazione; è stato dimostrato, infatti, che in alcune *Brassicaceae* la presenza maggiore di componenti antiossidanti si riscontra nel seme piuttosto che nelle varie parti eduli della pianta (Ippoushi *et al.*, 2006; Barillari *et al.*, 2007). Per quanto riguarda invece la determinazione delle componenti antiossidanti nei germinelli, questa è stata realizzata sia al momento dell'ottenimento del prodotto finito sia dopo sette giorni di conservazione in ambiente refrigerato a 4 °C, al fine di mettere in luce le possibili variazioni del profilo nutraceutico legate al processo di conservazione.

Con riferimento alla presenza delle componenti antiossidanti nel seme, i risultati delle analisi hanno messo in luce differenze legate al profilo genetico delle specie e delle cultivar studiate nelle prove (tabb. 64, 65, 66, 67, 68). La presenza dei polifenoli è stata quella che, nell'ambito dei metaboliti secondari analizzati, è variata in misura maggiore sia con riferimento alle famiglie sia con riferimento alle specie. Per quanto riguarda il quantitativo di β -carotene e di vitamina C non sono state riscontrate, invece, differenze di rilievo fra i genotipi utilizzati; la presenza di antocianine è stata rilevata esclusivamente nella rucola coltivata a foglia lobata (tab. 64).

Il quantitativo delle componenti antiossidanti nei tessuti dei germinelli ha fatto registrare variazioni sia in rapporto alla natura del metabolita secondario sia in rapporto alle specie utilizzate (tabb. 64, 65, 66, 67, 68).

Per quanto riguardano i polifenoli totali, nel complesso delle specie allo studio, è stato rilevato un incremento del loro contenuto di circa il 40% nel prodotto finito rispetto al seme, dato questo che ha fatto rilevare ulteriori variazioni, in positivo, a seguito del processo di conservazione ad eccezione di carota, finocchio 'Chiarino', Cavolo laciniato 'Nero di Toscana' e ravanello 'Biglia rossa' (tabb. 64,65).

Con riferimento al β -carotene, il suo quantitativo ha fatto registrare un incremento nei germinelli rispetto al seme in tutte le specie allo studio. Tuttavia si

sono verificate alcune eccezioni come per il porro, il finocchio 'Chiarino' e la senape bianca in cui non sono state rilevate variazioni di alcun genere (tabb. 64,65). Variazioni degne di nota sono state invece riscontrate in carota e crescione comune, in cui il quantitativo è più che raddoppiato (tabb. 64,65). Le differenze legate al processo di conservazione, alla temperatura di 4 °C per sette giorni, in questo caso non sono state altrettanto univoche, non facendo registrare variazioni o facendone registrare sia in positivo che in negativo in rapporto alle specie (tabb. 64,65).

Le antocianine non sono state decisamente presenti nei tessuti sia dei semi che dei germinelli successivamente prodotti. La loro determinazione ha fatto rilevare una modesta presenza in carota, cavolo laciniato 'Nero di Toscana', rucola coltivata a foglia lobata e senape spontanea; a seguito al processo di frigoconservazione è stata poi rilevata la loro totale scomparsa nel caso della carota e del cavolo laciniato 'Nero di Toscana' (tabb. 64,65).

La determinazione del quantitativo della vitamina C ha fatto registrare un andamento pressoché univoco in rapporto alle specie allo studio; tale parametro, infatti, ha fatto rilevare valori più bassi nei germinelli rispetto al seme, ad eccezione del cavolo broccolo 'Ramoso calabrese tardivo' in cui è rimasto uguale e del ravanello 'Biglia rossa' in cui è leggermente aumentato (tabb. 64,65). Successivamente, il processo di conservazione, alla temperatura di 4 °C per sette giorni, ha determinato un aumento del quantitativo di vitamina C nell'80% dei casi allo studio (tabb. 64,65).

Le *Brassicaceae*, com'è noto, rappresentano una famiglia in cui le diverse specie ed entità sottospecifiche a cui vi afferiscono risultano essere ricche in glucosinolati. Questo gruppo di metaboliti secondari comprende più di 130 molecole differenti costituite, come esposto in precedenza, da un glicone comune legato ad una catena laterale alifatica, indolica o aromatica. (Carratù e Sanzini, 2005). Nell'ambito della presente prova, è stata presa in considerazione, esclusivamente per quanto concerne la famiglia delle *Brassicaceae*, la determinazione della presenza di glucosinolati alifatici, indolici, aromatici e totali nel seme e, successivamente, nei germinelli da essi prodotti. Lo studio è stato rivolto anche agli eventuali effetti che la frigoconservazione potrebbe determinare sulla sintesi di tali componenti antiossidanti.

I glucosinolati alifatici presi in considerazione sono stati glucoiberina, progoitrina, sinigrina, glucorafanina, glucorafenina, sinalbina, gluconapina, glucoerucina, glucotropeolina, e glucorafasatina. La presenza di queste componenti antiossidanti è stata rilevata in misura differente in rapporto alle colture oggetto di studio (tab. 66). In molti casi ne è stata rilevata la totale assenza, a dimostrazione del fatto che si tratta di metaboliti secondari la cui sintesi è legata essenzialmente al genotipo. Non è stata rilevata, infatti, in nessuno dei casi allo studio la presenza di un composto glucosinolato comune a tutti i genotipi o vice versa (tab. 66). Fra i dieci composti glucosinolati alifatici riscontrati nei germinelli dei genotipi allo studio la più frequente è stata la glucoerucina, presente nel 36% dei genotipi a livello di seme e nel 41% dei genotipi a livello di germinelli, mentre le meno frequenti sono state la glucorafasatina e la progoitrina entrambi presenti nel 4,5% dei genotipi rispettivamente nel seme e nei germinelli (tab. 66). Fra i genotipi allo studio *Brassica oleracea* var. *gemmifera* si è distinta per il maggior numero di glucosinolati alifatici presenti, essendone stata riscontrata la presenza di quattro di essi, e precisamente della glucoiberina, della progoitrina, della sinigrina e della glucoerucina sia nei dei semi che nei germinelli (tab. 66). Fra le specie con il minor numero di glucosinolati alifatici sono da evidenziare *Sinapis alba*, *Sinapis arvensis* e *Lepidium sativum*, essendo stata rilevata solamente la presenza della sinalbina per le prime due e della glucotropeolina per la terza rispettivamente (tab. 66); per contro queste due specie hanno fatto registrare la maggior concentrazione in glucosinolati totali fra i genotipi allo studio (tab. 66). Nel complesso dei fattori allo studio il quantitativo di glucosinolati alifatici ha mostrato un trend negativo legato al processo di germinazione e successivamente alla conservazione per sette giorni alla temperatura di 4 °C ad eccezione di alcuni casi in cui è stato rilevato un lieve aumento della concentrazione della sinigrina, della glucorafanina e della glucorafenina in cavolo verza, rucola coltivata e ramolaccio e Daikon rispettivamente (tab. 66). Tuttavia vi è da mettere in rilievo che, sebbene nelle *Brassicaceae* la concentrazione più elevata di glucosinolati sia nel seme, in seguito alla germinazione, subentrano determinati processi di biosintesi di metaboliti secondari che determinano la trasformazione di alcune molecole in altre, come nel caso della glucorafasatina che non riscontrata nel

seme in ramolaccio e ravanella risulta essere presente nei germinelli, con molta probabilità a carico della glucorafenina (tab. 66). Lo stesso fenomeno è stato rilevato per quanto riguarda la glucoerucina non presente nel seme di cavolo verza, la glucoiberina e la progoitrina non presenti nel seme di rapa e la sinalbina non presente nel seme di senape nera (tab. 66). Manifestazione inversa è stata rilevata, per contro, per quanto concernono alcune molecole riscontrate solo nel seme e non presenti nei germinelli, come nel caso della progoitrina in cavolo verza (tab. 66).

I glucosinolati indolici presi in considerazione nell'ambito della presente prova sono stati: la 4-OH glucobrassicina, la glucobrassicina e la neo-glucobrassicina (tab. 67). La determinazione di queste molecole ha fatto registrare la presenza della 4-OH glucobrassicina nel 68% dei genotipi utilizzati nelle prove, e della glucobrassicina e neo-glucobrassicina nel 45% dei casi (tab. 67). La presenza della 4-OH glucobrassicina è stata riscontrata sia nel seme che successivamente nei germinelli, mentre le altre due molecole, e cioè la glucobrassicina e la neo-glucobrassicina non sono state riscontrate in alcun caso nel seme, ma soltanto nei germinelli (tab. 67). Tale fenomeno potrebbe avere come giustificazione nel fatto che molto spesso, e soprattutto durante il processo di germinazione, molte molecole subiscono modificazioni per via dei numerosi processi biochimici che interessano le cellule dei tessuti vegetali ed in particolar modo quelle dei semi. Pertanto si potrebbe ipotizzare che la 4-OH glucobrassicina funga da precursore della glucobrassicina e della neo-glucobrassicina durante il processo di germinazione; tale asserzione potrebbe trovare supporto anche prendendo in considerazione la concentrazione particolarmente bassa della glucobrassicina e della neo-glucobrassicina rispetto alla concentrazione nel seme di 4-OH glucobrassicina (tab. 67). Degna di rilievo è, oltretutto, la presenza dei glucosinolati indolici strettamente legata al genotipo; tutte e tre le molecole, infatti, sono state riscontrate in *Brassica oleracea* indipendentemente dall'entità sottospecifica, in *Brassica rapa* prescindendo dalla cultivar e nei tre genotipi di *Raphanus sativus* (tab. 67). La conservazione in ambiente refrigerato dei germinelli a 4 °C per sette giorni, anche con riferimento ai glucosinolati indolici, ha mostrato un trend negativo relativamente alla loro concentrazione; a seguito

del processo di conservazione dei germinelli, infatti, questa è stata rilevata una diminuzione dei valori (tab. 67).

Il gruppo dei composti glucosinolati aromatici provengono da processi di biosintesi a carico della fenilalanina o della tirosina. Fra le molecole ricercate l'unica presente nell'ambito dei genotipi posti allo studio è stata la gluconasturtina, riscontrata solo nel 45% dei casi ed esclusivamente nel genere *Brassica* (tab. 67). Anche per quanto riguardano i glucosinolati aromatici, come nel pretendente, caso la presenza della gluconasturtina non è stata rilevata nei semi bensì solamente nei germinelli (tab. 67). La conservazione in ambiente refrigerato dei germinelli a 4 °C per sette giorni, con riferimento alla gluconasturtina ha fatto registrare un decremento della sua concentrazione nei tessuti dei germinelli; decremento questo, che è stato univoco per tutti i genotipi presi in considerazione (tab. 67). In due cultivar di cima di rapa, 'Novantina' e 'Quarantina', addirittura la gluconasturtina dopo sette giorni di frigoconservazione non è stata più rilevata (tab. 67).

L'analisi all'HPLC, oltre alla determinazione dei glucosinolati alifatici, indolici ed aromatici, ha permesso di evidenziare dei picchi di presenza di glucosinolati minori che totalizzati consentono di fare risaltare il profilo aromatico delle colture utilizzate nelle prove (tab. 68). Fra queste, degne di rilievo sono risultate cavolo verza 'Violaceo di Verona-Arena', cima di rapa 'Novantina' e 'Quarantina' e le varietà botaniche e le cultivar di *Raphanus sativus* (tab. 68). Per quanto riguarda l'andamento della concentrazione di questi glucosinolati dal seme ai germinelli, sia non appena prodotti sia successivamente alla loro frigoconservazione, questo non è stato altrettanto univoco come nei casi precedenti (tab. 68). Si tratta, infatti, della sommatoria di componenti diverse che, sottoposte a differenti processi biochimici, non possono far risaltare un comportamento univoco a seguito del processo di germinazione e della successiva frigoconservazione (tab. 68).

Con riferimento alla seconda prova, è stato valutato l'effetto della temperatura sul processo di germinazione, sulla resa in prodotto finito, nonché sul contenuto di composti antiossidanti e sulle caratteristiche biometriche dei germinelli stessi. Sono state pertanto utilizzate, come accennato, quattro specie prendendo in considerazione tre diversi livelli termici per la produzione di germinelli, ovvero: 10, 20 e 30 °C.

I risultati nel loro complesso hanno consentito di accertare un diverso comportamento delle specie poste allo studio in relazione alle temperature adottate nella prova. La determinazione dei parametri morfobiometrici del seme utilizzato nelle prove ha consentito, in primo luogo, di evidenziare la diversa morfologia e contenuto di antiossidanti del materiale di partenza, che chiaramente è differente in rapporto alla specie ed allo stato di conservazione del seme (tabb. 69,70,71; fig. 65). La germinabilità per le quattro specie utilizzate, e cioè *Daucus carota*, *Brassica oleracea* var. *italica*, *Allium cepa* ed *Eruca sativa*, non ha fatto registrare variazioni significative in rapporto ai tre diversi livelli termici presi in considerazione (tabb. 72,73,74,75; figg. 66,67). In ogni caso si tratta di un parametro strettamente legato al pregresso storico del seme nonché alla sua vitalità e che pertanto, in condizioni termiche non limitanti né subottimali non dovrebbe fare registrare variazioni significative. Andamento differente è stato rilevato piuttosto per quanto concerne sia il tempo medio di germinazione (T.M.G.) sia il coefficiente di uniformità germinativa (C.U.G.) i quali sono variati significativamente in rapporto alle variabili sperimentali (tabb. 72,73,74,75; figg. 66,67). Per quanto riguarda *Daucus carota* il TMG ha consentito di mettere in rilievo differenze significative fra i 10 °C ed i livelli termici superiori (20 e 30 °C) cui sono stati sottoposti i semi (tab. 72). Il CUG in questo caso è variato significativamente per tutti e tre in casi allo studio. In *Brassica oleracea* var. *italica* il TMG è risultato significativamente diverso per tutti e tre i livelli termici posti a confronto, sebbene queste differenze non abbiano influito sul CUG che non ha fatto registrare valori significativamente differenti a 10, 20 e 30 °C (tab. 73). Per quanto concerne *Allium cepa* il tempo medio di germinazione è variato in relazione alle temperature così come sono state riscontrate differenze altrettanto significative per quanto concerne il CUG (tab. 74). Situazione speculare a quanto osservato per la carota è stata rilevata anche per quanto riguarda *Eruca sativa* la quale ha fatto registrare un TMG significativamente differente a 10 °C rispetto alle temperature superiori, mentre il CUG è stato sostanzialmente simile a 10 e 20 °C differendo a 30 °C (tab. 75).

A conclusione della prova sono state effettuate sia la valutazione dei parametri morfobiometrici sia analisi del profilo nutraceutico dei germinelli attraverso la determinazione dei parametri biochimici prendendo in

considerazione il quantitativo dei polifenoli totali, del β -carotene, della vitamina C e dei glucosinolati alifatici, indolici ed aromatici. I risultati hanno messo in luce il diverso accrescimento dei germinelli in relazione alle temperature adottate così come alcune differenze legate al loro profilo nutraceutico.

In *Daucus carota* gli effetti delle diverse temperature non hanno fatto registrare variazioni significative con riferimento alle dimensioni dei cotiledoni, parametro che in ogni qual modo è legato a fattori genetici piuttosto che a fattori ambientali (tab. 76, fig. 67). È stato rilevato invece un differente accrescimento dell'asse ipocotile per quanto concerne la sua dimensione longitudinale. Questo infatti, sottoposto alla temperatura di 20 °C, ha fatto rilevare un maggiore allungamento rispetto agli altri due livelli termici adottati nelle prove. L'accrescimento della radichetta ha, anch'esso, messo in luce la differente risposta della specie sottoposta ai tre diversi regimi termici (tab. 76; fig. 67). Per quanto concerne la distensione longitudinale dei tessuti i risultati migliori sono stati rilevati sempre alla temperatura di 20 °C, sebbene non abbiano differito significativamente rispetto alle plantule accresciutesi alla temperatura di 10 °C. Per quanto riguarda invece le dimensioni trasversali non sono state rilevate differenze fra i fattori allo studio (tab. 76; fig. 67).

In *Brassica oleracea* var. *italica*, come per la specie precedente, l'accrescimento dei cotiledoni non ha fatto registrare variazioni di alcun genere con riferimento ai differenti livelli termici, così come la distinzione dell'asse ipocotile ed il suo ispessimento (tab. 77; fig. 67). Per quanto riguarda l'accrescimento della radichetta i tre livelli termici, adottati nell'ambito della presente prova, ne hanno determinato un diverso allungamento, facendo riscontrare differenze significative del parametro rilevato. È stata invece registrata una condizione opposta con riferimento alle dimensioni trasversali della radichetta stessa, le quali non sono variate in rapporto ai differenti livelli termici (tab. 77; fig. 67).

In *Allium cepa* gli effetti delle temperature non hanno fatto registrare differenze significative con riferimento ai parametri morfobiometrici rilevati, sebbene alle temperature di 10 e 20 °C i valori delle dimensioni longitudinali e trasversali dell'asse ipocotile e della radichetta sono apparsi lievemente superiori

rispetto a quelli dei germinelli accresciuti alla temperatura di 30 °C (tab. 78; fig. 67).

In *Eruca sativa* la situazione non è si discostata sostanzialmente da quella di *Allium cepa* (tab. 79; fig. 67). Dall'analisi dei rilievi, infatti, non sono state registrate differenze significative con riferimento alle dimensioni dei cotiledoni e dell'asse ipocotile. Differenze significative, sebbene lievi, sono state riscontrate con riferimento alle dimensioni longitudinali della radichetta; nei germinelli posti alla temperatura di 10 e 30 °C, infatti, è stata rilevata un distensione maggiore dei tessuti rispetto a quelli incubati alla temperatura di 20 °C (tab. 79; fig. 67).

Per quanto riguarda il contenuto in composti antiossidanti in *Daucus carota* la determinazione dei polifenoli totali, del β -carotene e della vitamina C non hanno fatto registrare differenze di rilievo in relazione alle temperature cui sono stati posti ad accrescersi i germinelli (tab. 80). I valori del quantitativo dei polifenoli totali si sono attestati, nella media, intorno a 16,7 mg/g di sostanza secca, variando da un massimo di 19,3 mg/g di sostanza secca per i germinelli incubati alla temperatura di 20 °C ad un minimo di 12,5 mg/g di sostanza secca per quelli posti a 30 °C (tab. 80). Il quantitativo del β -carotene non è variato in nessuna delle condizioni di crescita attestandosi su di un valore di 1,3 mg/g di sostanza secca, così come quello della vitamina C il quale ha fatto registrare un variazione di pochi decimi di mg da un valore medio di 4,7 mg/g di sostanza secca (tab. 80).

Situazione analoga è stata riscontrata in *Brassica oleracea* var. *italica*, sebbene rispetto a *Daucus carota* il quantitativo medio dei polifenoli totali è quasi raddoppiato variando da un massimo di 33,2 mg/g di sostanza secca nei germinelli posti alla temperatura di 20 °C ad un minimo di 25,6 mg/g di sostanza secca per quanto riguarda il livello termico maggiore (tab. 81). Per quanto riguarda il β -carotene i valori sono apparsi sostanzialmente simili a quelli della precedente specie, mentre per quanto riguarda la vitamina C il contenuto medio si è attestato intorno a 5,8 nel complesso delle temperature adottate (tab. 81).

Allium cepa, fra le specie studiate, è stata quella che ha fatto registrare i valori più modesti in termini di contenuto in componenti antiossidanti. I polifenoli totali rilevati hanno mostrato un range di variazione nel loro contenuto compreso fra 15,4 e 4,7 mg/g di sostanza secca rispettivamente alle temperature di 20 e 30

°C facendo riscontrare differenze significative fra i livelli termici messi a confronto (tab. 82). Per quanto riguarda sia il β -carotene sia la vitamina C il range di variabilità è stato minimo con riferimento alle temperature adottate per la realizzazione delle prove, facendo rilevare un quantitativo medio rispettivamente di 1,1 e 4,3 mg/g di sostanza secca (tab. 82).

Come per *Brassica oleracea* var. *italica*, anche in *Eruca sativa* il quantitativo medio dei polifenoli totali ha fatto registrare valori superiori a *Daucus carota* ed *Allium cepa*, con un valore medio di 23,3 mg/g di sostanza secca, sebbene le differenze fra i livelli termici adottati non sono state significative (tabb. 80,81,82,83). Le diverse temperature hanno fatto rilevare una maggiore sintesi di questa componente antiossidante a 10 °C con 27,1 mg/g di sostanza secca contro i 17,9 mg/g di sostanza secca rilevati alla temperatura di 20 °C (tab. 83). Il quantitativo di β -carotene e di vitamina C si è attestato per questa specie su valori pressoché simili alle altre specie prese in considerazione nelle prove, con un valore medio rispettivamente di 1,3 e 5,4 mg/g di sostanza secca (tab. 83).

Dall'analisi dei risultati della determinazione delle componenti antiossidanti delle specie oggetto di studio, è emerso come i quantitativi sostanzialmente maggiori, nel complesso delle temperature adottate, sono stati rilevati nelle due specie di *Brassicaceae* con riferimento al contenuto in polifenoli totali (tabb. 80,81,82,83). Per quanto riguarda il contenuto in β -carotene ed in vitamina C non è emersa nessuna differenza fra le tre specie (tabb. 80,81,82,83). La specie che fra le quattro allo studio ha fatto registrare il minor contenuto in componenti antiossidanti è stata *Allium cepa* (tabb. 80,81,82,83). Con riferimento ai tre livelli termici adottati nell'ambito delle prove, l'andamento dei valori del contenuto in componenti antiossidanti non è apparso univoco per tutte e quattro le specie prese in considerazione ma è variato in rapporto al genotipo (tabb. 80,81,82,83).

Dalla determinazione dei glucosinolati sono emerse le presenze di glucorafanina, 4-OH glucobrassicina, glucoerucina, glucobrassicina, gluconasturtina, neo-glucobrassicina e glucosinolati minori per quanto riguarda *Brassica oleracea* var. *italica* e di glucorafanina, glucoerucina e glucosinolati minori per quanto riguarda *Eruca sativa* (tabb. 84,85). In *Brassica oleracea* var. *italica*, sebbene non sono state rilevate differenze significative del contenuto in

glucosinolati nei tessuti, in rapporto alle tre differenti temperature poste a confronto, è da rilevare come, nei singoli casi, l'andamento è non apparso sempre crescente all'aumentare della temperatura (tab. 84); infatti, seppur in misura contenuta, in alcuni casi, come per la 4-OH glucobrassicina, la glucobrassicina e per i glucosinolati minori, nei germinelli posti alla temperatura di 20 °C è stato rilevato un decremento del loro quantitativo rispetto a quelli posti alla temperatura di 10 °C, seguito da un innalzamento dei valori alla temperatura di 30 °C (tab. 84).

In *Eruca sativa* le differenze del contenuto in glucosinolati nei tessuti sono state riscontrate significative per tutti e tre i casi riscontrati con riferimento ai diversi trattamenti termici (tab. 85). L'andamento è stato crescente sempre, con un incremento decisamente elevato per quanto riguarda la glucoerucina la quale da un valore di 1,4 µM/g di sostanza secca alla temperatura di 10 °C ha fatto registrare un valore della componente di 34,4 µM/g di sostanza secca alla temperatura di 30 °C (tab. 85).

Il contenuto totale in glucosinolati nelle due specie oggetto delle prove ha fatto registrare un andamento crescente, seppur con qualche eccezione, in entrambe le specie in rapporto ai livelli termici adottati nelle prove (tabb. 84,85). Per *Eruca sativa* in particolar modo le differenze fra le temperature adottate sono state significative per tutti i composti glucosinolati rilevati (tab. 85). È stato rilevato un incremento del contenuto in glucosinolati anche di venti volte in più fra il trattamento a 10 °C ed il trattamento a 30 °C come nel caso della glucoerucina (tab. 85).

Tabella 59 – Genotipi allo studio nella prima prova

Specie	Nome comune	Cultivar
<i>Alliaceae</i>		
<i>Allium cepa</i>	Cipolla	'Rossa di Firenze'
<i>Allium cepa</i>	Cipolla	'Precocissima di Pompei'
<i>Allium cepa</i>	Cipolla	'Tropea rossa tonda'
<i>Allium porrum</i>	Porro	'S. Giovanni 90'
<i>Allium schoenoprasum</i>	Erba cipollina	a foglia robusta
<i>Apiaceae</i>		
<i>Daucus carota</i>	Carota	-
<i>Foeniculum vulgare</i>	Finocchio	'Romanesco'
<i>Foeniculum vulgare</i>	Finocchio	'Chiarino'
<i>Asteraceae</i>		
<i>Helianthus annuus</i>	Girasole	-
<i>Brassicaceae</i>		
<i>Brassica nigra</i>	Senape nera	-
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>	Cavolo	'Laciniato nero di Toscana'
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>	Cavolo di Bruxelles	'Mezzo nano'
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	Cavolo Broccolo	'Ramoso calabrese medio precoce'
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	Cavolo Broccolo	'Ramoso calabrese tardivo'
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabauda</i>	Cavolo verza	'D'Asti S. Martino'
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabauda</i>	Cavolo verza	'Di Piacenza'
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabauda</i>	Cavolo verza	'Violaceo di Verona-Arena'
<i>Brassica rapa</i>	Cime di rapa	'Quarantina'
<i>Brassica rapa</i>	Cime di rapa	'Sessantina'
<i>Brassica rapa</i>	Cime di rapa	'Novantina'
<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	Rucola	'A foglia frastagliata'

segue →

Specie	Nome comune	Cultivar
<i>Eruca sativa</i>	Rucola	coltivata
<i>Eruca sativa</i>	Rucola	coltivata a foglia lobata
<i>Lepidium sativum</i>	Crescione comune	-
<i>Raphanus sativus</i> var. <i>major</i>	Ramolaccio	'Nero tondo d'inverno'
<i>Raphanus sativus</i> var. <i>longipinnatus</i>	Daikon	
<i>Raphanus sativus</i>	Ravanello	'Biglia rossa'
<i>Raphanus sativus</i>	Ravanello	'Rosso tondo'
<i>Raphanus sativus</i>	Ravanello	'Saxa 3'
<i>Sinapis alba</i>	Senape bianca	-
<i>Sinapis arvensis</i>	Senape spontanea	-
Caprifoliaceae		
<i>Valeriana officinalis</i>	Valeriana	'Baval'
Poaceae		
<i>Triticum durum</i>	Frumento duro	-
<i>Triticum Aestivum</i>	Frumento tenero	-

Tabella 60 - Genotipi allo studio nella seconda prova

Specie	Nome comune	Cultivar
Apiaceae		
<i>Daucus Carota</i>	Carota	'Berlicum'
Alliaceae		
<i>Allium cepa</i>	Cipolla	'Morgana'
Brassicaceae		
<i>Eruca sativa</i>	Rucola	-
<i>Brassica oleracea</i>	Cavolo broccolo	'Ramoso calabrese medio precoce'

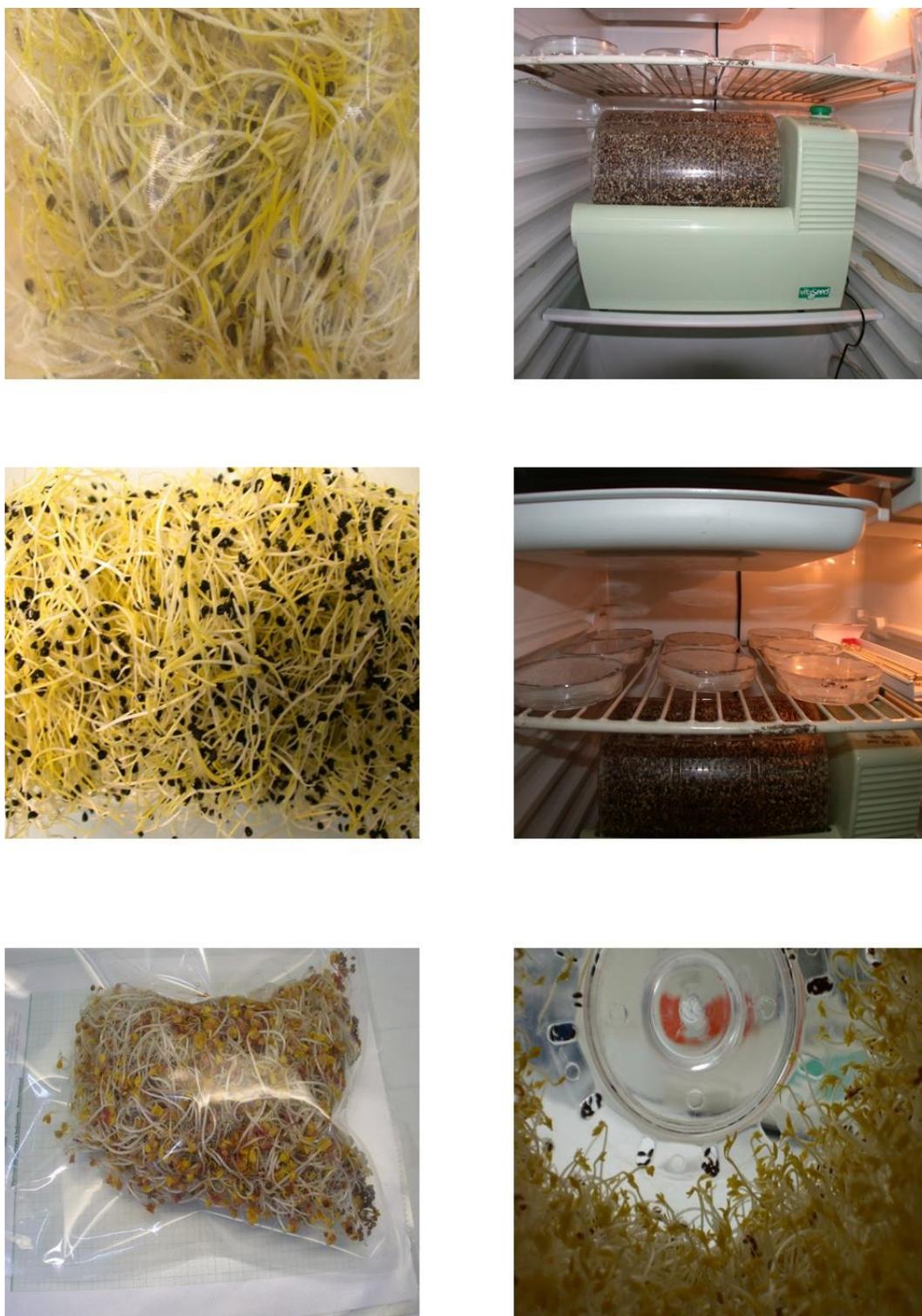


Figura 50 – Strumentazione utilizzata per la produzione dei germinelli

Tabella 61 – Caratteristiche dei lotti di seme utilizzati nella prima prova

	Peso 1000 semi (g)	Semi in un grammo (n)	Umidità (Mpa)	Perimetro (mm)	Dimensione	
					longitudinale (mm)	trasversale (mm)
<i>Alliaceae</i>						
Cipolla "Rossa di Firenze"	3,7	271,0	-88,7	9,0	2,8	2,0
Cipolla "Precocissima di Pompei"	3,9	277,0	-93,3	9,4	2,6	2,0
Cipolla "Tropea rossa tonda"	3,1	318,0	-90,1	8,1	2,8	2,0
Erba cipollina a foglia robusta	1,4	663,0	-98,4	2,8	1,0	0,5
Porro "S.Giovanni 90"	3,4	282,0	-79,1	7,9	2,8	1,9
<i>Apiaceae</i>						
Carota	2,6	607,0	-90,5	9,3	3,7	1,7
Finocchio "Romanesco"	3,8	251,0	-81,1	12,6	5,3	2,1
Finocchio "Chiarino"	4,7	219,0	-89,3	13,0	4,8	1,8
<i>Asteraceae</i>						
Girasole	40,8	24,0	-80,8	26,7	9,9	3,8
<i>Brassicaceae</i>						
Cavolo Broccolo "Ramoso calabrese medio precoce"	3,8	299,0	-93,0	6,6	1,7	1,8
Cavolo Broccolo "Ramoso calabrese tardivo"	3,1	343,0	-95,6	6,6	1,8	1,7
Cavolo Bruxelles "Mezzo nano"	4,2	269,0	-84,9	7,2	2,2	1,9
Cavolo laciniato "Nero di Toscana"	1,7	375,0	-88,8	6,3	1,5	1,7
Cavolo verza "D'Asti S. Martino"	3,1	344,0	-106,5	5,8	1,5	1,6
Cavolo verza "Di Piacenza"	2,3	398,0	-105,7	6,1	1,6	1,7
Cavolo verza violaceo "Di Verona-Arena"	3,4	289,0	-110,0	6,3	1,7	1,8
Cime di rapa "Quarantina"	2,0	581,0	-122,8	5,0	1,3	1,4
Cime di rapa "Sessantina"	2,1	558,0	-102,5	5,7	1,4	1,5
Cime di rapa "Novantina"	2,0	615,0	-100,0	5,0	1,7	1,4
Crescione comune	2,7	545,0	-82,2	6,5	2,5	1,2
Daikon	15,7	65,0	-96,2	11,7	2,8	3,3
Ramolaccio "Nero tondo d'inverno"	10,4	106,0	-101,3	9,4	3,0	2,5
Ravanello "Biglia rossa"	5,1	200,0	-91,3	8,0	2,3	2,3
Ravanello "Rosso tondo"	6,8	155,0	-99,9	8,9	2,4	2,6
Ravanello "Saxa 3"	7,8	134,0	-98,2	8,7	2,8	2,5
Rucola selvatica a foglia frastagliata	0,5	1923,0	-83,0	2,9	1,9	0,7
Rucola coltivata	1,7	579,0	-92,0	5,5	1,9	1,3
Rucola coltivata a foglia lobata	1,7	701,0	-91,0	5,1	1,7	1,3
Senape bianca	7,1	160,0	-79,7	7,5	2,4	2,2
Senape nera	0,7	1010,0	-94,8	4,1	1,1	1,1
Senape spontanea	1,5	752,0	-108,0	4,4	1,4	1,3
<i>Caprifoliaceae</i>						
Valeriana "Baval"	2,3	568,0	-87,1	8,7	2,6	2,7
<i>Poaceae</i>						
Fruento duro	50,1	22,0	-129,3	21,1	7,2	3,4
Fruento tenero	39,1	31,0	-84,6	15,5	5,8	3,4

Tabella 62– Caratteristiche del processo di germinazione dei lorri di seme utilizzato nella prima prova

	Germinabilità (%)	TMG (d)	CUG
<i>Alliaceae</i>			
Cipolla rossa di Firenze	92,0	7,1	4,5
Cipolla precocissima di Pompei	85,5	7,3	2,6
Cipolla Tropea rossa tonda	81,5	8,0	8,1
Erba cipollina a foglia robusta	91,5	6,3	1,8
Porro S.Giovanni 90	93,0	6,9	1,7
<i>Apiaceae</i>			
Carota	92,5	8,2	3,7
Finocchio romanesco	88,0	7,8	2,6
Finocchio chiarino	72,5	11,7	5,7
<i>Asteraceae</i>			
Girasole	92,5	6,0	1,7
<i>Brassicaceae</i>			
Cavolo Broccolo ramoso calabrese medio precoce	90,0	3,9	2,1
Cavolo Broccolo ramoso calabrese tardivo	68,0	2,2	2,0
Cavolo Bruxelles mezzo nano	90,0	7,6	7,6
Cavolo laciniato nero di Toscana	90,0	4,9	4,2
Cavolo verza d'Asti S. Martino	92,5	4,4	1,8
Cavolo verza di Piacenza	92,0	4,7	1,8
Cavolo verza violaceo di Verona-Arena	87,5	5,5	2,3
Cime di rapa quarantina	100,0	2,3	0,2
Cime di rapa sessantina	91,5	2,5	0,3
Cime di rapa novantina	93,5	2,8	0,9
Crescione comune	93,5	2,3	0,2
Daikon	95,0	2,3	0,4
Ramolaccio nero tondo d'inverno	90,5	4,0	2,4
Ravanello biglia rossa	91,5	2,2	0,2
Ravanello rosso tondo	84,0	3,2	2,4
Ravanello saxa 3	95,5	2,4	1,1
Rucola selvatica a foglia frastagliata	41,5	6,9	2,9
Rucola coltivata	92,5	2,7	1,5
Rucola coltivata a foglia lobata	96,5	2,2	0,2
Senape bianca	99,0	2,7	1,4
Senape nera	88,5	3,3	1,3
Senape spontanea	2,0	4,2	0,1
<i>Caprifoliaceae</i>			
Valeriana Baval	76,5	8,7	6,1
<i>Poaceae</i>			
Fruento duro	91,5	5,2	1,3
Fruento tenero	100,0	3,0	0,0

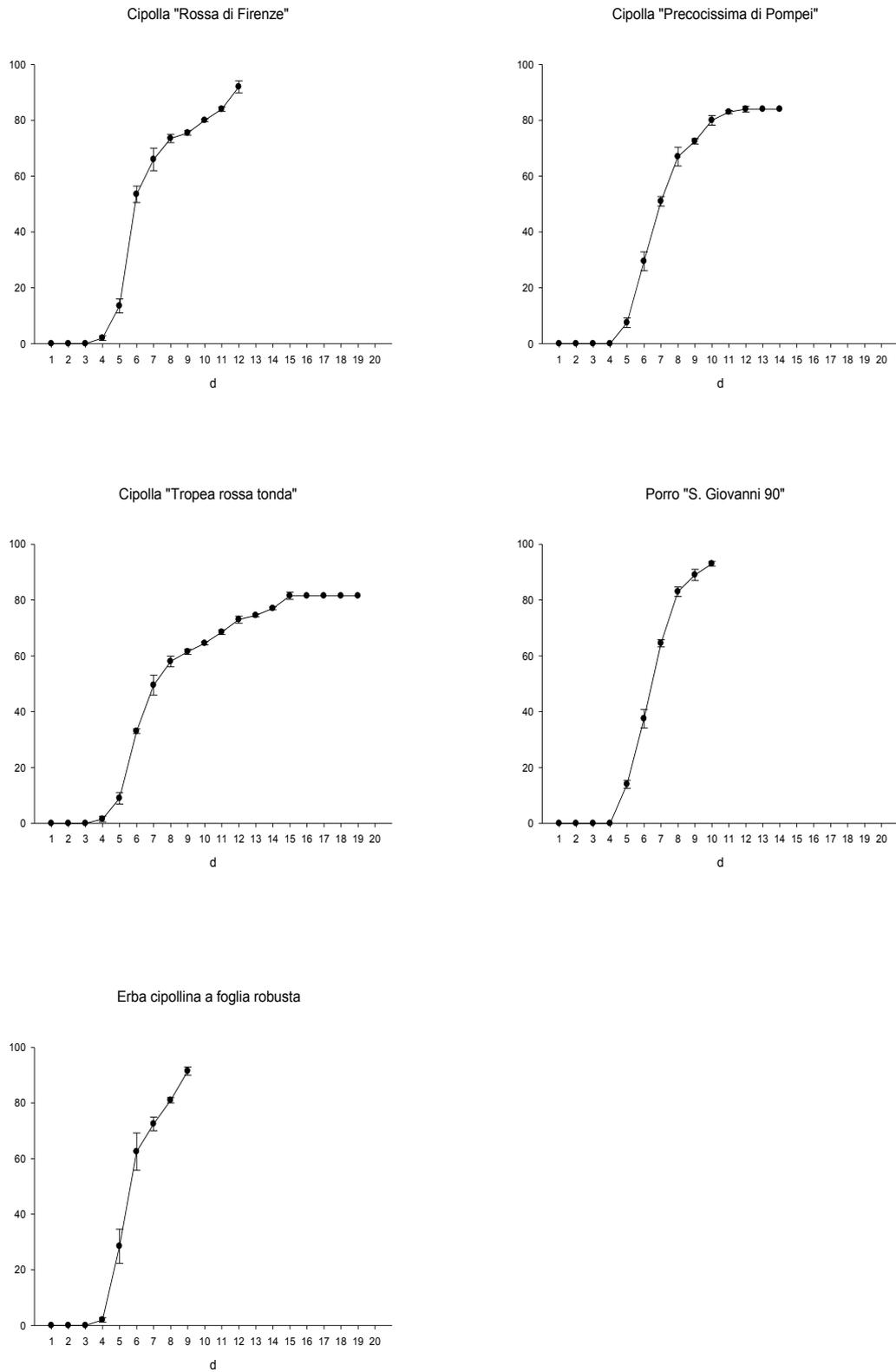
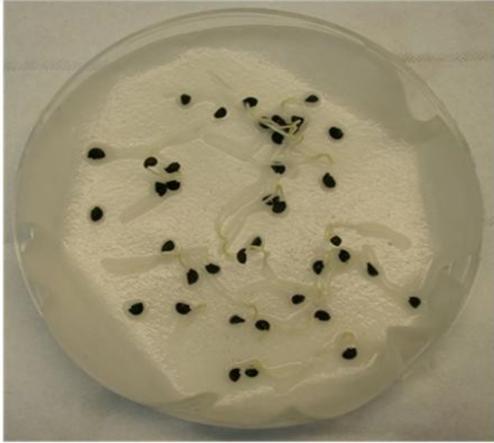


Figura 51 – Decorso del processo di germinazione di specie appartenenti alla famiglia delle Alliaceae (%)

Cipolla "Rossa di Firenze"



Cipolla "Precocissima di Pompei"



Cipolla "Tropea rossa tonda"



Porro "S. Giovanni 90"



Erba cipollina a foglia robusta



Figura 52 – Semi in fase di germinazione di specie della famiglia delle *Alliaceae*

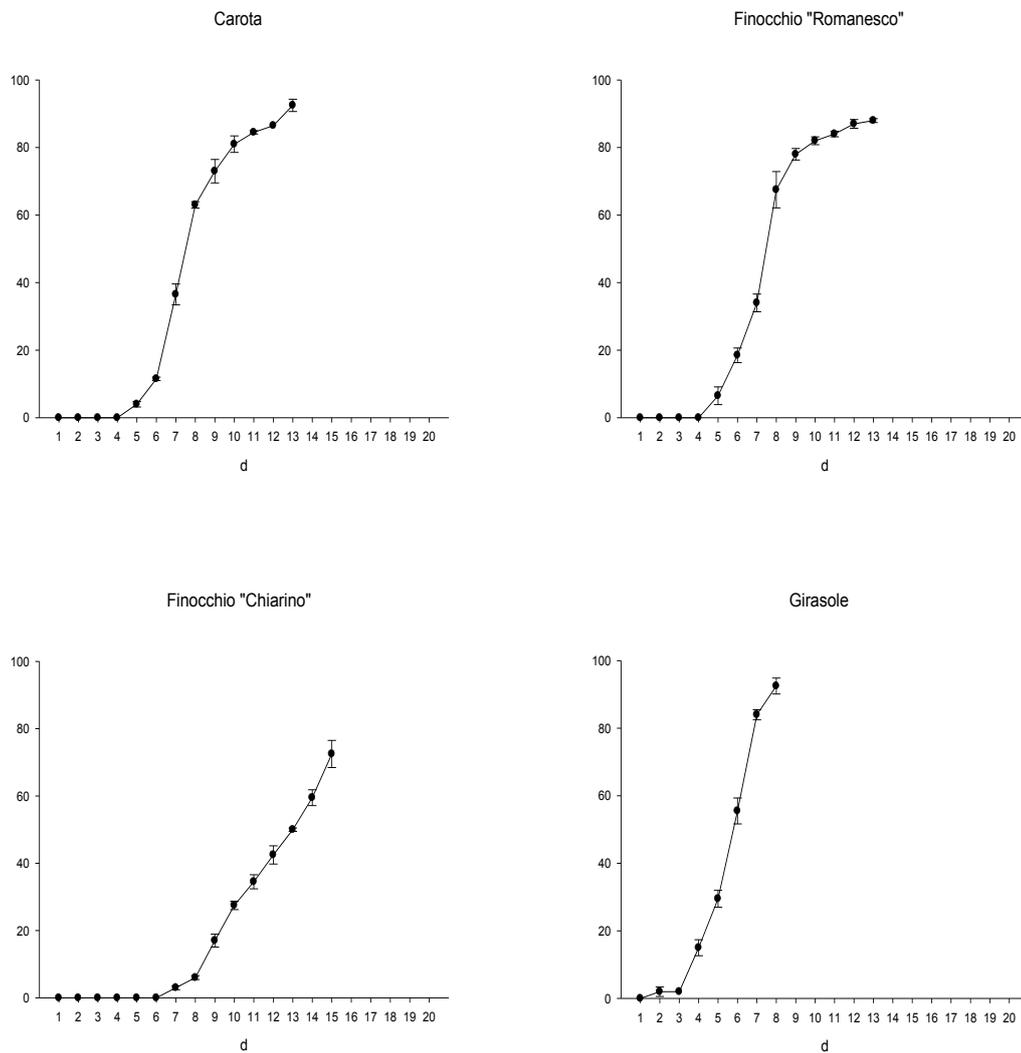


Figura 53 – Decorso del processo di germinazione di specie appartenenti alla famiglia delle Apiaceae ed Asteraceae (%)

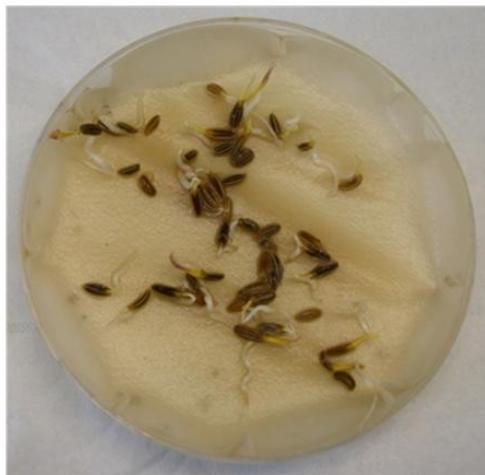
Carota



Finocchio "Romanesco"



Finocchio "Chiarino"



Girasole

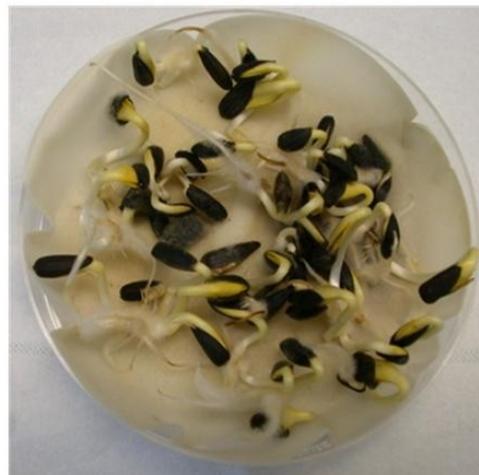


Figura 54 - Semi in fase di germinazione di specie della famiglia delle Apiaceae ed Asteraceae

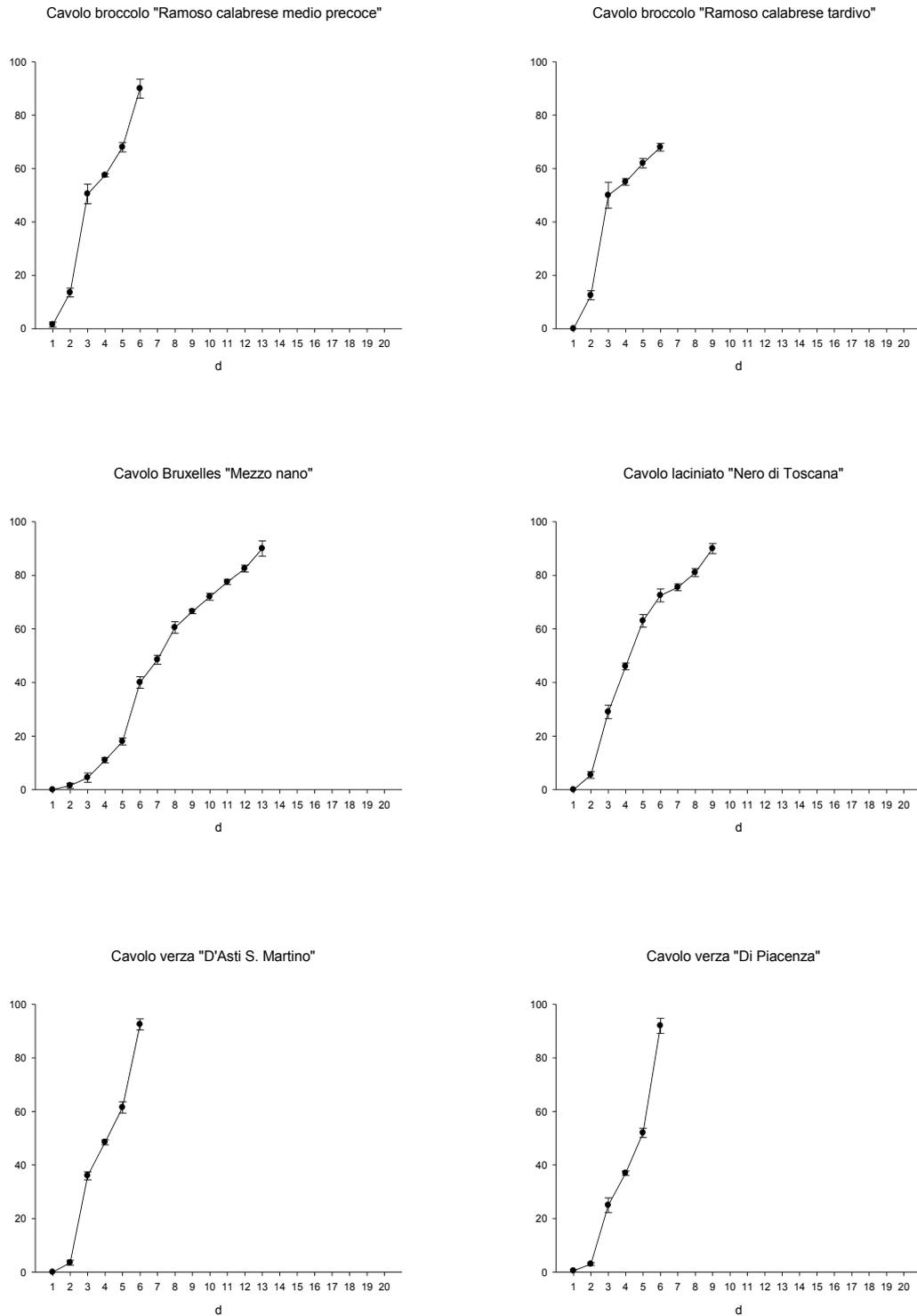
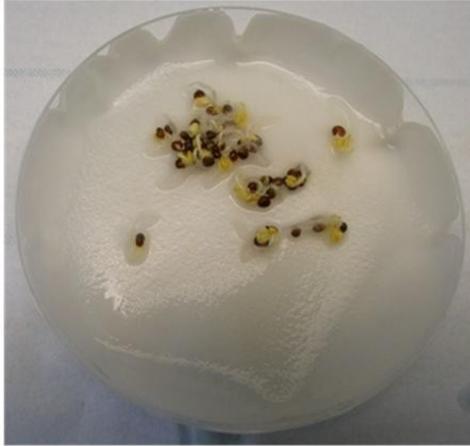


Figura 55 – Decorso del processo di germinazione di specie appartenenti alla famiglia delle Brassicaceae (%)

Cavolo broccolo "Ramoso calabrese medio precoce"



Cavolo broccolo "Ramoso calabrese tardivo"



Cavolo Bruxelles "Mezzo nano"



Cavolo laciniato "Nero di Toscana"



Cavolo verza "D' Asti S. Martino"



Cavolo verza "Di Piacenza"



Figura 56 - *Semi in fase di germinazione di specie della famiglia delle Brassicaceae*

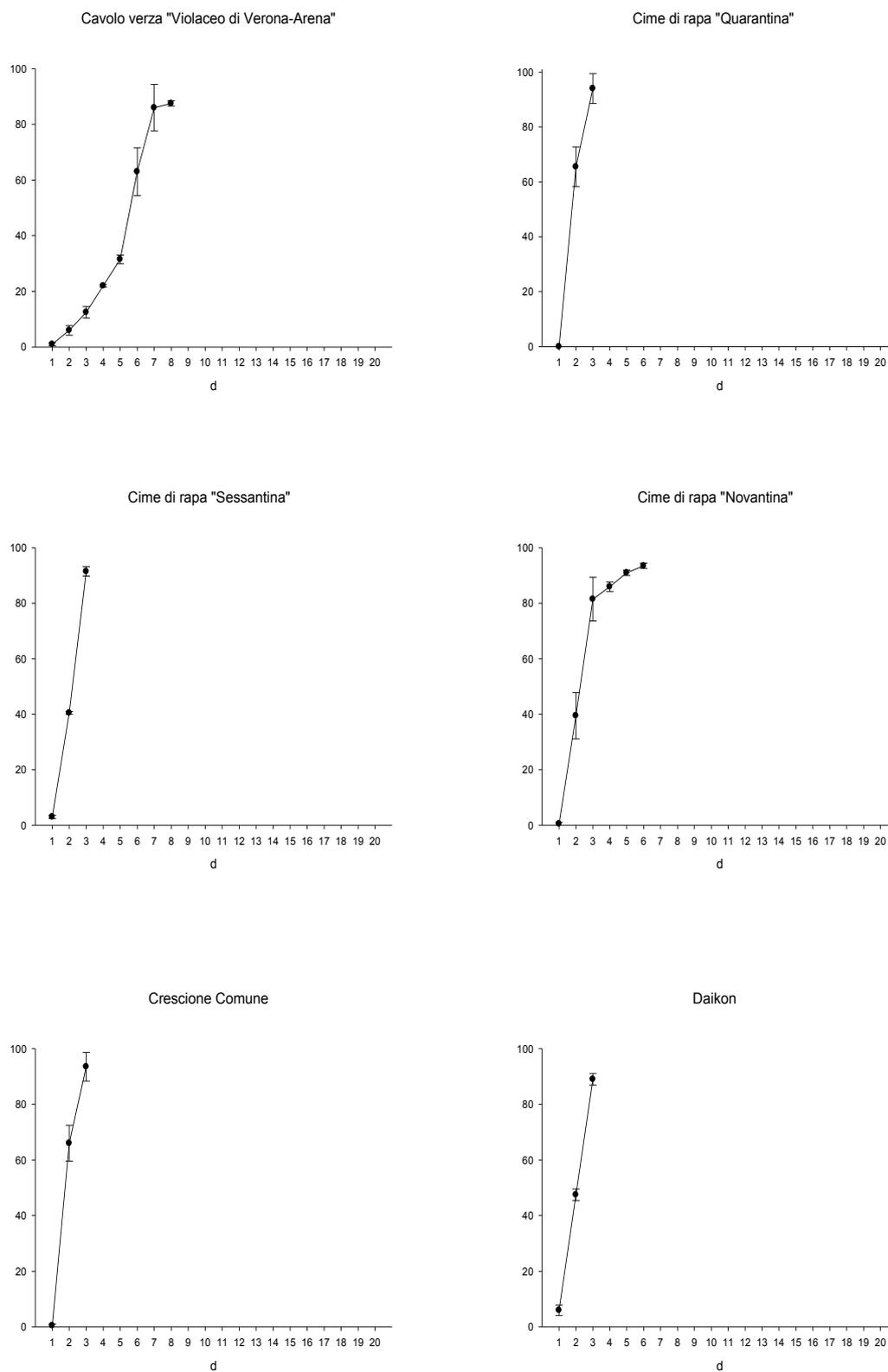
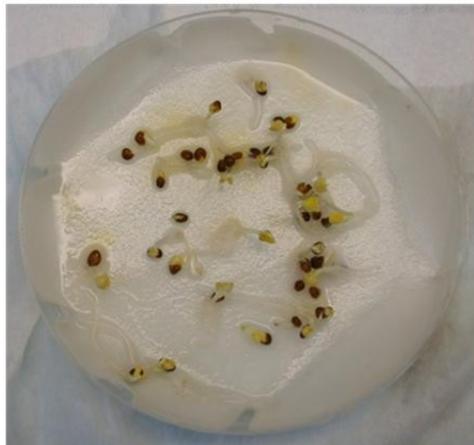


Figura 57 – Decorso del processo di germinazione di specie appartenenti alla famiglia delle Brassicaceae (%)

Cavolo verza "Violaceo di Verona-Arena"



Cime di rapa "Quarantina"



Cime di rapa "Sessantina"



Cime di rapa "Novantina"



Crescione Comune



Ramolaccio "Nero tondo d'inverno"

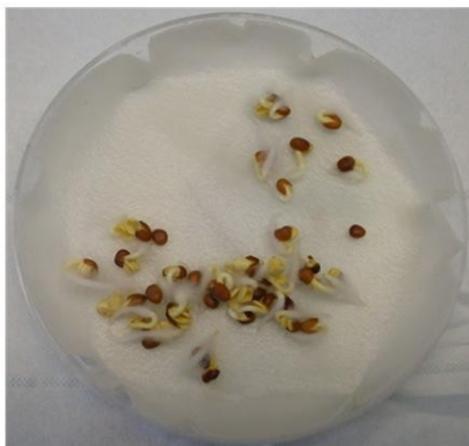


Figura 58 - Semi in fase di germinazione di specie della famiglia delle Brassicaceae

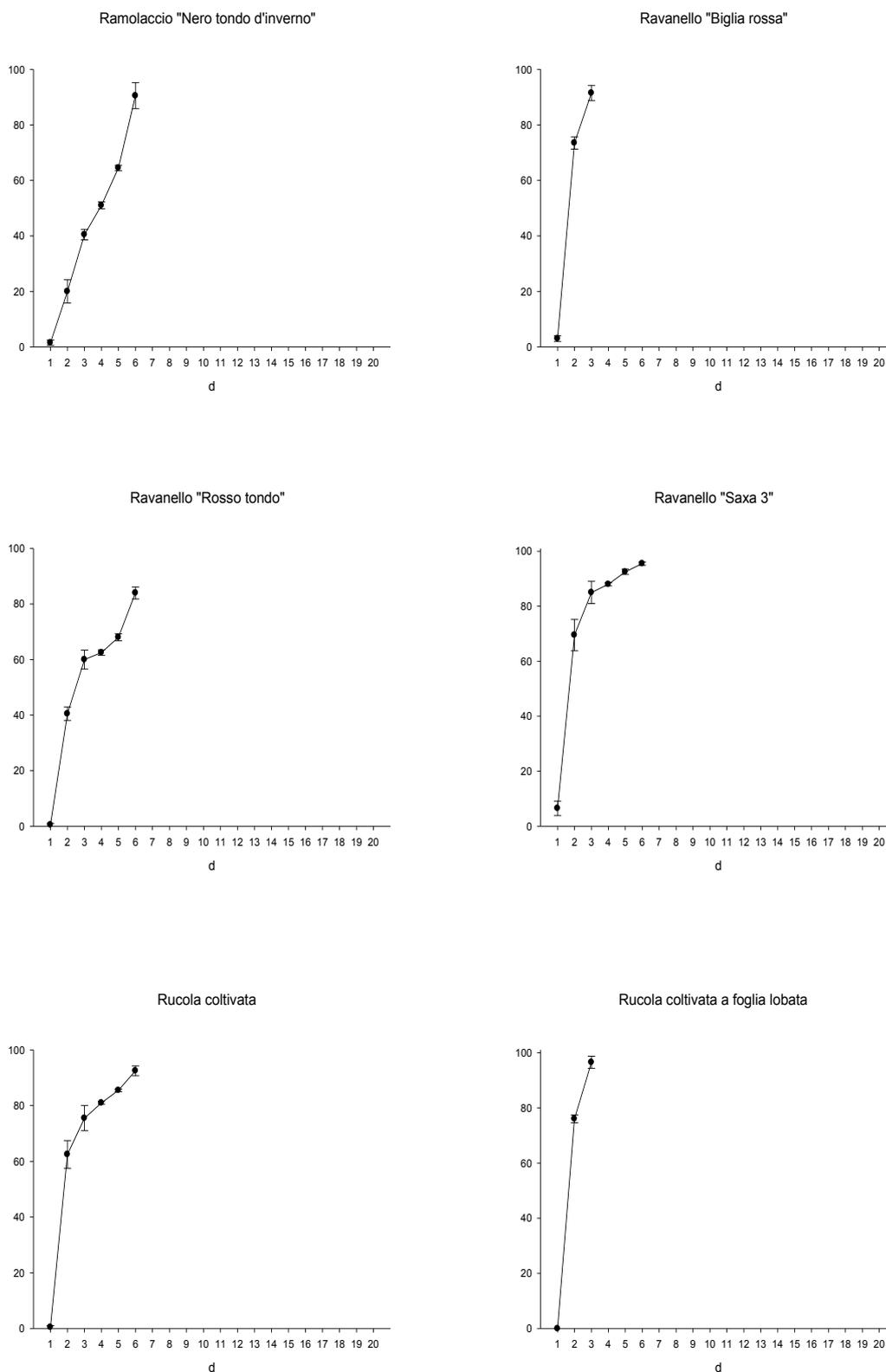
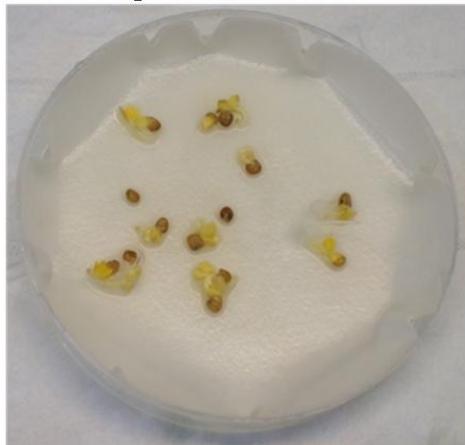


Figura 59 – Decorso del processo di germinazione di specie appartenenti alla famiglia delle Brassicaceae (%)

Ravanello "Biglia rossa"



Daikon



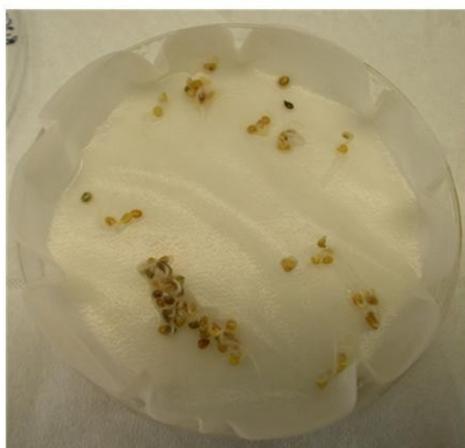
Ravanello "Rosso tondo"



Ravanello "Saxa 3"



Rucola coltivata



Rucola coltivata a foglia lobata



Figura 60 - Semi in fase di germinazione di specie della famiglia delle Brassicaceae

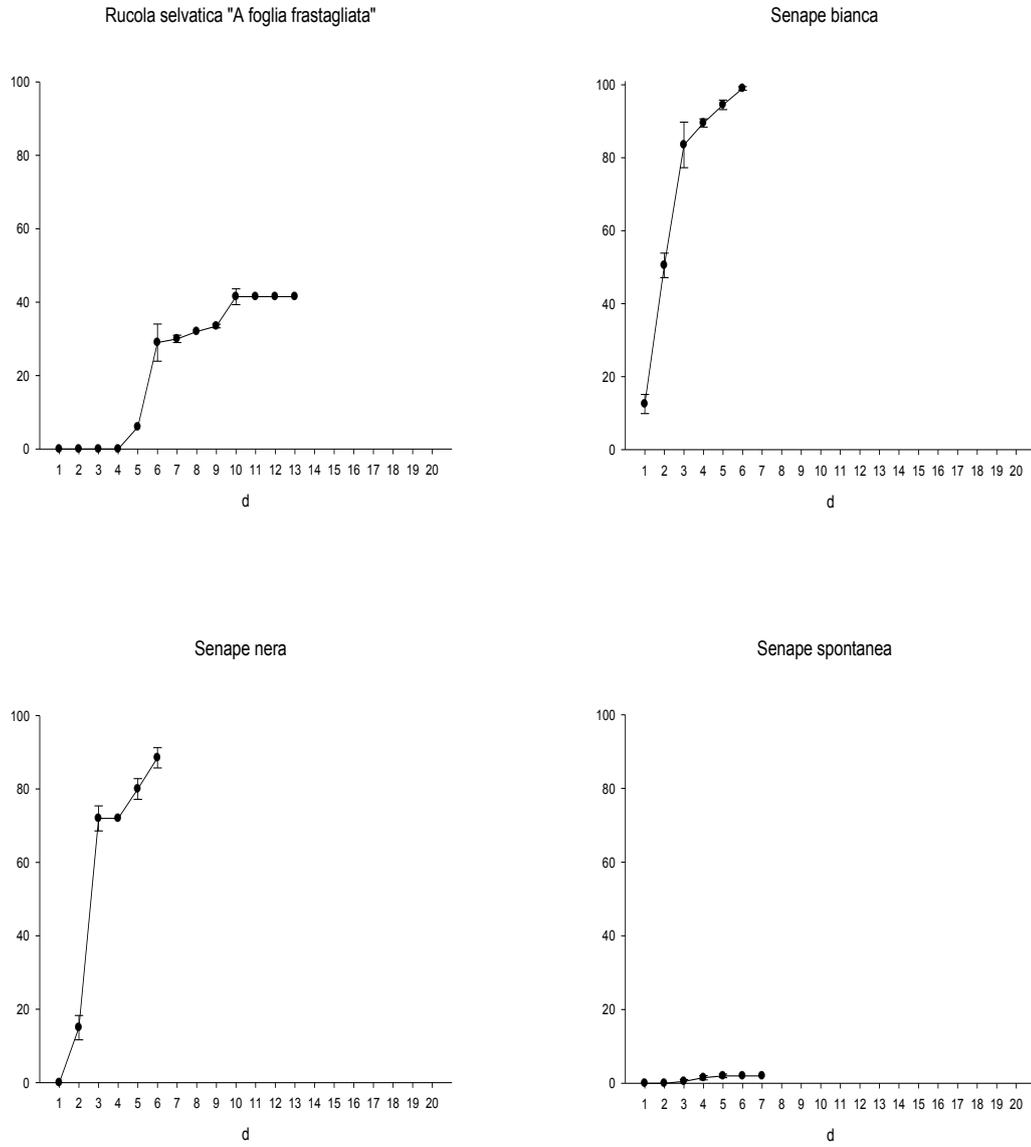
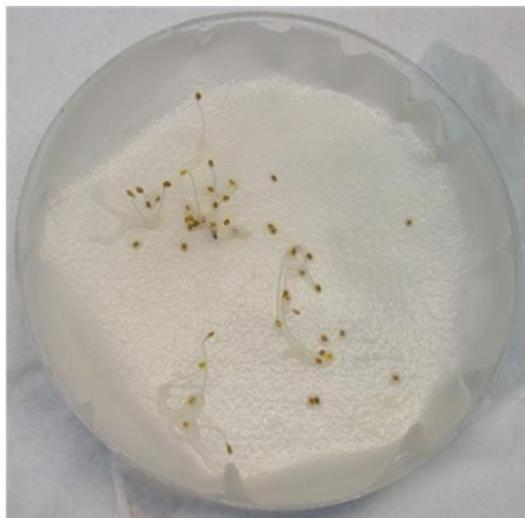
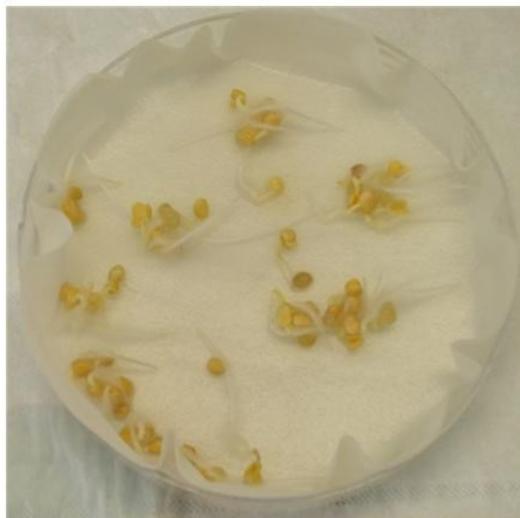


Figura 61 – Decorso del processo di germinazione di specie appartenenti alla famiglia delle Brassicaceae (%)

Rucola selvatica "A foglia frastagliata"



Senape bianca



Senape nera



Senape spontanea

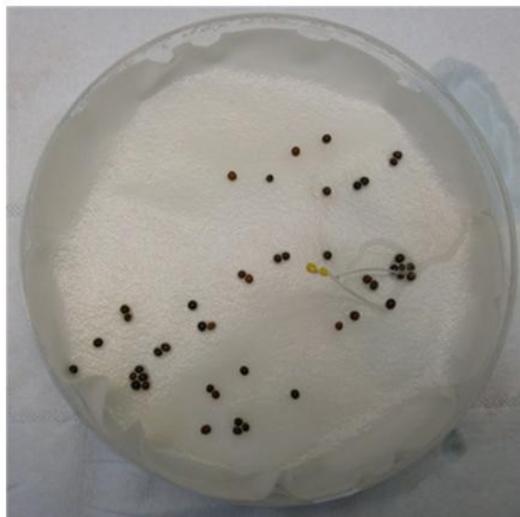


Figura 62 - *Semi in fase di germinazione di specie della famiglia delle Brassicaceae*

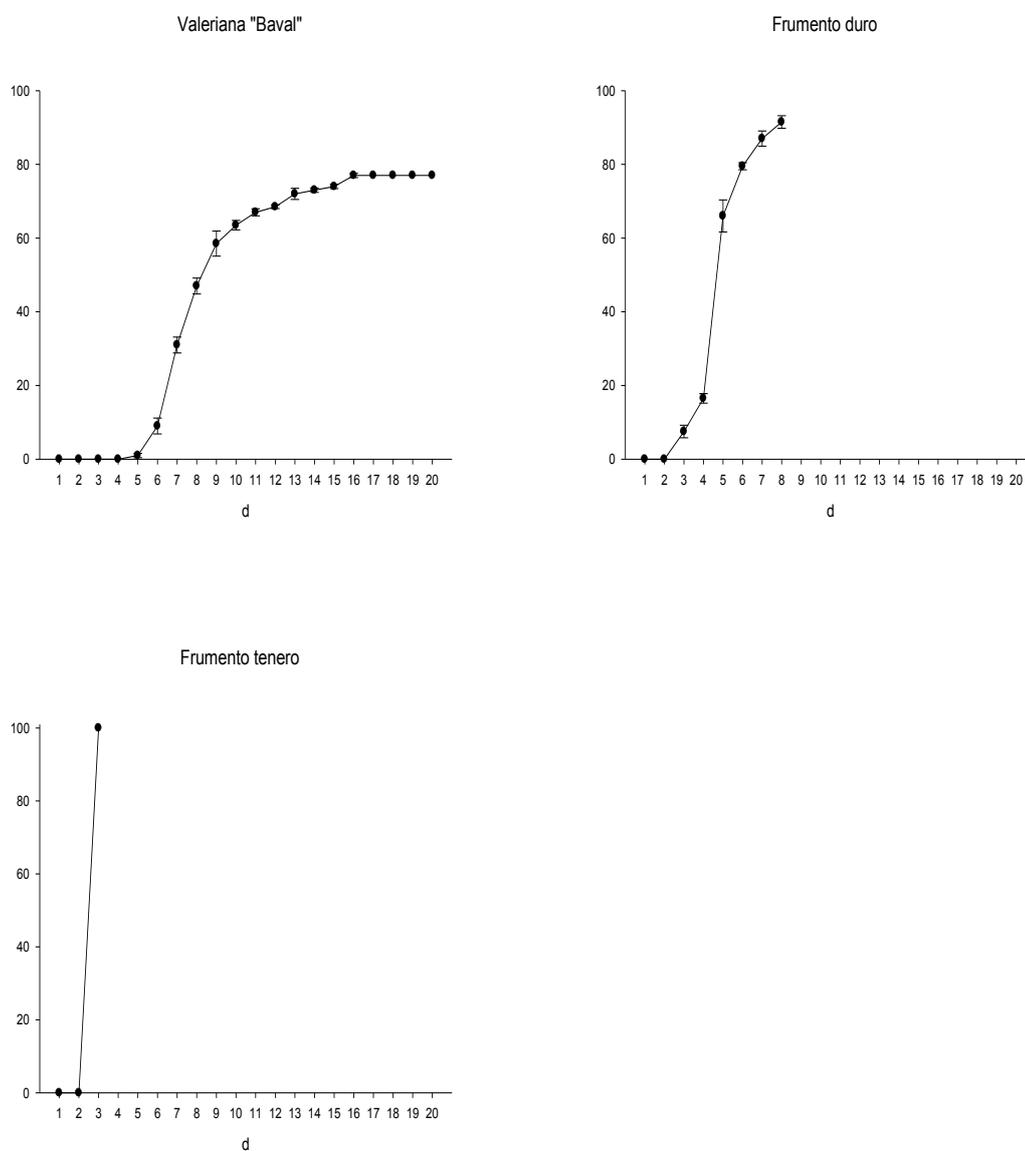
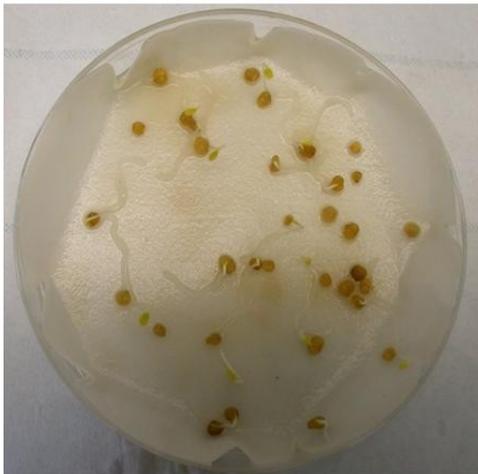


Figura 63 – Decorso del processo di germinazione di specie appartenenti alla famiglia delle Caprifoliaceae e delle Poaceae (%)

Valeriana "Baval"



Frmento duro



Frumento tenero

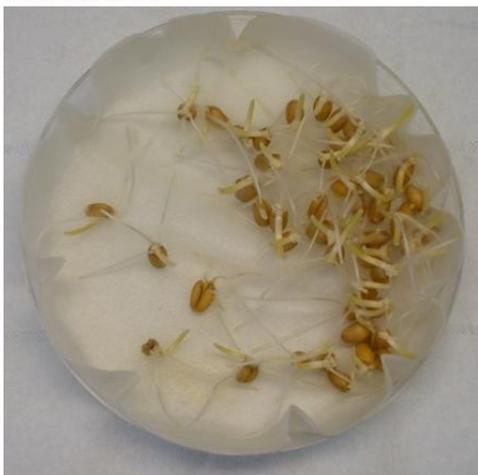


Figura 64 - Semi in fase di germinazione di specie della famiglia delle Caprifoliaceae e della famiglia delle Poaceae

Tabella 63 – Processo di produzione dei germinelli

	Peso seme (g)	Incremento in peso (%)	Residuo secco (%)
<i>Alliaceae</i>			
Cipolla rossa di Firenze	30,0	467,2	14,64
Cipolla precocissima di Pompei	27,0	442,1	9,97
Cipolla Tropea rossa tonda	25,1	527,3	8,17
Erba cipollina a foglia robusta	31,0	413,7	13,47
Porro S.Giovanni 90	32,0	557,4	11,62
<i>Apiaceae</i>			
Carota	25,0	297,2	15,66
Finocchio romanesco	20,0	948,1	6,05
Finocchio chiarino	22,0	903,3	4,92
<i>Asteraceae</i>			
Girasole	28,0	500,0	14,14
<i>Brassicaceae</i>			
Cavolo Broccolo ramoso calabrese medio precoce	38,3	900,4	7,65
Cavolo Broccolo ramoso calabrese tardivo	38,2	857,4	7,57
Cavolo Bruxelles mezzo nano	35,1	816,5	7,72
Cavolo laciniato nero di Toscana	35,0	802,9	8,61
Cavolo verza d'Asti S. Martino	32,9	365,5	19,14
Cavolo verza di Piacenza	33,8	544,1	12,91
Cavolo verza violaceo di Verona-Arena	36,0	646,5	11,48
Cime di rapa quarantina	38,0	956,8	9,02
Cime di rapasessantina	35,0	776,0	11,04
Cime di rapa novantina	36,3	940,4	7,10
Crescione comune	45,0	401,6	11,55
Daikon	42,0	535,3	16,10
Ramolaccio nero tondo d'inverno	39,1	480,7	15,30
Ravanello biglia rossa	40,0	618,5	12,54
Ravanello rosso tondo	40,1	898,3	8,80
Ravanello saxa 3	38,1	694,0	10,22
Rucola selvatica a foglia frastagliata	40,0	328,6	10,38
Rucola coltivata	40,1	259,2	11,68
Rucola coltivata a foglia lobata	40,1	541,1	12,89
Senape bianca	45,1	154,0	52,81
Senape nera	37,1	1006,5	7,00
Senape spontanea	40,0	322,3	16,34
<i>Caprifoliaceae</i>			
Valeriana Baval	9,7	250,8	11,97
<i>Poaceae</i>			
Fruento duro	45,1	161,1	38,98
Fruento tenero	45,1	283,4	26,59

Tabella 64 – Composti antiossidanti rilevati nei semi ($\text{mg g}^{-1\text{s.s.}}$)

	Polifenoli	β -carotene	Antocianine	Vitamina C
<i>Alliaceae</i>				
Cipolla "Rossa di Firenze"	0,3	1,2	0,0	7,6
Cipolla "Precocissima di Pompei"	0,3	0,8	0,0	5,8
Cipolla "Tropea rossa tonda"	0,8	1,1	0,0	5,8
Erba cipollina a foglia robusta	0,8	1,0	0,0	7,2
Porro "S.Giovanni 90"	1,0	1,2	0,0	6,7
<i>Apiaceae</i>				
Carota	4,4	0,6	0,0	6,5
Finocchio "Romanesco"	9,9	1,2	0,0	7,0
Finocchio "Chiarino"	10,1	1,0	0,0	6,6
<i>Asteraceae</i>				
Girasole	15,4	1,1	0,0	6,7
<i>Brassicaceae</i>				
Cavolo Broccolo "Ramoso calabrese medio precoce"	10,3	1,2	0,0	7,6
Cavolo Broccolo "Ramoso calabrese tardivo"	7,0	1,1	0,0	6,2
Cavolo Bruxelles "Mezzo nano"	13,2	1,2	0,0	7,4
Cavolo laciniato "Nero di Toscana"	9,1	1,0	0,0	7,1
Cavolo verza "D'Asti S. Martino"	9,5	1,0	0,0	7,2
Cavolo verza "Di Piacenza"	7,7	1,0	0,0	6,4
Cavolo verza violaceo "Di Verona-Arena"	11,5	1,1	0,0	7,0
Cime di rapa "Quarantina"	6,4	0,9	0,0	7,3
Cime di rapa "Sessantina"	6,3	1,0	0,0	7,0
Cime di rapa "Novantina"	7,8	1,1	0,0	7,0
Crescione comune	22,1	0,6	0,0	5,4
Daikon	8,7	0,8	0,0	6,8
Ramolaccio "Nero tondo d'inverno"	9,1	1,0	0,0	6,1
Ravanello "Biglia rossa"	9,1	1,0	0,0	6,0
Ravanello "Rosso tondo"	8,3	1,0	0,0	7,3
Ravanello "Saxa 3"	8,3	1,0	0,0	6,5
Rucola selvatica a foglia frastagliata	19,7	1,1	0,0	5,8
Rucola coltivata	8,5	1,0	0,0	7,3
Rucola coltivata a foglia lobata	7,3	1,1	0,1	6,2
Senape bianca	27,6	1,0	0,0	7,3
Senape nera	10,0	1,1	0,0	6,9
Senape spontanea	23,0	1,2	0,0	6,6
<i>Caprifoliaceae</i>				
Valeriana "Baval"	6,4	1,2	0,0	7,1
<i>Poaceae</i>				
Fruento duro	2,4	0,7	0,0	7,2
Fruento tenero	2,1	0,4	0,0	6,7

Tabella 65 – Composti antiossidanti rilevati nei germinelli (mg g⁻¹s.s.)

	Polifenoli 0d	Polifenoli 7d	β - carotene 0d	β - carotene 7d	Antocianine 0d	Antocianine 7d	Vitamina C 0d	Vitamina C 7d
<i>Alliaceae</i>								
Cipolla "Rossa di Firenze"	10,7	16,1	1,2	1,3	0,0	0,0	4,7	5,3
Cipolla "Precocissima di Pompei"	14,1	16,9	1,3	1,2	0,0	0,0	4,4	5,3
Cipolla "Tropea rossa tonda"	10,1	11,8	1,3	1,2	0,0	0,0	5,5	5,9
Erba cipollina a foglia robusta	9,8	14,2	1,2	1,2	0,0	0,0	4,2	4,56
Porro "S. Giovanni 90"	10,6	14,5	1,2	1,2	0,0	0,0	4,2	5,0
<i>Apiaceae</i>								
Carota	18,5	18,7	1,4	1,2	0,2	0,0	4,0	4,3
Finocchio "Romanesco"	11,5	18,2	1,3	1,3	0,0	0,0	3,4	4,7
Finocchio "Chiarino"	24,0	24,6	1,0	1,2	0,0	0,0	5,0	6,2
<i>Asteraceae</i>								
Girasole	24,4	27,6	1,3	1,3	0,0	0,0	4,1	4,9
<i>Brassicaceae</i>								
Cavolo Broccolo "Ramoso calabrese medio precoce"	29,4	30,4	1,4	0,8	0,0	0,0	6,8	7,4
Cavolo Broccolo "Ramoso calabrese tardivo"	29,3	31,4	1,4	1,3	0,0	0,0	6,2	5,7
Cavolo Bruxelles "Mezzo nano"	30,8	32,0	0,5	1,4	0,0	0,0	7,1	5,9
Cavolo laciniato "Nero di Toscana"	29,9	30,0	1,3	1,3	0,1	0,0	6,5	7,0
Cavolo verza "D'Asti S. Martino"	25,1	28,5	1,2	1,3	0,0	0,0	4,6	6,6
Cavolo verza "Di Piacenza"	28,3	31,8	1,4	1,3	0,0	0,0	5,9	6,4
Cavolo verza violaceo "Di Verona-Arena"	31,3	32,8	1,3	1,4	0,0	0,0	6,4	6,6
Cime di rapa "Quarantina"	27,3	26,9	1,4	1,2	0,0	0,0	6,2	4,3
Cime di rapa "Sessantina"	24,6	29,7	1,1	0,7	0,0	0,0	5,7	6,2
Cime di rapa "Novantina"	26,9	31,1	1,4	1,3	0,0	0,0	6,8	7,1
Crescione comune	30,0	33,7	1,3	1,3	0,0	0,0	5,3	4,8
Daikon	28,9	30,8	1,2	1,2	0,0	0,0	4,1	4,6
Ramolaccio "Nero tondo d'inverno"	27,8	30,4	1,3	1,3	0,0	0,0	5,3	5,6
Ravanello "Biglia rossa"	30,6	30,4	0,9	0,7	0,0	0,0	6,1	5,2
Ravanello "Rosso tondo"	27,2	29,2	1,3	1,3	0,0	0,0	3,0	6,7
Ravanello "Saxa 3"	31,3	30,6	1,3	1,4	0,0	0,0	6,4	6,3
Rucola selvatica a foglia frastagliata	25,4	27,8	1,3	1,2	0,0	0,0	5,7	6,6
Rucola coltivata	21,2	30,6	1,2	1,3	0,0	0,0	5,3	5,6
Rucola coltivata a foglia lobata	23,4	27,3	1,2	1,3	0,01	0,2	4,7	6,1
Senape bianca	32,8	33,4	1,0	1,1	0,0	0,0	4,7	3,6
Senape nera	26,2	29,4	1,3	1,3	0,0	0,0	5,3	6,1
Senape spontanea	24,2	30,8	1,0	1,1	0,1	0,03	5,3	6,0
<i>Caprifoliaceae</i>								
Valeriana "Baval"	6,1	7,2	1,1	1,0	0,0	0,0	3,9	3,4
<i>Poaceae</i>								
Fruento duro	5,7	6,4	0,5	0,3	0,0	0,0	3,6	3,6
Fruento tenero	10,8	11,9	0,5	0,4	0,0	0,0	4,3	5,2

Tabella 67 - Glucosinolati indolici ed aromatico rilevati nei semi e nei germinelli delle Brassicaceae allo studio ($\mu\text{M g}^{-1 \text{ s.s.}}$)

	4-OH GBS			GBS			Neo-GBS			GST		
	S	T0	T7	S	T0	T7	S	T0	T7	S	T0	T7
Cavolo broccolo "Ramoso calabrese medio precoce"	3,8	1,6	0,6		4,4	1,2		0,8	0,3		2,4	0,5
Cavolo broccolo "Ramoso calabrese tardivo"	3,8	1,9	0,05		7,2	0,3		1,3	0,04		3,9	0,2
Cavolo Bruxelles "Mezzo nano"	5,5	1,2	0,1		8,8	1,3		0,5	0,1		1,5	0,1
Cavolo laciniato "Nero di Toscana"	4,0	2,8	0,6		6,9	2,3		1,9	0,6		1,9	1,0
Cavolo verza "D'Asti S. Martino"	2,8	4,1	1,5		0,9	0,5		1,1	0,4		1,6	0,3
Cavolo verza "Di Piacenza"	4,4	2,6	1,7		4,5	1,9		0,9	0,6		1,2	0,6
Cavolo verza violaceo "Di Verona-Arena"	4,0	3,2	1,0		4,5	1,7		1,0	0,5		1,9	1,1
Cima di rapa "Quarantina"	3,5	0,8			1,3			0,4			0,5	
Cima di rapa "Sessantina"	2,2	1,1			3,5	0,2		0,7			1,6	
Cima di rapa "Novantina"	3,4	1,3			7,4			1,3			4,2	
Crescione comune												
Daikon	2,1	1,6	1,5									
Rucola selvatica a foglia frastagliata												
Rucola coltivata												
Rucola coltivata a foglia lobata												
Ramolaccio "Nero tondo d'inverno"	1,1	1,2	0,8									
Ravanello "Biglia rossa"	3,1	3,8	1,4									
Ravanello "Rosso tondo"	1,8											
Ravanello "Saxa 3"	1,4	2,4	0,4									
Senape bianca												
Senape nera												
Senape spontanea												

S= semi; T0= nessuna conservazione; T7= conservazione per 7 giorni a 4°C
 4-OH GBS=4-OH Glucobrassicina; GBS=Glucobrassicina; Neo-GBS=Neo-Glucobrassicina;
 GST=Gluconasturtina

Tabella 68 – *Glucosinolati totali e di altri presenti in tracce rilevati nei semi e nei germinelli delle Brassicaceae allo studio ($\mu\text{M g}^{-1 \text{ s.s.}}$)*

	GLs tot			Altri		
	S	T0	T7	S	T0	T7
Cavolo broccolo "Ramoso calabrese medio precoce"	51,0	62,6	30,3	10,1	13,7	5,3
Cavolo broccolo "Ramoso calabrese tardivo"	88,3	81,0	5,3	13,3	8,2	2,8
Cavolo Bruxelles "Mezzo nano"	85,1	53,5	13,8	15,1	12,1	5,4
Cavolo laciniato "Nero di Toscana"	60,6	64,5	34,2	13,9	21,8	18,8
Cavolo verza "D'Asti S. Martino"	49,1	64,8	22,7	10,4	19,8	6,6
Cavolo verza "Di Piacenza"	101,1	92,1	66,6	21,9	29,8	20,2
Cavolo verza violaceo "Di Verona-Arena"	115,8	142,1	74,6	26,0	58,5	34,9
Cima di rapa "Quarantina"	81,5	9,4		17,1	1,9	
Cima di rapa "Sessantina"	51,5	74,2	18,1	10,4	30,6	16,0
Cima di rapa "Novantina"	72,1	103,6	10,9	10,8	35,0	9,2
Crescione comune	112,5	72,6	90,0	10,4	3,9	6,2
Daikon	111,4	96,5	150,0	67,0	26,0	46,3
Rucola selvatica a foglia frastagliata	102,0	18,2	8,9	7,2	3,5	2,9
Rucola coltivata	129,7	46,5	22,7	7,7	6,3	3,3
Rucola coltivata a foglia lobata	122,8	8,2	4,8	8,9	3,1	2,3
Ramolaccio "Nero tondo d'inverno"	64,5	99,9	104,0	40,4	29,7	31,1
Ravanello "Biglia rossa"	99,1	149,1	91,8	52,7	78,5	54,0
Ravanello "Rosso tondo"	67,6	20,6	4,8	54,3	10,0	4,1
Ravanello "Saxa 3"	81,9	90,6	37,8	53,5	23,3	9,6
Senape bianca	248,0	140,5	163,1	18,1	8,1	8,0
Senape nera	157,5	2,6	4,4	20,3	0,9	1,1
Senape spontanea	254,3	42,4	36,4	35,5	6,2	5,5

S= semi; T0= nessuna conservazione; T7= conservazione per 7 giorni a 4°C
GLs Tot=Glucosinolati totali

Tabella 69 – Caratteristiche del seme utilizzato

	Carota	Cavolo broccolo	Cipolla	Rucola
Peso 1000 semi (g)	1,4	4,1	4,4	1,9
Semi in 1 grammo (n)	1031,0	353,0	221,0	661,0
Umidità (Mpa)	-83,6	-121,2	-86,4	-118,1
Perimetro (mm)	8,2	6,6	8,6	5,5
Dimensione longitudinale (mm)	2,5	1,6	2,8	1,6
Dimensione trasversale (mm)	1,6	1,7	2,2	1,3

Tabella 70 – Contenuto di antiossidanti nei semi

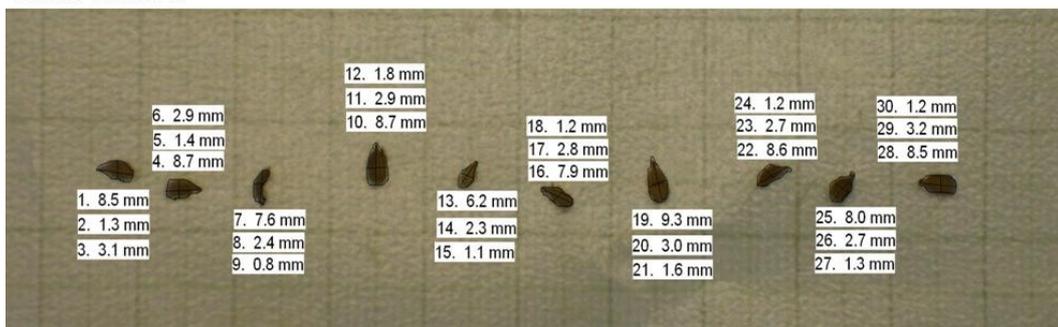
	Carota	Cavolo broccolo	Cipolla	Rucola
Polifenoli (mg/g s.s.)	4,06	11,4	0,7	13,0
β-carotene (mg/g s.s.)	1,27	1,2	0,8	1,1
Vitamina C (mg/g s.s.)	3,8	3,9	3,2	3,3

Tabella 71 – Contenuto di glucosinolati nei semi

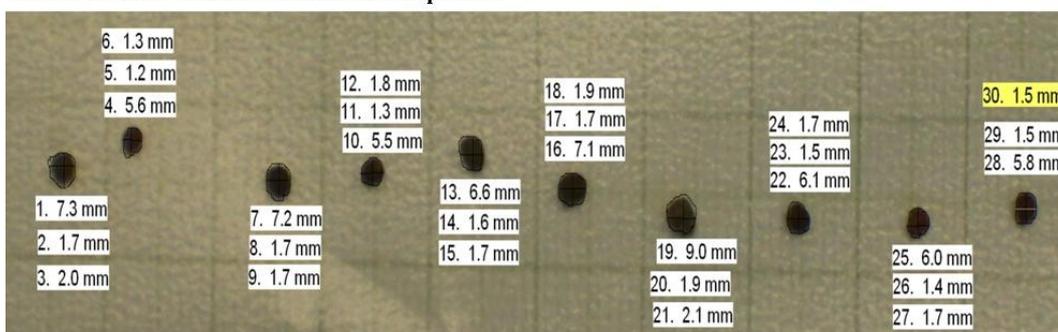
	Cavolo broccolo	Rucola
GRA ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	21,6	1,6
4-OH GBS ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	3,5	-
GER ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	14,1	64,0
GBS ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	-	-
GST ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	-	-
Neo-GBS ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	-	-
Altri ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	8,7	0,2
GLs TOT ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	47,9	65,8

GRA=Glucorafanina; 4-OH GBS=4-OH Glucobrassicina; GER=Glucorucina; GBS=Glucobrassicina; GST=Glucosturtina; Neo-GBS=Neo-Glucobrassicina; GLs Tot=Glucosinolati totali

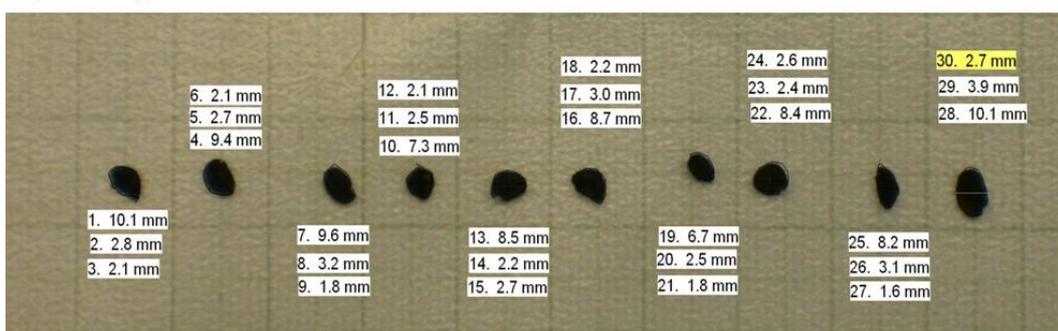
Carota "Berlicum"



Cavolo broccolo "Ramoso calabrese medio-precoce"



Cipolla "Morgana"



Rucola coltivata

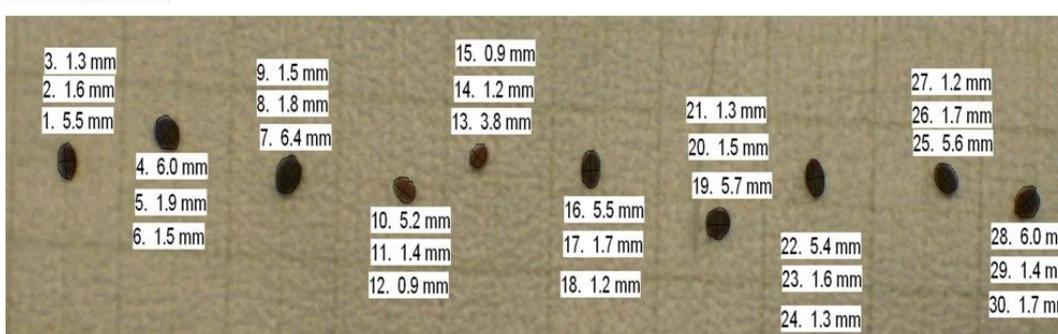


Figura 65 – Esempi di misurazione del perimetro e della dimensione longitudinale e trasversale dei semi effettuata mediante analizzatore d'immagine

Tabella 72 – Caratteristiche del processo di germinazione della cultivar *Berlicum* di carota

	10°C	20°C	30°C
Germinabilità (%)	88,0	91,0	76,0
TMG (d)	17,1	7,0	7,4
CUG	6,2	1,5	3,5

	D.M.S.					
	Germinabilità		TMG		CUG	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	1,1	1,7	1,4	2,2

Tabella 73 – Caratteristiche del processo di germinazione della cultivar *Ramoso calabrese medio precoce* di cavolo broccolo

	10°C	20°C	30°C
Germinabilità (%)	87,5	90,0	83,5
TMG (d)	10,1	5,1	3,9
CUG	9,7	2,6	1,6

	D.M.S.					
	Germinabilità		TMG		CUG	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	0,7	1,0	1,3	2,0

Tabella 74 – Caratteristiche del processo di germinazione della cultivar Morgana di cipolla

	10°C	20°C	30°C
Germinabilità (%)	92,0	93,5	83,0
TMG (d)	18,6	9,0	8,2
CUG	10,9	6,4	9,7

	D.M.S.					
	Germinabilità		TMG		CUG	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	0,8	1,2	2,6	n.s.

Tabella 75 – Caratteristiche del processo di germinazione della rucola coltivata

	10°C	20°C	30°C
Germinabilità (%)	94,0	97,0	90,0
TMG (d)	5,5	2,9	2,9
CUG	1,2	1,2	2,3

	D.M.S.					
	Germinabilità		TMG		CUG	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	0,4	0,6	0,6	0,9

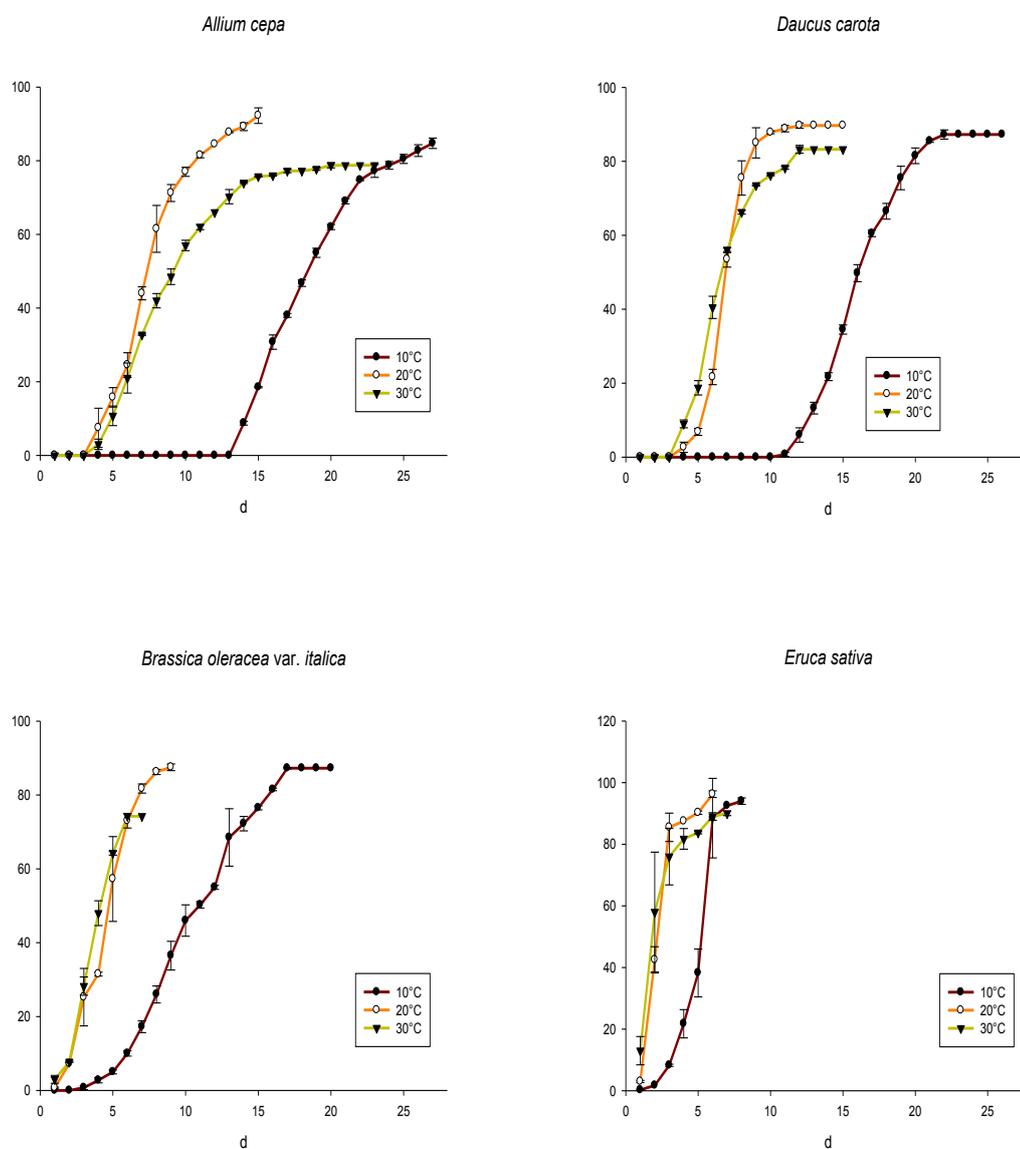
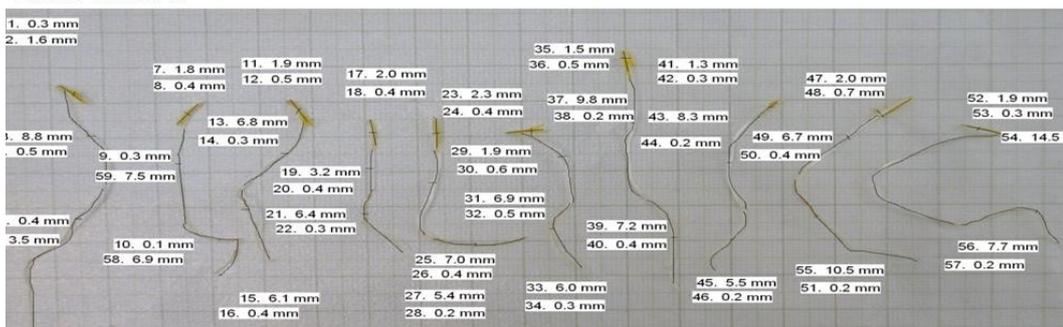
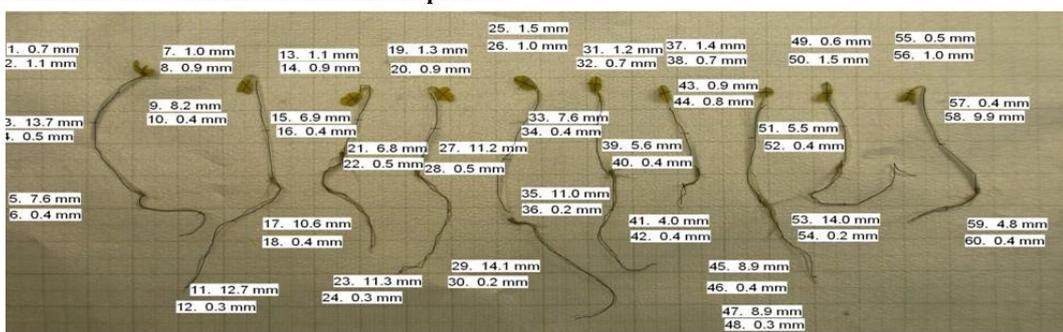


Figura 66 – Decorso della germinabilità delle quattro specie in rapporto alla temperatura

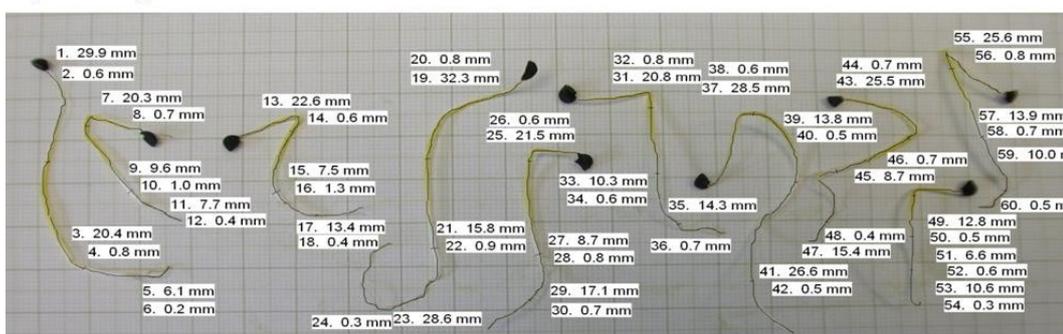
Carota "Berlicum"



Cavolo broccolo "Ramoso calabrese medio-precoc"



Cipolla "Morgana"



Rucola coltivata

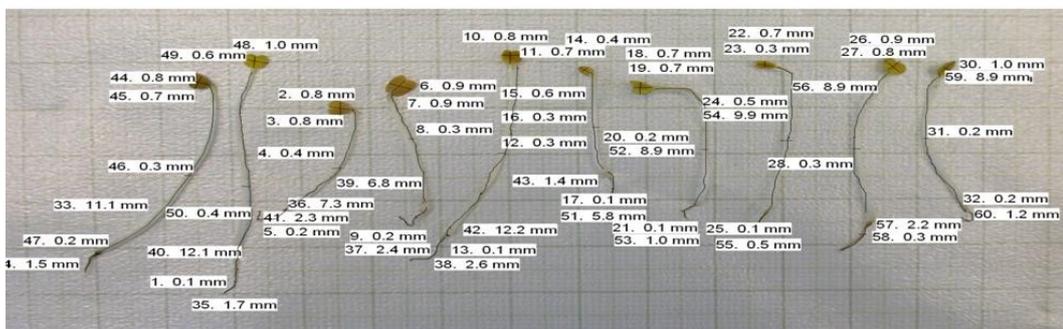


Figura 18 – Esempi di misurazione di dimensione longitudinale e trasversale di cotiledoni, asse ipocotile e radichetta dei germinelli effettuata mediante analizzatore d'immagine

Tabella 76 – Caratteristiche germinelli della cultivar *Berlicum di carota*

	10°C	20°C	30°C
Cotiledoni			
Dimensione longitudinale (mm)	6,3	6,7	6,7
Dimensione trasversale (mm)	1,1	0,4	0,5
Asse ipocotile			
Dimensione longitudinale (mm)	25,9	32,8	19,6
Dimensione trasversale (mm)	0,6	0,3	0,3
Radichetta			
Dimensione longitudinale (mm)	16,0	22,7	9,4
Dimensione trasversale (mm)	0,4	0,2	0,2

D.M.S.

	Cotiledoni				Asse ipocotile				Radichetta			
	Dim. long. P=0,05	Dim. Trasv. P=0,01										
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	8,9	n.s.	n.s.	n.s.

Tabella 77 – Caratteristiche germinelli della cultivar *Ramoso calabrese medio precoce di cavolo broccolo*

	10°C	20°C	30°C
Cotiledoni			
Dimensione longitudinale (mm)	3,2	3,3	3,3
Dimensione trasversale (mm)	0,8	0,9	1,1
Asse ipocotile			
Dimensione longitudinale (mm)	39,5	33,2	32,0
Dimensione trasversale (mm)	0,4	0,4	0,4
Radichetta			
Dimensione longitudinale (mm)	26,9	39,8	17,2
Dimensione trasversale (mm)	0,2	0,3	0,3

D.M.S.

	Cotiledoni				Asse ipocotile				Radichetta			
	Dim. long. P=0,05	Dim. Trasv. P=0,01										
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	4,7	7,8	n.s.	n.s.

Tabella 78 – Caratteristiche germinelli della cultivar Morgana di cipolla

	10°C	20°C	30°C
Cotiledoni			
Dimensione longitudinale (mm)	25,6	24,8	11,3
Dimensione trasversale (mm)	0,7	0,7	0,5
Asse Ipocotile			
Dimensione longitudinale (mm)	14,4	12,4	8,9
Dimensione trasversale (mm)	0,7	0,8	0,6
Radichetta			
Dimensione longitudinale (mm)	19,5	14,6	8,6
Dimensione trasversale (mm)	0,4	0,5	0,3

D.M.S.

	Cotiledoni				Asse ipocotile				Radichetta			
	Dim. long.		Dim. Trasv.		Dim. long.		Dim. Trasv.		Dim. long.		Dim. Trasv.	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabella 79 – Caratteristiche germinelli di rucola coltivata

	10°C	20°C	30°C
Cotiledoni			
Dimensione longitudinale (mm)	2,3	2,6	2,4
Dimensione trasversale (mm)	0,6	0,6	0,7
Asse Ipocotile			
Dimensione longitudinale (mm)	29,1	29,5	29,0
Dimensione trasversale (mm)	0,3	0,3	0,4
Radichetta			
Dimensione longitudinale (mm)	14,0	6,6	16,2
Dimensione trasversale (mm)	0,2	0,2	0,2

D.M.S.

	Cotiledoni				Asse ipocotile				Radichetta			
	Dim. long.		Dim. Trasv.		Dim. long.		Dim. Trasv.		Dim. long.		Dim. Trasv.	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,03	0,04	4,4	7,3	n.s.	n.s.

Tabella 80 – *Contenuto di composti antiossidanti in germinelli della cultivar Berlicum di carota*

	10°C	20°C	30°C
Polifenoli (mg/g s.s.)	18,3	19,3	12,5
β-carotene (mg/g s.s.)	1,3	1,3	1,3
Vitamina C (mg/g s.s.)	5,3	4,6	4,4

D.M.S.

	Polifenoli		β-carotene		Vitamina C	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabella 81 – *Contenuto di composti antiossidanti in germinelli della cultivar Ramoso calabrese tardivo di cavolo broccolo*

	10°C	20°C	30°C
Polifenoli (mg/g s.s.)	30,5	33,2	25,6
β-carotene (mg/g s.s.)	1,1	1,4	1,3
Vitamina C (mg/g s.s.)	5,4	5,8	6,3

D.M.S.

	Polifenoli		β-carotene		Vitamina C	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabella 82 – *Contenuto di composti antiossidanti in germinelli della cultivar Morgana di cipolla*

	10°C	20°C	30°C
Polifenoli (mg/g s.s.)	9,3	15,4	4,7
β-carotene (mg/g s.s.)	1,0	1,3	1,2
Vitamina C (mg/g s.s.)	4,1	4,5	4,3

	D.M.S.					
	Polifenoli		β-carotene		Vitamina C	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	4,7	7,8	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabella 83 – *Contenuto di composti antiossidanti in germinelli di rucola coltivata*

	10°C	20°C	30°C
Polifenoli (mg/g s.s.)	27,1	17,9	24,9
β-carotene (mg/g s.s.)	1,3	1,2	1,4
Vitamina C (mg/g s.s.)	5,4	4,7	6,1

	D.M.S.					
	Polifenoli		β-carotene		Vitamina C	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	0,03	0,05	n.s.	n.s.

Tabella 84 – Contenuto di glucosinolati in germinelli della cultivar *Ramoso calabrese medio precoce* di cavolo broccolo

	10°C	20°C	30°C
GRA ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	2,4	3,4	11,9
4-OH GBS ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	1,0	0,8	2,2
GER ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	1,0	1,8	7,6
GBS ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	0,4	0,2	0,4
GST ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	1,3	2,2	2,2
Neo-GBS ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	0,3	0,4	0,7
Altri ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	1,6	1,1	3,6
GLs TOT ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	7,8	9,8	28,6

GRA=Glucorafanina; 4-OH GBS=4-OH Glucobrassicina; GER=Glucoerucina; GBS=Glucobrassicina; GST=Glucouasturtina; Neo-GBS=Neo-Glucobrassicina; GLs Tot=Glucosinolati totali

D.M.S.

	GRA		4-OH GBS		GER		GBS	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

D.M.S.

	Neo-GBS		GST		Altri		GLs Tot	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabella 85 – Contenuto di glucosinolati in germinelli di rucola coltivata

	10°C	20°C	30°C
GRA ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	0,2	0,9	2,2
GER ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	1,4	15,7	34,4
Altri ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	0,6	0,7	4,5
GLs TOT ($\mu\text{M g}^{-1\text{s.s.}}$)	2,2	17,3	41,0

GRA=Glucorafanina; GER=Glucoerucina; GLs Tot=Glucosinolati totali

D.M.S.

	GRA		GER		Altri		GLs Tot	
	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01	P=0,05	P=0,01
Temperatura	0,8	1,3	10,5	17,4	1,3	2,2	12,0	19,9

2.3. Sintesi conclusiva

Le attività svolte nell'ambito del XXIV ciclo del dottorato di ricerca in produttività delle piante coltivate hanno consentito di individuare e consultare numerosi riferimenti bibliografici inerenti: l'assetto biomorfologico, nutraceutico e genetico del cavolo da foglia, le principali problematiche relative alla diversificazione del comparto orticolo; la strategia da attuare per l'innovazione di prodotto; le problematiche e le tecniche delle produzioni di IV gamma; la produzione dei germinelli di specie ortive.

Lo studio di tali riferimenti bibliografici ha consentito di delineare un quadro di riferimento sulla diversità espressa dei diversi tipi di cavolo da foglia principalmente diffusi in Europa, sulle modalità di coltivazione e di raccolta, sulle prevalenti utilizzazioni e sul profilo nutraceutico del prodotto. La coltura appare non adeguatamente valorizzata sebbene mostri evidenti tratti agronomici e tecnologici di pregio ed è relegata principalmente negli orti familiari e suburbani dei Paesi europei del bacino del Mediterraneo ed è particolarmente presente nella penisola iberica ed in quella italiana, oltre che nei Paesi balcani, in Grecia ed in Turchia. L'importanza degli aspetti nutraceutici, evidenziati dalla comunità medica internazionale in altre colture afferenti alla *B. oleracea*, quali il cavolo broccolo ed il cavolfiore, per l'elevato contenuto in composti antiossidanti presenti nei corrispondenti prodotti, ha stimolato l'approfondimento anche sul cavolo da foglia il quale ancora appare una coltura negletta, assunta nella configurazione dell'orticoltura di molti Paesi.

La modesta diffusione della coltura è comunque da mettere in relazione dalla modesta *shelf-life* del prodotto, il quale è tuttavia rappresentato essenzialmente da organi vegetativi caratterizzati da interessanti attività metaboliche che concludono in pochi giorni all'avvizzimento delle foglie ed al peggioramento delle caratteristiche del prodotto stesso.

Un contributo determinante per ottenere l'elevata deperibilità del germoglio di cavolo da foglia è offerto dalle tecnologie di trasformazione di IV gamma le quali, al pari di altri prodotti orticoli rappresentati da organi vegetativi (lattuga, rucola, etc.) consentono di prolungare la *shelf-life* del prodotto.

L'interesse del consumatore nei confronti dei cibi funzionali ha permesso, inoltre, di evidenziare l'importanza che sta assumendo la produzione di germinelli. Tali produzioni presentano il vantaggio di dover assumere una modesta quantità di prodotto in quanto è caratterizzato da elevate concentrazioni di composti antiossidanti, le quali lo rendono adeguato per essere integrato nelle moderne diete alimentari se, prima, adeguatamente trasformato in IV gamma. Emblematico a tal riguardo sembra il caso dei germinelli di cavolo broccolo i quali, in pochi decenni, hanno conquistato la notorietà grazie all'elevato contenuto in glucorafanina, glucosinolato precursore del sulforafane, un efficace composto antitumorale.

Le attività di ricerca riguardanti l'analisi della diversità bio-morfologica e nutraceutica delle principali tipologie di cavolo da foglia diffuse in Europa hanno consentito di accertare l'ampia variabilità esistente per i diversi descrittori della pianta utilizzati. La valutazione della *core collection* di tipi di cavolo da foglia diffusi in Europa, fornita dalle principali banche del Germoplasma europeo e della collezione di cavolo da foglia conservata presso la sezione di Ortofloricoltura del DISPA della Facoltà di Agraria di Catania, ha consentito di individuare le accessioni più interessanti da utilizzare in programmi di miglioramento genetico della coltura. Particolarmente interessanti sono le analogie di classificazione dei tipi europei, emerse dall'analisi bio-morfologica unitamente a quella proposta da un gruppo di ricerca scandinavo, realizzata sulla base dell'analisi AFLP del DNA di una collezione analoga coltivata in Danimarca.

Alquanto interessante è stata l'individuazione di tipi siciliani di cavolo da foglia particolarmente ricchi di composti antiossidanti, tra i quali glucorafanina.

Le prove agronomiche hanno evidenziato differenze notevoli tra due tipi di cavolo da foglia diffusi in Sicilia, sia dal punto di vista agronomico sia da quello nutraceutico; ed hanno posto le basi per definire protocolli di produzione più efficienti. Il prodotto ottenuto nel corso della suddetta prova è apparso indispensabile per la valutazione delle principali caratteristiche del cavolo da foglia prodotto in IV gamma. L'analisi delle variabili di processo, rappresentate dalla temperatura e dall'atmosfera di conservazione, ha consentito di accertare le combinazioni operative più idonee per incrementare la *shelf-life* del prodotto in modo da soddisfare maggiormente le crescenti richieste di prodotti nutraceutici.

Gli approfondimenti svolti sulla produzione di germinelli hanno permesso di valutare la risposta delle diverse specie da tali produzioni, le caratteristiche del processo di germinazione e le potenzialità nutraceutiche degli stessi. Particolarmente interessante è apparsa dinamica dei composti antiossidanti del seme del germinello in fase di conservazione in IV gamma realizzata in atmosfera ambiente; tale dinamica è apparsa ancora più interessante in rapporto alla temperatura di germinazione, offrendo utili indicazioni per l'incremento di tali composti, soprattutto glucosinolati.

Nel complesso le attività di ricerca condotte hanno permesso di offrire un quadro di riferimento importante per la potenziale filiera del cavolo da foglia e per quella crescente di germinelli. Ambedue potrebbero offrire un contributo utile all'innovazione dei prodotti orticoli soddisfacendo la crescente richiesta di prodotti nutraceutici opportunamente trasformati per la IV gamma.

Riferimenti bibliografici

- Acciarri N., Branca F., Sabatini E., Argento S., Magnifico V., 2004.** *Miglioramento genetico dei cavolfiori a corimbo bianco e colorato.* L'Informatore Agrario, 25, 33-36.
- ACS statistics 2004.** <http://www.cancer.org>
- Agarwal S., Sohal R.S., 1994.** *DNA oxidative damage and life expectancy in houseflies.* Proc Natl Acad Sci USA, 91, 12332-12335.
- Agarwal S., e Rao A.V., 1998.** *Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study.* Lipids, 33, 981-984.
- Aherne S.A., e O'Brien N.M., 2002.** *Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism.* Nutrition, 18, 75-81.
- Aires A., Rosa E., Carvalho R., 2006.** *Effect of nitrogen (N) and sulfur (S) fertilization on glucosinolates in the leaves and roots of broccoli sprouts (Brassica oleracea var. italica).* Journal of the Science of Food and Agriculture, 86, 1512-1516.
- Alam S., Joyce D., e Wearing A., 1996.** *Effects of equilibrium relative humidity on in vitro growth of Botrytis cinerea and Alternaria alternata.* Aust. J. Exp. Agric. 36: 383-88.
- Al-Wandawi H., Abdul-Rahman M., e Al-Shaikhly K., 1985.** *Tomato processing waste as essential raw material source.* J. Agric. Food Chem., 33, 804-807.
- Alberts D.S., Martinez M.E., Roe D.J., et al., 2000.** *Lack of effect of a high fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas.* N Engl J Med., 342, 1156-1162.
- Allende A., Tomás-Barberán F.A., Gil M.I., 2006.** *Minimal processing for healthy traditional foods.* Trends in Food Science and Technology 17: 513-519.
- Andlauer W., e Fürst P., 2002.** *Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook.* Food Research International. v. 35, p. 171-176.
- Artés-Hernández, F., F.Rivera-Cabrera, and A.A. Kader. 2007.** *Quality retention and potential shelf-life of fresh-cut lemons as affected by cut type and temperature.* Postharvest Biol. Technol. 43: 245-354

- Arts I.C.W., van de Putte B., Hollman P.C.H., 2000.** *Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands.* J. Agric. Food Chem., 48, 1746-1757.
- ASHRAE American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, 1986.** *Handbook of refrigeration system and applications.* Atlanta, GA.
- Aylward B., 1991.** *The Economic Value of Ecosystems: 3-Biological Diversity.* London, Environmental Economic Centre, Gatekeeper Series.
- Azzi G., 1967.** *Ecologia Agraria.* Editrice Patron, Bologna.
- Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A., e Aruoma O.I., 2004.** *Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables.* Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1553-1561.
- Baker H.G., 1972.** *Human Influences on Plant Evolution.* Econ. Bot., 26, 32-43.
- Baik H.Y., Juvic J.A., Jeffery E.H., Walling M.A., Kusand M., Klein B.P., 2003.** *Relating glucosinolate content and flavour of broccoli cultivar.* J. Food Sci., 68, 1043-1050.
- Barillari J., Habyarimana E., Cervellati R., Greco E., Iori R., 2007.** *Brassica sprouts as source of health benefiting compounds.* 1° Convegno SIBA, Salerno 22-24 ottobre 2007.
- Baron J.A., Cole B.F., Sandler R.S., et al., 2003.** *A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas.* N Engl J Med, 348, 891-899.
- Beattie B.B., McGlasson W.B., e Wade N.L., 1989.** *Postharvest diseases of horticultural produce.* vol. 1, Temperate fruits, CSIRO, East Melbourne.
- Beaulieu, J.C., and J.M. Lea. 2007.** *Quality changes in cantaloupe during growth, maturation, and in stored fresh-cut cubes prepared from fruit harvested at various maturities.* J. Amer. Soc. Hort. Sci. 132: 720-728.
- Bellostas N., Kachlicki P., Sorensen J.C., Sorensen H., 2007.** *Glucosinolates profiling of seeds and sprouts of B.oleracea varieties used for food.* Scientia Horticulturae 114, 234-242.
- Bernardi R., Mari M., Leoni O., Casalini L., Cinti S., Palmieri S., 2004.** *Biofumigation for controlling post-harvest fruit pathogens.* Agroindustria, 385-386.

- Berrino F., Capocaccia R., Coleman M.P., Estève J., Gatta G., Hakulinen T., et al., 2003.** *Survival of Cancer Patients in Europe: the EURO CARE-3 Study.* *Annals of Oncology* 2003, 14 (supplement 5).
- Bhagwat A.A., 2006.** *Microbiological safety of fresh-cut produce: where are we now?* In: *Microbiology of fresh produce.* Edited by: K.R. Matthews. ASM Press, Washington, pp. 121-166.
- Bhuvanewari V., Nagini S., 2005.** *Lycopene: a review of its potential as an anticancer agent.* *Curr. Med. Chem. Anti-Canc. Agents.*, 5(6), 627-35.
- Bianco V.V., 1989.** *Wild plants utilizable as vegetables and condiment herbs in Italy. International symposium on horticultural germplasm, cultivated and wild.* International Academic Publishers, Beijing, 55-64.
- Bianco V. V., 2009.** *Le specie ortive minori in Italia.* *Italus Hortus* 16 (1), 1-21.
- Bianco V.V., e Machackova M., 2002.** *Specie spontanee della flora italiana utilizzabili come ortaggi e piante da condimento.* Atti VI Giornate Scientifiche SOI, Spoleto, 435-436.
- Black M., Beeley J.D., Halmer P., 2006.** *The Encyclopedia of Seeds, science, technology and uses.* CAB International, 258-260.
- Block G., 1991.** *Vitamin C and cancer prevention: the epidemiologic evidence.* *Am J Clin Nutr*, 53(suppl), 270S-82S.
- Block G., Jensen C., Dietrich M., Norkus E.P., Hudes M., e Packer L., 2004.** *Plasma C-reactive protein concentrations in active and passive smokers: Influence of antioxidant supplementation.* *Journal of the American College of Nutrition*, 23(2), 141-147.
- Blum A., Monir M., Wirsansky I., e Ben-Arzi S., 2005.** *The beneficial effects of tomatoes.* *Eur. J. Intern. Med.*, 16(6), 402-4.
- Boileau A.C., Merchen N.R., Wasson K., Atkinson C.A., e Herdman J.W., 1999.** *Cis-lycopene is more bioavailable than trans-lycopene in vitro and in vivo in lymph-cannulated ferret.* *J. Nutr.*, 129(6), 1176-1181.
- Borek C., 1997.** *Antioxidants and Cancer.* *Science and Medicine*, 4, 51-62.
- Borek C., 2001.** *Antioxidants Health Effects of Aged Garlic Extract.* *J Nutrition*, 131, 1010S-5S.
- Borek C., 2004.** *Dietary Antioxidants and Human Cancer.* *Integrative Cancer Therapies*, 3, 333-41.

- Borek C., 2005.** *Antioxidants and the prevention of hormonally regulated cancer.* Jmhg, 2(3), 346-352.
- Borochoy A., e Woodson R., 1990.** *Physiology and biochemistry of flower petal senescence.* Hortic. Rev. 11:15-43.
- Bowery V.W., e Stocker R., 1993.** *Tocopherol-mediated peroxidation. The prooxidant effect of vitamin E on the radical-initiated oxidation of human low-density lipoprotein.* J. Am. Chem. Soc., 115 (14), pp 6029–6044.
- Bradshaw J. E., 1987.** *The choice of selection index in kale (Brassica oleracea L.) population improvement.* Theor. Appl. Genet., 75, 165-169.
- Bradshaw J. E., e Mackay, G. R., 1985.** *Half-sib family selection for yield of digestible organic matter in kale (Brassica oleracea L.).* Euphytica, 34, 201-206.
- Branca F., 1992a.** *La flora spontanea di interesse alimentare.* Giornate Scientifiche SOI, 90-91.
- Branca F., 1992b.** *Studi su specie erbacee della flora spontanea di interesse alimentare.* Tesi di dottorato di ricerca, Università di Catania, Sicily.
- Branca, F., 2000.** *Valutazione di cultivar locali di cavolfiore violetto.* Workshop “Risultati del primo anno di attività del Piano Nazionale di Ricerca per l’Orticoltura del Mipa”, Sirmione, 29 Marzo 2000, 114-115.
- Branca F., 2001.** *Prove di coltivazione di specie spontanee utilizzate in Sicilia per scopi alimentari.* Italus Hortus 8(4), 22-26.
- Branca F., 2002.** *Linee di attività per il miglioramento del cavolfiore violetto.* Atti VI Giornate Scientifiche SOI, 461-462.
- Branca F., 2006.** *Attività per la valorizzazione della diversità specifica e genetica del genere Brassica.* Italus Hortus, 13(2), 562-568.
- Branca F., 2008.** *Cauliflower and broccoli.* In: J. Prohens and F. Nuez (eds.), Vegetables I, 147-182, Springer, Heidelberg, Dordrecht, London, New York.
- Branca F., 2010.** *Brassica.* In: Kole C. (ed.), Wild crop relatives: genomic and breeding resources, Vol. Oilseed, 17-36. Springer, Heidelberg, Dordrecht, London, New York.

- Branca F., e Iapichino G. 1997.** *Some wild and cultivated Brassicaceae exploited in Sicily as vegetables.* FAO/IPGRI Plant Genetic Resources Newsletter, 110, 22-28.
- Branca F., Argento S., e Tribulato A., 2010.** *Il cavolo da foglia: una coltura tradizionale da rivalutare.* In: DE BELLIS L., MARCHIORI S., MICELI A. La biodiversità – risorsa per sistemi multifunzionali. P. 80-82, LECCE: De Bellis L., Marchiori S., Miceli A., ISBN/ISSN: 978-88-904490-4-8.
- Brancoli, N., and Barbosa-Cànovas, G. V. 2000.** *Quality changes during refrigerated storage of packaged apple slices treated with polysaccharide films.* In Innovations in Food Processing, ed. G.V.Barbosa-Cànovas, and G.W. Gould, 243-254. Lancaster, PA: Technomic.
- Brecht, J. K., Chau, K. V., Foncesca, S. C., And F.A.R. Oliveira. 2003.** *CA transport of fresh produce in Map: designing systems for optimal atmosphere conditions throughout the postharvest handling chain.* Acta Horticulturae 600: 799-801.
- Britton G., 1995.** *Structure and properties of carotenoids in relation to function.* FASEB J., 9(15), 1551-1558.
- Brody A.L., 1989.** *Controlled/modified atmosphere/vacuum packaging of food.* F. & N. Press, CT.
- Brown G., e Goldstein J.H., 1984.** *A model for valuing endangered species.* Journal of Environmental Economics and Management, n°11.
- Brondy, A.L., Strupinsky, E.R., and L.R. Kline. 2001.** *Active packaging for food applications.* Lancaster, PA: Technomic.
- Calligaris S., Manzocco L., Anese M., Nicoli M.C., 2004.** *Effect of heat-treatment on the antioxidant activity of milk.* International Dairy Journal, 14, pp. 421–427.
- Campbell J.K., Canene-Adams K., Lindshield B.L., Boileau T.W.M., et al., 2004.** *Tomato Phytochemicals and Prostate Cancer Risk.* J Nutr, 134, 3486S-92S.
- Cao G., Sofic E., e Prior R.L., 1996.** *Antioxidant capacity of tea and common vegetables.* Journal Agricultural and Food Chemistry, 44, 3426-3431.
- Cappelli P., Vannucchi V., 2005.** *Chimica degli alimenti, conservazioni e trasformazioni.* Zanichelli editore, Bologna.

- Carratù B., e Sanzini E., 2005.** *Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale.* Ann. Ist. Super. Sanita, 41, 7-16.
- Castelletti L., Castiglioni E., e Rottoli M., 2001.** *L'agricoltura dell'Italia Settentrionale dal Neolitico al Medioevo.* In *Le piante coltivate e la loro storia.* Milano: Franco Angeli Ed.
- Chambers A., Lobb A., 2007.** *Consumer acceptance of functional foods: Soft fruit and lamb.* Developments in science & health claims, ILSI international symposium on functional foods in Europe. Malta, May 9-11, 2007.
- Chan J.M., Gann P.H., e Giovannucci E.L., 2005.** *Role of diet in prostate cancer development and progression.* J. Clin. Oncol., 23(32), 8152-60.
- Charles, F., Sanchez, J., and N. Gontard. 2005.** *Modeling of active modified atmosphere pack-aging of endives exposed to several postharvest temperatures.* Journal of Food Science 70: 443-449.
- Chatfield C. e Collins A.J., 1980.** *The multivariate analysis of variance, Introduction to Multivariate Statistic.* Chapman and Hall, London, pp. 140–161.
- Challenger F., 1959.** *Aspects of the organic chemistry of sulphur.* Butterworth, London.
- Chen H., e Tappel A., 1996.** *Protection by multiple antioxidants against lipid peroxidation in rat liver homogenates.* Lipids, 31, 47-50.
- Chiang, M. S., Chong, C., Landry, L. S., and Crête, R., 1993.** *Cabbage, in: Genetic improvement of vegetable crops.* K. Kalloo, and Bergh, B. O., eds, Pergamon Press, Oxford, UK, pp:113-155.
- Chu Y.F., Sun J., Wu X., e Liu R.H., 2002.** *Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables.* Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 6910-6916.
- Cieślik E., Leszczyńska T., Filipiak-Florkiewicz A., Sikora E., Pisulewski P.M., 2007.** *Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables.* Food Chemistry, 105, 976-981.
- Clark L.C., Combs Jr G.F., Turnbull B.W., Slate E.H., Chalker D.K., Chow J., et al., 1996.** *Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutrition Prevention of Cancer Study Group.* JAMA, 276, 1957-63.

- Clifford M.N., 1999.** *Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden.* J. Sci. Food Agric., 79, 362-372.
- Clifford M.N., e Scalbert A., 2000.** *Ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden.* J. Sci. Food Agric., 80, 1118-1125.
- Clinton S.K., Emenhiser C., Schwartz S.J., Bostwick D.G., Williams A.W., Moore B.J., e Erdman J.W., 1996.** *Cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate.* Cancer Epidemiol., Biomarkers Prevent., 5:823-833.
- Cohen J., Kristal R., e Stanford J., 2000.** *Fruit and vegetable intakes and prostate cancer.* Journal of the National Cancer Institute, 9, 61-68.
- Collip J. B., 1923.** *Glucokinin: A new hormone present in the plant tissue. Preliminary paper.* J. biol. Chem., 56, 513-531.
- Christensen S., Bothmer R., Poulsen G., Maggioni L., Phillip M., Andersen B., Jorgensen R., 2011.** *AFLP analysis genetic diversity in leafy kale (*Brassica oleracea* l. convar. *acephala* (DC.) Alef.) landraces, cultivars and wild populations in Europe.* Genet Resour Crop Evol 58:657-666
- Conaway C. C., Mang C.-X., Pittman B., Yang Y.-M., Schwarz J. E., Tian D., McIntee E. J., Hecht S. S., Chunf F.L., 2005.** *Phenetyl isothiocyanate and sulforaphane and their N-acetylcysteine conjugates inhibit malignant progression of lung adenomas induced by tobacco carcinogen in A/J mice.* Cancer. Res., 65, 8548-8557.
- Conti E., 2006.** *Studio delle colture minori.* Attività svolte e risultati ottenuti. Conv. “La difesa delle colture minori, stato dell’arte ed evoluzione del quadro normativo”. Roma. www.aipp.it/UserFiles/File/conte.pdf.
- Cook N.C., e Samman S., 1996.** *Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective affects, and dietary sources.* Nutritional Biochemistry, 7, 66-76.
- Crisosto, C., Garner, D., Doyle, J., and Day, K.R. 1993.** *Relationship between fruit respiration, bruising susceptibility and temperature in sweet cherries.* Hortscience 28(2): 132-135.
- Crisp, P., Crute, I. R., Sutherland, R. A., Angell, S. M., Bloor, K., Burgess, H., and Gordon, P.L., 1989.** *The exploitation of genetic resources of Brassica*

- oleracea in breeding for resistance to clubroot (Plasmodiophora brassicae).* Euphytica 42:215-226.
- Crute, I. R., 1986.** *The relationship between Plasmodiophora brassicae and its hosts. The application of concepts relating to variation in interorganismal associations.* Adv. Plant Pathol. 5:1-52.
- Crute, I. R., Gray, A. R., Crisp, P., e Buczacki, S. T., 1980.** *Variation in Plasmodiophora brassicae and resistance to clubroot disease in Brassicas and allied crops. A critical review.* Plant Breed. Abstr. 50:91-104.
- Czeczot H., 2000.** *Biological activities of flavonoids-A review.* Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 950(4), 3-13.
- Danesi, F., e Bordoni, A., 2008.** *Effect of home freezing and Italian style of cooking on 452 antioxidant activity of edible vegetables.* Journal of Food Science, 73, 109-112.
- Dauchet L., Amouyel P., Hercberg S., Dallongeville J., 2006.** *Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies.* J. Nutr, 136 (10), 2588-93.
- Day, B. 2001.** *Modified atmosphere packaging of fresh fruits and vegetables—an overview.* Acta Horticulturae 553: 585-590.
- De Giorgio D., 1997.** *Conservazione della biodiversità nel campo di germoplasma dell'Istituto Sperimentale Agronomico di Bari.* Atti del III Convegno Nazionale: Biodiversità Tecnologie – Qualità, Reggio Calabria-Gallina 16-17 Giugno 1997, pp 525-532.
- Dennis D.T., e Turpin D.H., 1990.** *Plant physiology, biochemistry and molecular biology.* Longman, London.
- Dewanto V., Wu X., Liu R.H., 2002.** *Processed sweet corn has higher antioxidant activity.* J. Agric. Food Chem., 50(17), 4959-64.
- Dhiman R.K., e Chawla Y.K., 2005.** *Herbal medicines for liver diseases.* Dig. Dis. Sci., 50, 1807-1812.
- Diakoumopoulou E., Tentolouris N., Kirlaki E., Perrea D., Kitsou E., Psallas M., Doulgerakis D., Katsilambros N., 2005.** *Plasma homocysteine levels in patients with type 2 diabetes in a Mediterranean population: relation with nutritional and other factors.* Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases, 15, 109-117.

- Dias, J. S., Ferreira, M. E., and Williams, P. H., 1993.** Screening of Portuguese cole landraces (*Brassica oleracea* L.) with *Peronospora parasitica* and *Plasmiodiophora brassicae*. *Euphytica* 67:135-141.
- Dilley D.R., Dewey D.H., e Dedolph R.R., 1969.** *Automated system for determining respiratory gas exchange of plant materials.* *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 94: 138-41.
- Di Venere D., Linsalata V., Sergio L., Cardinali A., Pieralice M., Cascarano N., Bianco V.V., 2004.** *Composizione fenolica ed attività antiossidante di alcune specie spontanee eduli della macchia mediterranea.* *Italus Hortus*, 11, 128-131.
- Doblado R., Frías J., Vidal-Verde C., 2006.** *Changes in vitamin C content and antioxidant capacity of raw and germinated cowpea (*Vigna sinensis* var. *carilla*) seeds induced by high pressure treatment.* *Food Chemistry* 101 (3): 918-923.
- Dorai T., e Aggarwal B.B., 2004.** *Role of chemopreventive agents in cancer therapy.* *Cancer Lett.*, 215(2), 129-40.
- Dorant E., van den Brandt P.A., Goldbohm R.A., Sturmans F., 1996.** *Consumption of onions and a reduced risk of stomach carcinoma.* *Gastroenterology*, 110, 141-147.
- Duffield-Lillico A.J., Dalkin B.L., Reid M.E., Turnbull B.W., et al., 2003.** *Nutritional Prevention of Cancer Study Group. Selenium supplementation, baseline plasma status and incidence of prostate cancer: an analysis of the complete treatment period of the Nutritional Prevention of Cancer Trial.* *BJU Int*, 91, 608-12.
- Eaton D. L., e Blammer T. K., 1999.** *Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology.* *Toxicol. Sci.*, 49, 156-164.
- Ehrenfeld D., 1981.** *The Arrogance of Humanism.* Oxford University Press, New York, 1981.
- Emmert D.H., e Kirchner J.T., 1999.** *The role of vitamin E in the prevention of heart disease.* *Arch Fam Med*, 8(6), 537-42.
- Engel E., Baty C., LE Corre D., Souchon I., Martin N., 2002.** *Flavour-active compounds potentially implicated in cooked cauliflower acceptance.* *J. Agric. Food Chem.*, 50, 6459-6467.

- Ezebilo E., E., 2010.** *Conservation of a leafy vegetable important for communities in the Nigerian rainforest.* Forest Ecology and Management 259, 1660-1665.
- Fahey J. W., Zalcmann A. T., Talalay P., 2001.** *The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants.* Phytochemistry., 56, 5-51.
- Ferrari V., DI Cesare L.F., 2001.** *Il cavolfiore in Italia.* L'Informatore Agrario N. 24-2001, 35.
- Ferro-Luzzi A., Cialfa E., Leclerca C., e Toti E., 1994.** *The Mediterranean diet revisited. Focus on fruit and vegetables.* Int. J. Food Sci. Nutr., 45, 291-300.
- Fielding J.M, Rowley K.G, Cooper P., e O' Dea K., 2005.** *Increases in plasma lycopene concentration after consumption of tomatoes cooked with olive oil.* Asia Pac. J. Clin. Nutr., 14(2), 131-136.
- Fimognari C., Lenzi M., Hrelia P., 2008.** *Interaction of isothiocyanate sulforaphane with drug disposition and metabolism: pharmacological and toxicological implications.* Curr. Drug Metab., 7, 668-768.
- Fleishhauser A.T., Simansen N., Arab L., 2003.** *Antioxidants supplements and risk of breast cancer recurrence and breast cancer related mortality among postmenopausal women.* Nutr Cancer, 46, 15-22.
- Fogliano V., 2009.** *Composti salutistici degli ortaggi.* Italus Hortus, 16, 4, 43-51.
- Force L.E., O'Hare T.J., Wong L.S., Irving D.E., 2007.** *Impact of cold storage on glucosinolate levels in seed-sprouts of broccoli, rocket, white radish and kohlrabi.* Postharvest Biology and Technology 44, 175-178.
- Fritz D., 1989.** *Starting points for crop research to promote diversification.* Acta Horticulturae, 242, 193-201.
- Frusciante L., Barone A., Carputo D., Ercolano M.R., della Rocca F., Esposito S., 2000.** *Evaluation and use of plant biodiversity for food and pharmaceuticals.* Fitoterapia 71, S66-S72.
- Gaffney J.J., Baird C.D., e Chau K.V., 1985.** *Influence of air flow rate, respiration, evaporative cooling, and other factors affecting weight loss calculations for fruit and vegetables.* ASHRAE Trans. 91 (1B): 690-707.

- Gajewski M., Danielcenko H., Taraseviciene Z., Szymczak P., Seroczynska A., Radzanowska J., 2008.** *Quality characteristics of fresh plant sprouts and after their short-term storage.* Vegetable crops research bulletin vol. 68, 155-166.
- Galati G., Moridani M.Y., Chan T.S., O'Brian P.J., 2000.** *Cancer chemoprevention and apoptotic mechanism induced by dietary polyphenolics.* Drug Metab Drug Interact, 17, 311-349.
- Garcia E., and Barrett D.M., 2005.** *Fresh-cut fruits.* In: *Processing fruits science and technology.* Edited by: D.M. Barrett, L. Somogyi, and H. Ramaswamy. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 53-72.
- Garner E., 2008.** *European trends in fresh-cut convenience.* Conference presented at the Freshconex, Berlin, Germany.
- Garrett E.H., 2002.** *Fresh-cut produce: tracks and trends.* In: *Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology and market.* Edited by: O. Lamikanra. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 1-10.
- Gehhardt S.E., Cutrifelli R., e Matthews R.H., 1982.** *Composition of foods: Fruits and fruit juices, raw, processed, prepared.* Agriculture Handbook, n.8-9, US Department of Agriculture, Washington, DC.
- Gengotti S., Tisselli V., Mazzini F., 2003.** *Difficoltà della difesa fitosanitaria delle colture orticole minori.* Conv. "La tecnica colturale per alcune specie orticole minori". ORTOMAC, Cesena, 7-8.
- Gilbert L.C., 2000.** *The functional food trend: what's next and what Americans think about eggs.* Journal of the American College of Nutrition 19: 507-512.
- Giovannucci E., 1999.** *Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer: a review of the epidemiologic literature.* J. Natl. Cancer Inst., 91(4), 317-31.
- Goldbohm R.A., et al., 1995.** *Flavonoid intake and risk of cancer: a prospective cohort study.* Am J Epidem Suppl, 141, 61S.
- Goodenough, P.W., I.M. Prosser, and K. Young. 1985.** *NADP-linked malic enzyme and malate metabolism in ageing tomato fruit.* Phytochem. 24: 1157-162
- Gosslau A., e Chen K.Y., 2004.** *Nutraceuticals, apoptosis, and disease prevention.* Nutrition, 20, 95-102.

- Granado F., Olmedilla B., Blanco I., e Rojas-Hidalgo E., 1992.** *Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetable.* J. Agric. Food Chem., 40, 2135-2140.
- Greenberg R.E., Baron J.A., Tosteson T.D., 1994.** *A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma.* N Engl J Med, 331, 141-147.
- Greenwald P., Clifford C.K., Milner J.A., 2001.** *Diet and cancer prevention.* Eur J of Cancer, 37, 948-65.
- Gray A.R., 1989.** *Taxonomy and evolution of broccoli (Brassica oleracea var. italica).* Econ. Bot., 36,4,397-410.
- Grubb C.D., e Abel S., 2006.** *Glucosinolate metabolism and its control.* Trends Plant Sci., 11, 89-100.
- Gomez-Campo C. and Gustafsson M. 1991.** *Germplasm of wild n¹/₉ Mediterranean species of Brassica.* Botany Chronicle 10: 429–434.
- Gundgaard J., Nielsen J.N., Olsen J., e Sorensen J., 2003.** *Increased intake of fruit and vegetables: Estimation of impact in terms of life expectancy and healthcare costs.* Public Health Nutrition, 6, 25-30.
- Hail N. J., Cortes M., Drake E. N., Spallholz J. E., 2008.** *Cancer chemoprevention: a radical perspective.* Free Radic. Biol. Med., 45, 97-110.
- Halliwell B., 1996.** *Commentary Oxidative Stress, Nutrition and Health. Experimental Strategies for Optimization of Nutritional Antioxidant Intake in Humans.* Free Radical Research. Informa Healthcare. Vol. 25,1, pp: 57-74.
- Hanlon N., Codham N., Gielbert A., Kuhnert N., Sauer M. J, Laurie, King L. J., Ioannides C., 2008.** *Absolute bioavailability and dose-dependent pharmacokinetic behaviour of dietary doses of the chemopreventive isothiocyanate sulforaphane in rat.* Br. J. Nutr., 99, 559-564.
- Hansen, L. N., e Earle, E. D., 1995.** *Transfer of resistance to Xanthomonas campestris pv. campestris into Brassica oleracea L. by protoplast fusion.* Theor. Appl. Genet. 91:1293-1300.
- Harborne J.B., e Williams C.A., 1996.** *Notes on flavonoid survey. In B. Mathew (Ed.), A review of Allium section Allium.* Kew: Royal Botanic Garden, UK., 41–44.

- Hardenburg R.E., Watada A.E., e Wang C.Y., 1986.** *The commercial storage of fruits, vegetables and florist and nursery stocks.* (rev. ed.), US Department of Agriculture, Washington, DC. Agriculture Handbook n°66.
- Hashimoto K., Kawamata S., Usui N, Tanaka A., e Uda Y., 2002.** *In vitro induction of the anticarcinogenic marker enzyme, quinone reductase, in human hepatoma cells by food extracts.* Cancer Letters, 180, 1-5.
- Haytowitz D.B., e Matthews R.H., 1984.** *Composition of foods: Vegetables and vegetable products, raw, processed, prepared.* Agriculture Handbook, n.8-11, US Department of Agriculture, Washington, DC.
- He F.J., Nowson C.A., MacGregor G.A., 2006.** *Fruit and vegetable consumption and stroke: meta-analysis of cohort studies.* Lancet, 367(9507), 320-6.
- Heimler D., Vignolini P., Dini M.G., Vincieri F.F., Romani A., 2006.** *Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties.* Food Chemistry 99, 464-469.
- Helzlsouer K.J., Huang H.Y., Alberg A.J., Hoffman S.C., Burke A., Norkus E.P., et al., 2000.** *Association between alpha tocopherol, gamma tocopherol, selenium and subsequent prostate cancer.* J Nat Cancer Inst, 92, 2018-23.
- Hercberg S., Galan P., Preziosi P., 1999.** *Antioxidant vitamins and cardiovascular disease: Dr Jekyll or Mr Hyde?* Am J Public Health, 89(3), 289-91.
- Hertog M.G., Feskens E.J., Hollman P.C., Katan M.B., Kromhout D., 1994.** *Dietary flavonoids and cancer risk in the Zutphen Elderly Study.* Nutr Cancer, 22, 175-184.
- Hertog, M.L.A.T.M. 2003.** *MAP performance under dynamic temperature conditions.* In Novel food packaging techniques, ed R. Ahvenainen, pp. 563-575. Cambridge: Woodhead.
- Higdon J. V., Delage B., Williams D. E., Dashwood R. H., 2007.** *Cruciferous vegetables and human cancer risk : epidemiologic evidence and mechanistic basis.* Pharmacol. Res., 55, 224-236.
- Hill H.M., e Rogers L.J., 1969.** *Conversion of lycopene into β -carotene by chloroplast of higher plants.* Biochem. J., 113, 31-32.

- Ho C.T., 1992.** *Phenolic compounds in food: An overview*. Washington, DC: American Chemical Society. In M.T. Huang C.T., Ho and C.Y. Lee (Eds.), ACS symposium series: 507. Phenolic compounds in food and their effects on health II: Antioxidants and cancer prevention, 2-7.
- Hoensch H.P., e Kirch W., 2005.** *Potential Role of Flavonoids in the Prevention of Intestinal Neoplasia*. International Journal of Gastrointestinal Cancer, 35(3), 187-196.
- Hollman P.C.H., Hertog M.G.L., e Katan M.B., 1996.** *Analysis and health effects of flavonoids*. Food Chemistry, 57(1), 43-46.
- Holt J.E., e Schoorl D., 1984.** *Package protection and energy dissipation in apple packs*. Sci. Hort. 24: 165-76.
- Howard L.A., Wong A.D., Perry A.K., Klein B.P., 1999.** *β -carotene and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables*. J. Food Sci., 64(5), 929-36.
- Huang D., Ou B., Prior R.L., 2005.** *The chemistry behind antioxidant capacity assays*. J. Agric. Food Chem., 53, 1841-1856.
- Hussein L. and El-Tohamy M., 1990.** *Vitamin A potency of carrot and spinach carotenes in human metabolic studies*. Int. J. Vit. Nutr. Res., 60(3), 229-235.
- IBPGR, 1990.** *Descriptors for Brassica and Raphanus*. International Board for Plant Genetic Resources. Rome.
- IFPA, International Fresh-cut Produce Association. 2005.** *The convenience, nutritional value and safety of fresh-cut produce*. [Http://www.gov.on.ca/GOPSP/en/graphics/053125.pdf](http://www.gov.on.ca/GOPSP/en/graphics/053125.pdf) (accessed August 5, 2008).
- Inglese P., e Caruso T., 2006.** *Le risorse genetiche autoctone e la frutticoltura di qualità tra tradizione e innovazione*. Italus Hortus, 13 (2), 45-52.
- Ippoushi K., Takeuchi A., Ito H., Horie H., Azuma K., 2007.** *Antioxidative effects of daikon sprout (*Raphanus sativus* L.) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in rats*. Food Chemistry 102, 237-242.
- Irving A.R., 1984.** *Transport of horticultural produce under modified atmospheres*. CSIRO Food Res. Quart. 44: 25-33.

- ISO Norm, 1992.** *Rapeseed-Determination of glucosinolate content-Part 1: Method using high-performance liquid chromatography.* ISO 9167-1, 1-9.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., and Debevere, J. 2002.** *Temperature dependence of shelf-life as affect by microbial proliferation and sensorial quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh produce.* *Postharvest Biology and technology* 26:59-73.
- Jeffery E. H, e Keck A. S., 2008.** *Translating knowledge generated by epidemiological and in vitro studies into dietary cancer prevention.* *Mol. Nutr. Food Res.*, 52, 7-17.
- Jiang R.W., Law K.M., Law H.M., Yam W.S., Leung L.K., Choi K.L., Waye M.M., Mak T.C., Woo K.S., Fung K.P., 2005.** *A comparative study on aqueous root extract of Pueraria thomsonii and Pueraria lobata by antioxidant assay and HPLC fingerprint analysis.* *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 133-138.
- Jin H.H., Lee S.Y., 2007.** *Combined Effect of Aqueous Chlorine Dioxide and Modified Atmosphere Packaging on Inhibiting Salmonella Typhimurium and Listeria monocytogenes in Mungbean Sprouts.* *Journal of Food Science*, vol. 72, No.9.
- Johnston N., 2004.** *Sulforaphane halts breast cancer cell growth.* *DDT.* Vol.9, No.21.
- Jongen W.M.F., 1996.** *Glucosinolates in Brassica: occurrence and significance as cancer-modulating agents.* *Proc. Nut. Soc.*, 55, 433-446.
- Kader A.A., 1985.** *Postharvest technology of horticultural crop.* University of California, davis, CA. Spacial Pubblication n°3311.
- Kader, A.A. 2002.** *Postharvest biology and technology: an overview.* In *Postharvest Technology of Horticultural Crops.* Ed A.A. Kader. University of California, Agriculture and Natural Resources Publication 3311, pp. 39-47.
- Kähkönen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J.P., Pihlaja K., Kujala T.S., e Heinonen M., 1999.** *Antioxidants activity of plant extracts containing phenolic compounds.* *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kalt W., 2005.** *Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants.* *J. Food Sci.*, 70(1), R11-9.

- Kaplan R.W., 1965.** *Archaeology and domestication in American Phaseolus (beans)*. Econ. Bot., 19, 358-368.
- Kaur C., Kapoor H.C., 2001.** *Antioxidants in fruits and vegetables – The millennium's health*. Int. J. Food Sci. Tech. 36: 703-725.
- Kent T.J., Allen N.E., Spencer E.A., et al., 2002.** *The effect of diet on risk of cancer*. Lancet, 360, 861-868.
- Keum Y.S., Jeong W.S., e Kong A.N.T., 2004.** *Chemoprevention by isothiocyanates and their underlying molecular signaling mechanism*. Mutation Research, 555, 191-202.
- Kidd F., West F., e Kidd M.N., 1927.** *Gas storage of fruit*. Food Inves. Special Rept. No. 30; Dept. Sci. and Indus» Res. Great Britain, 1-87.
- Kim J.G., 2007.** *Fresh-cut market potential and challenges in Far-East Asia*. Acta Horticulturae 746: 33-38.
- Kim J.G., and Jung J.W., 2006.** *Status of fresh-cut industry in foreign countries*. Postharvest Horticulture 14: 4-19.
- Knekt P., Jarvinen R., Seppanen R., et al., 1997.** *Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms*. Am J Epidem, 146, 223-230.
- Kolm R. H., Danielson U. H., Zhang Y., Talalay P., Mannervik B., 1995.** *Isothiocyanates as substrates for human glutathione transferases: structure-activity studies*. Biochem. J. 311, 453-459.
- Krinsky N.I., 2001.** *Carotenoids as antioxidants*. Nutrition, 17, 815-817.
- Kris-Etherton P.M., Etherton T.D., Carlson J., and Gardner C., 2002.** *Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease*. Current Opinion in Lipidology, 13, 397-407.
- Krul C. A. M., Humblot C., Philippe C., Vermeulen M., van Nuenen M., Havenaar R., Rabot S., 2002.** *Metabolism of sinigrin (2-propenyl glucosinolate) by the human colonic microflora in adynamic in vitro large-intestinal model*. Carcinogenesis, 23, 101-108.
- Kühnau J., 1976.** *The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition*. World Rev. Nutr. Diet., 24, 117-191.

- Kuntz S., Wenzel U., e Daniel H., 1999.** *Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell liner.* European Journal of Nutrition, 38(3), 133-142.
- Kuo S.M., 1997.** *Dietary flavonoids and cancer prevention: evidence and potential mechanism.* Crit Rev Oncol, 8, 47-69.
- La Malfa G., e Branca F., 2001.** *L'orticoltura suburbana: caratteristiche e funzioni.* Atti V Giornate Scientifiche SOI, Sirmione, 28-30 Marzo 2000., 247-248.
- Lacassagne, A., Hurst, L. & Xuong, M. D. 1970.** *Inhibition, par deux naphthylisothiocyanates, de l'hepatocance` rogene` se produit, chez le rat, par le p-dime` thylaminoazobenze` ne (DAB).* C.R. Se` ances Soc. Biol. Fil. 164: 230 –233.
- Lampe J.W., Peterson S., 2002.** *Brassica, biotrasfornation and cancer risk: genetic polymorphism alter the preventive effects of cruciferous vegetables.* J. Nutr., 132, 2291-2294.
- LaVecchia C., 1997.** *Mediterranean epidemiological evidence on tomatoes and the prevention of digestive tract cancers.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 218, 125-128.
- Law M.R., e Morris J.K., 1998.** *By how much does fruit and vegetable consumption reduce the risk of ischemic heart disease?* European Journal of Clinical Nutrition, 52, 549-556.
- Lelièvre, J.-M., A. Latchè, B. Jones, M. Bouzayen, and J.-C. Perch. 1997.** *Ethylene and fruit ripening.* Physiol. Plant. 101: 727-739.
- Lewis J., e Fenwick G.R., 1987.** *Glucosinolate content of Brassica vegetables: analyses of twenty-four cultivars of Calabrese (green sprouting broccoli, Brassica oleracea L. var. botrytis subvar. cymosa Lam.).* Food Chem. 25, 259-268.
- Lindmark-Mansson H., e Akesson B., 2000.** *Antioxidative factors in milk.* Brit JrnI of Nut 84:S103-S110
- Loft S., e Puloson H.E., 1996.** *Cancer risk and Oxidative DNA damage in man.* J Mol Med., 74, 297-312.
- Lotti G., e Galoppini C., 1980.** *Guida alle analisi chimico agrarie.* Edagricole, Bologna.

- Lo Verde G., Massa B., Caleca V., 1997.** *Siepi, bordure e margini di vegetazione spontanea negli agroecosistemi: effetti sulla diversità delle comunità di artropodi.* Riv. Naturalista sicil. N°21 (suppl.).
- Maarse H., 1991.** *Volatile compounds in foods and beverages.* Marcel Dekker, New York.
- Machackova M., 2001.** *Specie spontanee della flora italiana utilizzate come ortaggi e piante da condimento.* Tesi di laurea in Orticoltura, facoltà di Agraria, Università di Bari., 107.
- Maggioni L., von Bothmer R., Poulsen G., Branca F., 2010.** *Origin and domestication of Cole Croups (Brassica oleracea L.): linguistic and literary.* Econ. Bot. 86: 109-123.
- Manthey J.A., Grohmann K., e Guthrie N., 2001.** *Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation.* Curr Med Chem, 8, 135-153.
- McCarthy M.A., e Matthews R.H., 1984.** *Composition of foods: Nut and seed products.* Agriculture Handbook, n.8-12, US Department of Agriculture, Washington, DC.
- MAPA, 2004.** *Anuario de Estadística Agroalimentaria.* Secretaría General Técnica, Spain.
- Marcone A., 1997.** *Storia dell'agricoltura.* Roma: Carocci.
- Marino D., 2002.** *Le politiche e le strategie a livello internazionale e nazionale per la salvaguardia e la valorizzazione della biodiversità.* Università degli Studi del Molise, Dipartimento SEGES, 253 pp.
- Martín-Belloso O., and Soliva-Fortuny R., 2011.** *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing.* Food Preservation Technology Series. CRC Press Taylor & Francis Group pp: 1-11.
- Massie I.H., Astley D., King G.J., 1996.** *Patterns of genetic diversity and relationship between regional groups and populations of Italian landrace of cauliflower and broccoli (Brassica oleracea L. var. botrytis and var. italic).* Acta Horticulture, 407, 45-53.
- Matoo, A.K., and W.B. White. 1991.** *Regulation of ethylene biosynthesis, pp. 21-42. In: A.K. Matoo and J.C. Suttle (eds.). The plant Hormone Ethylene.* CRC Press, Boca Raton. FL.

- Mattiolo O., Gallino B., Pallavicini G., 1918.** *Phytoalimurgia pedemontana.*
- Mattivi F., Tonon D., e Sanchez C., 2001.** *Gli antiossidanti polifenolici naturali.*
Relazione presentata a “Le giornate del controllo chimico degli alimenti”, IV edizione.
- Mayfield S.P., Nelson T., Taylor W.C., and Malkin R., 1986.** *Carotenoids synthesis and pleiotropic effects in carotenoid-deficient seedling of maizeanta.* Academic Press, 169, 23-32.
- Mazza G., e Miniati E., 1993.** *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains.* CRC Press, Boca Raton.
- Michels K.B., Edward G., Joshipura K.J., et al., 2000.** *Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers.* J Natl Cancer Inst, 92, 1740-1752.
- Montanari M., 2005.** *La fame e l'abbondanza. Storia dell'alimentazione in Europa.* Economia Laterza, pp 270.
- Monteiro A., Rosa E., 2008.** *Caldo verde: a story of Portuguese brassicas.* Chronica Horticulturae, 48, 9-11.
- Muaka M.M., Longo-Mbenza B., Tulomba Mona D., Nge Okwe A., 2010.** *Reduced risk of metabolic syndrome due to regular intake of vegetables rich in antioxidants among African type 2 diabetics.* Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews.
- Namiki M., 1990.** *Antioxidant/antimutagens in food.* CRC Critical Review Food Science and Nutrition, 29, 273-300.
- Negri V., Branca F., e Castellini G., 2007.** *Integrating wild plants and landraces conservation in farming systems: a perspective from Italy.* In: N. Maxted et al. (eds.), Crop Wild Relative Conservation and Use, CAB International, Wallingford, UK., 392-402.
- Ness A.R., Powles J.W., 1997.** *Fruit and vegetables and cardio-vascular disease: a review.* Int. J. Epidemiol. 26: 1-13.
- Nicola S., Fontana E., Torassa C., Hoeberechts J., 2006.** *Fresh-cut produce: postharvest critical issues.* Acta Horticulturae 712: 223-230.

- Nicoli M.C., Anese M., Parpinel M.T., Franceschi S. e Lericci C.R., 1997.** *Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage.* Cancer Letters, 114, 71-74.
- Nijhoff W.A., Groen G.M., Peters W.H.M., 1993.** *Induction of rat hepatic and intestinal glutathion S-transferases and glutathione by dietary naturally occurring anticarcinogens.* Int J Oncol, 1131-1139.
- Nursal B., e Yücecan S., 2000.** *Vitamin C losses in some frozen vegetables due to various cooking methods.* Nahrung/Food, 44(6), 451-453.
- Olivas G.I., and Barbosa-Cánovas G.V., 2005.** *Edible coating for fresh-cut fruits.* Critical Review in Food Science and Nutrition 45: 657-670.
- Olivera D.F., Viña S.Z., Marani C.M., Ferreyra R.M., Mugridge A., Chaves A.R., Mascheroni R.H., 2008.** *Effect of blanching on the quality of Brussels sprouts (Brassica oleracea L. gemmifera DC) after frozen storage.* Journal of Food Engineering 84, 148-155.
- Ordás A., e Cartea M.E., 2008.** *Cabbage and Kale.* NEW YORK: Springer, ISBN/ISSN: 978-0-387-71191-7, doi: 10.1007/978-0-387-30443-4. In: PROHENS J., NUEZ F.. Vegetables I., 119-149.
- Pan M.H., e Ho C. T., 2008.** *Chemopreventive effects of natural dietary compounds on cancer development.* Chem. Soc. Rev., 37, 2558-2574.
- Paolini M., 1998.** *Brussels sprouts: An exceptionally rich source of ambiguity for anticancer strategies.* Toxicology and Applied Pharmacology, 152, 293-294.
- Papas A., 1999.** *Current issues and emerging research Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health.* Boca Raton, FL: CRC Press; 601–620.
- Paradi D.S., Loftus E.V., Kremers W.K., et al., 2003.** *Ursodesoxycholic acid as a chemopreventive agent in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis.* Gastroenterology, 124, 889-893.
- Parrett A.M., Edwards C.A., e Lokerse E., 1997.** *Colonic fermentation capacity in vitro: development during weaning in breast-fed infants is slower for complex carbohydrates than for sugar.* Am. J. Clin. Nutr., 65(7), 927-33.
- Passa P., 2002.** *Diabetes trends in Europe.* Diabetes Metab. Res. Rev., 18, S3-S8.

- Peleg K., 1985.** *Produce handling, packaging and distribution.* AVI, Westport, CT.
- Periago M.,J., Rincon F., Aguera M.,D., Ros G., 2004.** *Mixture approach for optimizing lycopene extraction from tomato and tomato product.* J. Agric. Food Chem., 52(19), 5796-5802.
- Perishables Group, 2008.** *U.S. fresh cut produce trends.* Conference presented at the Freshconex, Berlin, Germany.
- Peron J.Y., 1992.** *Increase and preservation of vegetable crop diversity. The necessity of international and multidisciplinary cooperation.* Acta Hort 318, 19-29.
- Piazza R., 2003.** *Colture minori: quali sono, quali superfici. I limiti che ne hanno determinato la diffusione.* Convegno. "La tecnica colturale per alcune specie orticole minori" ORTOMAC, Cesena, 3.
- Piironen V., Syvaaja E.L., Varo P., Salminen K., e Koivistoinen P., 1986.** *Tocopherols and tocotrienols in Finnish foods: Vegetables, fruits, and berries.* Journal of Agriculture and Food Chemistry, 34, 742-746.
- Pimpini F., Giannini M., Lazzarin R., 2005.** *Ortaggi da foglia da taglio.* Veneto Agricoltura, Legnaro, 118.
- Pincemail J, 1995.** *Free radicals and antioxidants in human disease.* In Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre J-L (eds): " Analysis of Free Radicals in Biological Systems". Basel , Switzerland : Birkhauser Verlag, 83-98.
- Plinio XIX, 54. *Naturalis Historia.*
- Plumb G.W., Lambert N., Chambers S.J., Wanigatunga S., Heaney R.K., Plumb J.A., et al., 1996.** *Are whole extracts and purified glucosinolates from cruciferous vegetables antioxidants?* Free Radical Research, 25(1), 74-86.
- Podsędek A., 2007.** *Natural antioxidants and antioxidant capacity of brassica vegetables: A review.* LWT: J. Food Compo. Anal., 40: 1-11.
- Pool-Zobel B.L., Bub A., Muller H., Wollowski I., Rechkemmer G., 1997.** *Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first result of human intervention trial with carotenoid-rich foods.* Carcinogenesis, 18, 1847-1850.

- Poovalah B.W., 1986.** *Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables.* Food Technol 40(5): 86-89.
- Porrini M., Riso P., e Testolin G., 1998.** *Adsorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato.* Br. J. Nutr., 80, 353-361.
- Prescott-Allen R., e Prescott-Allen C., 1990.** *How many plants feed the world?* Conservat Biol 4, 365-374.
- Price K.R., Casascelli F., Colquhoun I.J., e Rhodes M.J.C., 1998.** *Composition and content of flavonol glycosides in broccoli florets (Brassica oleracea) and their fate during cooking.* Journal of the Science of Food and Agriculture, 77, 468-472.
- Principe P.P., 1991.** *Valuing the biodiversity of medicinal plants.* In Conservation of Medicinal Plants, ed. By Akerele A., Heywood V., and Synge H. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 79-124.
- Prior R.L., Guohua C., 2000.** *Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: Diet and health implications: The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Plant and Human Health.* ASHS Southern Region. Annual Meeting N°60, Lexington, Ky., ETATS-UNIS, 35, 4, 550-570.
- Pronk N.P., Anderson L.H., Crain A.L., Martinson B.D., O'Connor P.J., Sherwood N.E., et al., 2004.** *Meeting recommendations for multiple health lifestyle factors: prevalence, clustering, and predictors among adolescent, adult, and senior health plan members.* Am. J. Prev. Med., 27, 2, 25-33.
- Radtke J., Linseisen J., Wolfram G., 2002.** *Fasting plasma concentrations of selected flavonoids as biomarkers of their ordinary dietary intake.* Eur J Nutr, 41, 203-209.
- Ragaert P., Verbeke W., Devlieghere F., and Debevere J., 2004.** *Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits.* Food Quality and Preference 15: 259-270.
- Randhir R., Kwon Y., Shetty K., 2008.** *Effects of thermal processing on phenolics, antioxidant activity and health-relevant functionality of select grain sprouts and seedlings.* Innovative Food Science and Emerging Technologies 9, 355-364.

- Rao A.V., e Agarwal S., 1998.** *Bioavailability and in vivo antioxidant properties of Lycopene From Tomato Products and their possible role in the prevention of cancer.* Nutr., 31, 199-203.
- Rao A.V., Fleshner N., Agarwal S., 1999.** *Serum and tissue lycopene and biomarkers of oxidation in prostate cancer patients. A cause control study.* Nutr cancer, 33, 159-164.
- Raven P.H., Evert R.F., e Eichhorn S.E., 2002.** *Biologia delle piante.* Zanichelli, Bologna, pp.43-87.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., e Rice-Evans C., 1999.** *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.* Free Radical Biology & Medicine, 26(9/10), 1231-1237.
- Riboli E., e Norat T., 2003.** *Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk.* "Am J Clin Nutr.", 78(3 Suppl), 559S-69S.
- Rice-Evans C., Sampson J., Bramley P.M., e Holloway D.E., 1997.** *Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo.* Free Radical Research, 26, 381-398.
- Rico, D., Martin-Diana A.B., Barat, J.M., And C. Barry-Ryan. 2007.** *Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review.* Trends in Food Science and Technology 18: 373:386.
- Riso P., Pinder A., Santangelo A., Porrini M., 1999.** *Does tomato consumption increase the resistance of lymphocyte DNA to oxidative damage.* A, J Clin, Nutr., 69, 712-718.
- Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., e Glover W., 1999.** *Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits.* Food Chemistry, 66, 401-436.
- Roberfroid M.B., 2007.** *Inulin-type Fructans: Functional Food Ingredients.* J. Nutr., 137, 2493S-2505S.
- Robert K., Heaney and G. Roger Fenwick, 1980.** *Glucosinolates in Brassica Vegetables. Analysis of 22 Varieties of Brussels Sprout (Brassica oleracea var. gemmifera).* J. Sci. Food Agric. 31, 785-793.

- Roberts E.H., 1973.** *Predicting the storage life of seeds.* Seed science and technology, 1, 499-514.
- Roos E.E., 1989.** *Long-term seed storage.* In: Plants breeding reviews, vol. VII (Janick J. ed.). Timber Press, Portland, Oregon.
- Ross J. A., e Kasum C. M., 2002.** *Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety.* Annual Reviews of Nutrition, 22, 19–34.
- Rosa E.A.S., Heaney R.K., Rego F.C., Fenwick G.R., 1994.** *The variation of glucosinolate concentration during a single day in young plants of Brassica oleracea var. acephala and capitata.* J. Sci. Food Agric., 66, 457-463.
- Saccardo F., Crino P., 2003.** *Vegetables crops in Italy. From landraces to GMO (Genetically Modified Organism).* Italus Hortus, 10, 3, 37-45.
- Sakamoto H., Mori H., Ojima F., Ishiguro Y., Arimoto S., Imae Y., Nanba T., Ogawa M., e Fukuba H., 1994.** *Elevation of serum carotenoids after continual ingestion of tomato juice.* J. Jpn Soc. Nutr. Food Sci., 47, 93-99.
- Salisbury F.B. e Ross C.W., 1994.** *Fisiologia Vegetale.* Zanichelli, Bologna, pp.297-317.
- Salteit, M.E. 2004.** *Respiratory metabolism. In The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks.* USDA-ARS. Agriculture Handbook Number 66 (draft-revised 2004) Ed. K. Gross. [Http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/019respiration.pdf](http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/019respiration.pdf) (accessed August 25, 2009).
- Saltveit, M. E. 2003.** *Is it possible to find an optimal controlled atmosphere.* Postharvest Biology and Technology 27: 3-13.
- Saltveit, M.E., and F.Mencarelli. 1988.** *Inhibition of ethylene synthesis and action in reaping tomato fruit by ethanol vapors.* J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117: 793-798.
- Salucci M., Stivala L.A., Maiani G., et al., 2002.** *Flavonoid uptake and their effect on cell cycle of human colon adenocarcinoma cells.* Brit J Cancer, 86, 1645-1651.
- Sandler R.S., Halabi S., Baron J.A., et al., 2003.** *A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer.* N Engl J Med, 348, 883-890.

- Santopolo M., 1997.** *Metodi di valutazione economica nel ripristino della biodiversità in aree protette.* Atti del III Convegno Nazionale: Biodiversità Tecnologie – Qualità, Reggio Calabria- Gallina 16-17 Giugno 1997, pp 649-653.
- Sato R., Helzlsouer K.J., Huang H.Y., Alberg A.J., Hoffman S.C., Norkus E.P., et al., 2002.** *Prospective study of carotenoids, tocopherol, and retinoid concentrations and risk of breast cancer.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 11, 451-457.
- Scalbert A., e Williamson G., 2000.** *Dietary intake and bioavailability of polyphenols.* J. of Nutrition, 2073S-2085S.
- Scarascia Mugnozza G.T., e Swaminathan M.S., 1997.** *Conservazione della biodiversità.* Riv. Agricoltura, n°280 gen-feb.
- Schatzkin A., Lanza E., Corle D., et al., 2000.** *Lack of effect of a low fat, high fiber diet on the recurrence of colorectal adenomas.* N Engl J Med, 342, 1149-1155.
- Schlathälter M., e Petersen P.H., 2004.** *Biofumigation with nematode resistant catch crops.* Agroindustria, 407-408.
- Schneider V., Reinartz M.T., 1987.** *Nitratgehalte von heimischen Wildgemüse und Wildsalatarten.* Ernährungs-Umschau, 34, 157-160.
- Schonhof I., Krumbein A., Bruckner B., 2004.** *Genotypic effect on glucosinolates and sensory properties of broccoli and cauliflower.* Nahrung Food., 48, 25-33.
- Scott C., 2008.** *Fresh-cut growth trend continues.* Fresh Cut. www.freshcut.com/pages/arts.php?ns=794 (accessed July 2, 2010).
- Setiawan V.W., Chang F., Yu G.P., 2001.** *Protective effect of green tea on the risk of chronic gastritis and stomach cancer.* Int J Cancer, 92, 600-604.
- Shapiro T.A., Fahey J.W., Wade K.L., Stephenson K.K., Talalay P., 2001.** *Chemoprotective Glucosinolates and Isothiocyanates of Broccoli Sprouts: Metabolism and Excretion in Humans.* Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention vol.10, 501-508.
- Shewfelt R.L., e Prussia S.E., 1993.** *Postharvest handling – A systems approach.* Academic Press, san Diego, CA.

- Shi H., Noguchi N., and Niki E., 2001.** *Natural antioxidants*. In J. Pokorny N., Yanishlieva, and M. Gordon (Eds.), *Antioxidants in food Practical application*, (1st ed.) Cambridge: CRC Press Woodhead Publishing Ltd.
- Shi J., e Le Maguer M., 2000.** *Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing*. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 20(4), 293-334.
- Shigenaga M.K, Hagen T.M, Ames B.N., 1994.** *Oxidative damage and mitochondrial decay in aging*. *Proc Natl Acad Sci Usa*, 91, 10771-10778.
- Skyler J.S., e Oddo C., 2002.** *Diabetes/Metabolism Research and Reviews Supplement: Diabetes on Five Continents – Emerging Trends*. John Wiley & Sons, Ltd., 18, 3, S21-S26.
- Sidransky H., Ito N., e Verney E., 1966.** *Influence of a-naphthyl-isothiocyanate on liver tumorigenesis in rats ingesting ethionine and N-2-fluorenylacetamide*. *J. Natl. Cancer Inst.* 37: 677– 686.
- Singleton V.L., and Rossi J.A., 1965.** *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. *American Journal of Enology Viticulture*, 16, 144-158.
- Smith-Warner S.A., e Giovannucci E., 1999.** *Fruit and vegetable intake and cancer*. In: heber D., Blackburn G.L., Go V.L.W., editors. *Nutritional Oncology*. San Diego: Academic Press, 153-93.
- Snedecor G.W., e Cochran W.G., 1989.** *Statistical methods*. Ames: Iowa State UP.
- Snogerup S., Gustafsson M., Bothmer von R., 1990.** *Brassica sect. Brassica (Brassicaceae): 1. Taxonomy and variation*. *Willdenowia*, 19:271-365.
- Sonti S., Prinyawiwatkul W., Gillespie J.M., McWatters K.H.,and Bhale S.D., 2003.** *Analysis of consumer perception of fresh-cut fruits and vegetables and edible coating*. Paper presented at the Institute of Food Technologist Annual Meeting, Chicago.
- Souci S.W., Fachmann W., Kraut H., 1986.** *Die Zusammen-setzung der Lebensmittel. Nährwert-Tabellen 1986-87*. Wissenschaftl. Verlagsges. mgH., Stuttgart.

- Spooner D. M., Hettterscheid, W. L. A., van den Berg, R. G., and Brandenburg, W. A., 2003.** *Plant nomenclature and taxonomy*. Hortic. Rev., 28, 1-60.
- Sportelli G.F., 2009.** *La Puglia riscopre le qualità delle piante spontanee eduli*. Colture protette no.6 26-35.
- Stadtman E.R, Oliver C.N., 1991.** *Metal-catalyzed oxidation of proteins: physiological consequences*. J Biol Chem., 266, 2005-2008.
- Stahl W. and Sies H., 1996.** *Perspectives in biochemistry and biophysics*. Arch. Biochem. Biophys., 336(1), 1-9.
- Stampfer M.J., e Rimm E.B., 1995.** *Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease*. America Journal of Clinical Nutrition, 62, 1365-1369.
- Steele V.E., Kelloff G.J., Balentine D., et al., 2000.** *Comparative chemopreventive mechanisms of green tea, black tea and selected polyphenol extracts measured by in vitro assays*. Carcinogenesis, 21, 63-67.
- Steijns J.M., van Hooijdonk A.C.M., 2000.** *Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin*. British Journal of Nutrition, 84 Suppl 1, pp. S11–S17.
- Steinmetz K.A., e Potter J.D., 1996.** *Vegetables, fruit and cancer prevention: a review*. J Am Diet Assoc, 96, 1027-39.
- Story A., e Simans D.H., 1997.** *Fresh produce manual*. Australian United Fresh Fruit and Vegetable Association Ltd, Sydney.
- Sun S.S.M., e Hang C., 1998.** *Broadening the genetic diversity of vegetable crops through molecular approach*. Acta Hort 467, 23-32.
- Swain T., Hills W.E., 1959.** *The phenolic constituent of Prunus domestica, 1: the quantitative analysis of phenolic constituents*. Scientific Food Agriculture, 10, 63-68.
- Targioni- Tozzetti, 1767.** *De Alimenti Urgentia*.
- Taylor, J. D., Conway, J., Roberts, S. J., Astley, D., and Vicente, G. J., 2002.** *Sources and origin of resistance to Xanthomonas campestris pv. campestris in Brassica genomes*. Phytopathology 92:105-111.

- Temple N.J., 2000.** *Antioxidants and disease: More questions than answers.* Nutrition Research, 20(3), 449-459.
- Thompson B., 1977.** *Fundamentals of gas analysis by gas chromatography.* Varian, Walnut Creek, CA.
- Thompson A.E., 1985.** *New native crops for the arid southwest.* Econ. Bot., 39, 436-453.
- Thompson A.K., 1995.** *Postharvest technology of fruit and vegetables.* Blackwell Science, London.
- Tian Q., Rosselot R.A., Schwartz S.J., 2005.** *Quantitative determination of intact glucosinolates in broccoli, broccoli sprouts, Brussels sprouts, and cauliflower by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry.* Analytical Biochemistry 343, 93-99.
- Tillmans J., Hirsch P., Hirsch W., 1932.** *The reducing power of vegetable foods and its relation to vitamin C. The reducing substance in lemon juice.* Z. Untersuch. Lebensmittel, 63, 1.
- Toivonen, P.M.A., and Brummel, D. A. 2008.** *Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables.* Postharvest Biology and Technology 408: 1-14.
- Tonguç, M., and Griffiths, P. D., 2004.** *Development of black rot resistant interspecific hybrids between Brassica oleracea L. cultivars and Brassica accession A19182, using embryo rescue.* Euphytica 136:313-318.
- Trombly H.H., e Porter J.W., 1953.** *Additional carotenes and colorless polyene of Lycopersicon species and strain.* Arch. Biochem. Biophys.; 43(2), 443-457.
- Tsuda H., Ohshima Y., Nomoto H., Fujita K., Matsuda E., Iigo M., Takasuka N., Moore M., 2004.** *Cancer prevention by natural compounds.* Curr. Drug. Metab., 19, 245-263.
- Tucker, G.A. 1993.** *Introduction: Respiration and energy, pp. 1-51.* In: G.B. Seymour, J.E. Taylor, and G.A. Tucker (eds) *Biochemistry of Fruit Ripening.* Chapman and Hall, London.
- UPOV, 2004.** *Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability, cabbage (Brassica oleracea L.: Brassica (White Cabbage Group):*

- Brassica (Savoy Cabbage Group); Brassica (Red Cabbage Group).*
International Union for the Protection of Plants, Geneva, Switzerland.
- USDA, 2006.** *The PLANTS Database, National Plant Data Center, Baton Rouge (July 12, 2006).* <http://plants.usda.gov/classification.html>.
- US Preventive Service Task Force, 2003.** Routine vitamin supplementation to prevent cancer and cardiovascular disease: recommendations and rationale. *Ann Int Med*, 139, 51-70.
- Vallejo F., Tomas-Barberan F.A., e Garcia-Viguera C., 2002.** *Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain.* *Journal of*
- Vallejo F., Garcia-Viguera C., e Tomas-Barberan F., 2003.** *Changes in broccoli (Brassica oleracea L. var. italica) health-promoting compounds with inflorescence development.* *J. Agric. Food Chem.*, 51, 3776-3782.
- vanderLogt E.M., Roelofs H.M.J., Nagengast F.M., Peters W.H.M., 2003.** *Induction of rat hepatic and intestinal UDP-glucuronosyltransferases by naturally occurring dietary anticarcinogens.* *Carcinogenesis*, 24, 1651-1656.
- Varoquaux, P. 2002.** *Fruits frais prêts à l'emploi dits de 4^e gamme. In Technologies de Transformation des Fruits. Eds. G. Albagnac, P. Varoquaux, and J.C. Montigaud.* Collection Sciences and Techniques Agroalimentaries. Lavoisier, Paris.
- Vavilov N.I., 1926.** *Studies on the origin of cultivated plants.* *Bull. Appl. Bot. Genet. Pl. Breed.*, 16, 139-248.
- Verhagen H., Arjan de Vries, Nijhoff W.A., Schouten A., Geert van Poppel, Peters W.H.M., Henk van der Berg., 1997.** *Effect of Brussels sprouts on oxidative DNA-damage in man.* *Cancer Letters* 114, 127-130.
- Verhoeven D.T., Verhagen H., Goldbohm R.A., van den Brandt P.A., and van Poppel G., 1997.** *A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables.* *Chemico-Biological Interactions*, 103, 79-129.
- Vermeulen M., van der Berg R., Freidig A. P., van Bladeren P. J., Vaes W. H. J., 2006.** *Association between consumption of cruciferous vegetables and condiments and excretion in urine of isothiocyanate mercapturic acids.* *J. Agric. Food. Chem.*, 54, 5350-5358.
- Viani P., 1929.** *Trattato di orticoltura.* Battiato editore, Catania, 1217.

- Vidal-Valverde C., Frías J., Sotomayor C., Diaz-Pollan C., Fernandez M., Urbano G., 1998.** *Nutrients and antinutritional factors in faba beans as affected by processing.* Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forshung 207:140-145.
- Vidal-Valverde C., e Frías J., 1992.** *Changes in carbohydrates during germination of lentils.* Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forshung 194: 461-464.
- Vilas-Boas, E.V.D.B., and A.A. Kader. 2007.** *Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on softening of fresh-cut kiwifruit, mango and persimmon slices.* Postharvest Biol. Technol. 43: 238-244.
- Viña S.Z., Mugridge A., Garcia M.A., Ferreyra R.M., Martino M.N., Chaves A.R., Zaritzky N.E., 2007.** *Effects of polyvinylchloride films and edible starch coatings on quality aspects of refrigerated Brussels sprouts.* Food Chemistry 103, 701-709.
- Vinson J.A., Dabbagh Y.A., Serry M.M., e Jang J., 1995.** *Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease.* Journal of Agriculture and Food Chemistry, 43, 2800-2802.
- Virtamo J., Pientinen P., Huttunen J.K., Korhonen P., Malila N., Virtanen M.J., et al., 2003.** *ATBC Study Group. Incidence of cancer mortality, following alpha-tocopherol and beta-carotene supplementation: a postintervention follow-up.* JAMA, 290, 476-85.
- Wallsgrave R.M., Bennet R.N., Doughty K., 1999.** *Glucosinolates.* In: Singh B.K. (Ed), *Plant Amino Acids, Biochemistry and Biotechnology.* Marcel Dekker, New York, NY, 523-561.
- Wang C.Y., 1990.** *Chilling injury of horticultural crops.* CRC Press, Boca Raton, FL.
- Wang K.A., Lin R.D., Hsu L.F., Huang Y.H., Chang H.C., Huang C.Y., Lee M.H., 2006.** *Cosmetic application of selected traditional Chinese herbal medicines.* Journal of Ethnopharmacology, 106, 353-359.
- Watada, A., N. Ko, and D. Minott. 1996.** *Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products.* Postharvest Biol. Technol. 9: 115-125.

- Watada, A.E., and L.Qi. 1999.** *Quality control of minimally-processed vegetables.* Acta Hort. 483: 209-220.
- Watanabe K., Yamada Y., Ueno S., Mitsuda H., 1985.** *Change of freezing resistance and retention of metabolic and differentiation potentials in cultured green *Lavandula vera* cells which survived repeated freeze-thaw procedures.* Agric. Biol. Chem., 49, 1727-1731.
- Wattenberg L.W., 1992.** *Inhibition of carcinogenesis by minor dietary constituents.* Cancer Res., 52, 2085-2091.
- Wills R., McGlasson B., Graham D., Joyce D., 1998.** *An Introduction to the Physiology & Handling of fruits, vegetables & ornamentals.* 4th Edition Postharvest. CAB INTERNATIONAL, pp: 1-256.
- Withers L.A., 1985.** *Cryopreservation of cultured cells and meristems.* In: Cell culture and somatic cell genetics of plants, vol. II. Academic Press, Orlando, Florida.
- Witte J.S., Longnecker M.P., Bird C.L., Lee E.R., Frankl H.D., Haile R.W., 1996.** *Relation of vegetable, fruit and grain consumption to colorectal adenomatous polyps.* Am J Epidem, 144, 1015-1027.
- Witzum J.L., 1994.** *The oxidation Hypothesis of atherosclerosis.* Lancet, 344, 793-795.
- World Cancer Research Fund, 1997.** *Food, Nutrition and the prevention of Cancer: A Global Perspective.* Menasha, WI: Banta Book Group.
- Wu A.H., Yu M.C., Tseng C.C., Hankin J., Pike M.C., 2003.** *Green tea and risk of breast cancer in Asian Americans.* Int J Cancer, 106, 574-9.
- Wu K., Erdman Jr J.W., Schwartz S.J., Platz E.A., et al., 2004.** *Plasma and dietary carotenoids, and the risk of prostate cancer: a nested case-control study.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 13, 260-269.
- Xianquan S., Shi J., Kakuda Y., Yueming J., 2005.** *Stability of lycopene during food processing and storage.* J. Med. Food, 8(4), 413-422.
- Yamane T., Nakatani H., Kikuoka N., et al., 1996.** *Inhibitory effects and toxicity of green tea polyphenols for gastrointestinal carcinogenesis.* Cancer, 77, 1662-1667.
- Yang C.S., Landau J.M., Huang M.T., et al., 2001.** *Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds.* Annu Rev Nutri, 21, 381-406.

- Yang C.S., Malaikal P., Meng X., 2002.** *Inhibition of carcinogenesis by tea.* Annu Rev Pharmacol Toxicol, 33, 237-253.
- Yan X., e Chen S., 2007.** *Regulation of plant glucosinolate metabolism.* Planta, 226, 1343- 1352.
- Yanishlieva-maslarova N.V., 2001.** *Inhibiting oxidation.* Boca Raton, FL: CRC Press LLC. In J. Pokorny N., Yanishlieva & M. Gordon (Eds.), Antioxidants in foods, 22-70.
- Yingsanga, P., Srilaong, V., and Kanlayanarat, S. 2006.** *Morphological differences associated with water loss in rambutan fruit cv. 'Rongrien' and 'See-Chompoo'.* In Proceedings IV International Conference on Managing Quality in Chains. Eds. A.C. Purvis et al. Acta Horticulture (ISHS) 712: 453-459.
- Yukawa T.A., Kurokawa M., Sato H., Yoshida Y., Kageyama S., Hasegawa T., Namba T., Imakita M., Hozumi T., Shiraki K., 1996.** *Prophylactic treatment of cytomegalovirus infection with traditional herbs.* Antiviral Res, 32, 63-70.
- Zaidi M.A., e Crow S.A., 2005.** *Biologically active traditional medicinal herbs from Balochistan Pakistan.* Journal of Ethnopharmacology, 96, 331-334.
- Zhang M., Binns C.W., Lee A.H., 2002.** *Tea consumption and ovarian cancer risk: a case control study in China.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 11, 713-8.
- Zhang X., 2007.** *New approaches on improving the quality and safety of fresh cut fruits and vegetables.* Acta Horticulturae 746: 97-102.
- Zhang Y., e Talalay P., 1994.** *Anticarcinogenic activities of organic isothiocyanates: chemistry and mechanisms.* Cancer Res., 54, 1976-1981.
- Zhukovskij P.M., 1968.** *New centres of origin and new gene centres of cultivated plants including specifically endemic microcentres of species closely allied to cultivated species.* Bot. Zh., 53, 430-460.
- Zumbrunn A., Uebelhart P., e Eugster C.H., 1985.** *HPLC of carotenes with γ -end groups and (Z)- configuration at terminal conjugated double bonds, isolation of (5Z)-lycopene from tomatoes.* Helv. Chim. Acta., 68, 1540-1542.