



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animale Alimenti Risorse Naturali e Ambiente

Dipartimento di Scienze Chimiche

Corso di Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Alimentari

Macronutrienti e micronutrienti in diverse farine di grano saraceno (*Fagopyrum esculentum*) provenienti dalla grande distribuzione (UE, extra UE), piccole aziende locali (Treviso e Parma) e autoconsumo (Val di Non)

Relatore: Prof. Saverio Santi

Correlatore: Prof. Stefano Dall'Acqua

Laureando: Matteo Branz

Matricola n. 2024234

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

Riassunto

Il grano saraceno (*Fagopyrum spp*) è una pianta erbacea annuale, il cui raccolto viene utilizzato per l'alimentazione umana, perlopiù sotto forma di farina. La pianta è definita uno pseudocereale perché pur avendo molti punti in comune con le specie della famiglia delle *Poaceae* (ex *Graminaceae*), fa parte della famiglia delle *Polygonaceae*, e non può quindi essere definito come cereale. Sembra, secondo gli ultimi studi che la pianta abbia avuto origine nella regione del Tibet, e da lì sia arrivata prima in Cina sud-occidentale e poi con i commerci nel resto del mondo. Ad oggi questa coltura è diffusa in tutta l'Europa centrale, in Russia, sulle colline del Tibet e dell'Himalaya e nella Cina sud-occidentale. Si è diffusa in queste regioni in quanto è una pianta che necessita di un clima freddo e leggermente umido per essere coltivata. La semina viene effettuata tra la metà di giugno e la metà di luglio, mentre la raccolta viene effettuata alla fine di settembre o all'inizio di ottobre. La resa in raccolta varia tra 1 e 2 tonnellate/ha di granella in base alla zona di produzione.

Il prodotto che si ottiene dalla raccolta sono degli acheni tetraedrici che possono essere macinati per ottenere la farina, che è il prodotto maggiormente utilizzato per l'alimentazione umana. La composizione della farina è (su 100 g):

- Acqua: 10 g
- Carboidrati: 71 g
- Proteine: 13 g
- Grassi: 3 g
- Vitamine, minerali, polifenoli e altri microelementi: 3 g

Nello studio sono state scelte 7 diverse farine di grano saraceno provenienti da 3 zone di produzione diverse. Queste sono state scelte dal punto di vista qualitativo per verificare se la zona di produzione e le tecniche colturali utilizzate abbiano un'influenza sulla qualità del prodotto. Le zone di origine delle farine sono:

- Val di Non (2 campioni);
- Veneto e Emilia-Romagna (2 campioni);
- Paesi Ue e paesi extra UE (3 campioni);

I parametri qualitativi presi in considerazione per la comparazione delle farine sono:

- contenuto proteico totale;
- contenuto di aminoacidi;
- contenuto di vitamine B;
- contenuto di polifenoli;
- contenuto di lipidi;

Abstract

Buckwheat (*Fagopyrum* spp) is an annual herbaceous plant, the crop of which is used for human nutrition, mostly in the form of flour. The plant is defined as a pseudo-cereal because, despite having many points in common with the species of the Poaceae family (formerly Graminaceae), it is part of the Polygonaceae family, and therefore cannot be defined as a cereal.

According to the latest studies, it seems that the plant originated in the Tibet region, and from there it first arrived in south-western China and then with trade in the rest of the world. To date, this crop is widespread throughout central Europe, in Russia, in the hills of Tibet and the Himalayas and in southwestern China. It has spread in these regions as it is a plant that needs a cold and slightly humid climate to be cultivated. Sowing takes place between mid-June and mid-July, while harvesting takes place in late September or early October. The harvesting yield varies between 1 and 2 tons/ha of grain according to the production area.

The product obtained from the collection are tetrahedral achenes that can be ground to obtain flour, which is the product most used for human consumption. The composition of the flour is (on 100 g):

- Water: 10 g
- Carbohydrates: 71 g
- Proteins: 13 g
- Fats: 3 g
- Vitamins, minerals, polyphenols and other micro-constituents: 3 g

In the study, 7 different buckwheat flours from 3 different production areas were chosen. These were compared from a qualitative point of view to verify whether the production area and the cultivation techniques used have an influence on the quality of the product. The areas of origin of the flours are:

- Val di Non (2 samples);
- Veneto and Emilia-Romagna (2 samples);
- EU countries and non-EU countries (3 samples);

The qualitative parameters taken into consideration for the comparison of the flours are:

- total protein content;
- amino acid content;
- vitamin B content;
- polyphenol content;
- fat content;

Sommario

Riassunto	3
Abstract	4
Introduzione	7
Storia del grano saraceno	7
Descrizione della pianta	10
Classificazione.....	10
Morfologia della pianta	10
Esigenze ambientali della pianta	12
Ciclo biologico della pianta	13
Tecniche colturali	14
Specie coltivate	16
Produzione e utilizzo.....	17
Caratteristiche nutrizionali	20
Carboidrati	21
Amido.....	21
Fibra	23
Zuccheri semplici	24
Proteine	25
Aminoacidi	26
Lipidi	27
Acidi grassi	27
Polifenoli	29
Vitamine	31
Minerali	33
Scopo	35
Metodi	38
Analisi del contenuto proteico totale	38
Analisi delle vitamine b totali e delle singole vitamine B	38

Analisi dei polifenoli	40
Analisi dei lipidi	41
Analisi degli zuccheri liberi	42
Analisi dell'umidità	43
<i>Risultati e discussione</i>	<i>44</i>
Risultati	44
Analisi del contenuto proteico totale	44
Analisi delle vitamine B totali e delle singole vitamine B	46
Analisi dei lipidi	59
Analisi degli zuccheri liberi	63
Analisi dell'umidità	66
Discussione	67
<i>Conclusione</i>	<i>70</i>
<i>Bibliografia.....</i>	<i>72</i>

Introduzione

Storia del grano saraceno

Il grano saraceno è una pianta erbacea a fiore utilizzata per la produzione di semi utilizzati principalmente per l'alimentazione umana, e per la maggior parte, come farina. Nonostante il nome, le caratteristiche nutrizionali e il suo impiego siano molto simili alle specie appartenenti alla famiglia delle *Poaceae* (ex *Graminaceae*), come ad esempio il frumento, questa pianta appartiene alla famiglia delle *Polygonaceae* e al genere *Fagopyrum*. Di conseguenza il grano saraceno, dal punto di vista scientifico, non è classificato come un cereale, ma come uno pseudocereale, mentre dal punto di vista commerciale viene trattato come fosse un cereale.

La zona di origine della pianta ad oggi non è ben chiara e ci sono diverse ipotesi. Secondo (Origine Des Plantes Cultivées - Alphonse de Candolle 1883), il grano saraceno comune avrebbe origine in Siberia o nell'area del fiume Amur, che oggi segna il confine tra Russia e Cina nella zona della Manciuria. La sua ipotesi si basava principalmente su considerazioni filologiche e sull'esistenza, segnalata, di grano saraceno comune selvatico dai tassonomisti russi (Carl Friedrich von Ledebour 1841). Inoltre, l'assenza di documenti scritti in cinese o in sanscrito in cui viene riportato il nome proprio di grano saraceno, implicherebbe che il grano saraceno non ha avuto origine in Cina né in India. Nella seconda metà del XIX secolo, spedizioni botaniche in Cina da parte di scienziati europei hanno rivelato che le specie di grano saraceno selvatico sono state trovate in crescita solo nel sud del paese. Queste informazioni hanno messo in discussione l'ipotesi che l'origine della pianta sia localizzata nella parte sud-orientale della Russia, e ne hanno formulata una seconda che localizzerebbe l'origine della pianta in Cina.

Un'altra ipotesi è stata elaborata da (Konishi et al., 1957), che identificò la Cina meridionale come luogo di origine del grano saraceno comune sulla base dell'enumerazione di Steward delle specie di grano saraceno selvatico in quella zona (Steward, 1930), riassumendo la classificazione e la distribuzione delle specie *Polygonaceae* in Asia orientale), (Konishi et al., 1957).

Dopo la scoperta di (Ohnishi, 1998) delle specie di *Fagopyrum esculentum* subsp. *Ancestralis* e *F. homotropicum* è chiaro che entrambe le specie sono strettamente correlate al grano saraceno comune e quindi le più probabili candidate ad essere i suoi progenitori selvatici. Il *F. homotropicum*, specie autofecondante, non è in linea con la tendenza generale dell'evoluzione del regno vegetale

che porta le specie da autoincompatibili allogame ad autogame ed autocompatibili. Per questo il *F. esculentum subsp. Ancestralis* è il probabile progenitore selvatico del grano saraceno comune. Pertanto, l'origine del grano saraceno potrebbe essere localizzata nel sudovest della Cina, nel nordovest della provincia dello Yunnan, in quanto la distribuzione in natura del *F. esculentum subsp. Ancestralis* è stata trovata in questa regione. Anche se il grano saraceno è stato coltivato in Cina già nel primo e secondo secolo A.C. (Chen, 1999), le prime testimonianze che indicano un incremento di produzione nell'area cinese vengono collocate nel quinto - sesto secolo D.C. (Krotov, 1963).

Alcuni scienziati russi hanno sostenuto che il Tibet o le colline dell'Himalaya fossero l'originale luogo di nascita del grano saraceno (Krotov, 1963 vista la distribuzione delle specie selvatiche di *Fagopyrum*, che si trovano in Tibet e Cina sud-occidentale.

Ad oggi è l'ipotesi che localizza l'origine del grano saraceno tra Tibet occidentale e la provincia del Sichuan orientale (Cina) ad essere considerata la più probabile zona d'origine e di addomesticazione della pianta. Questo perché ci sono numerose prove, anche diverse da quelle biologiche (distribuzione delle specie selvatiche, relazione genetica tra grano saraceno coltivato e selvatico) che localizzerebbero l'origine della pianta in queste zone. In particolare, di recente sono state trovate alcune prove archeologiche che coinvolgono una tribù che nel tempo è migrata dal Tibet e dalle regioni cinesi orientali, verso la Cina del sud portando con sé il grano saraceno. Questo gruppo di minoranza nel sud della Cina, la tribù Yi, avrebbe utilizzato ampiamente il grano saraceno nella provincia del Sichuan.

Questa tribù, appartenente al gruppo linguistico Tibet-Burmy, pare sia migrata inizialmente dal nord del Sichuan allo Yunnan. Successivamente ha poi continuato a migrare verso est entrando prima nella provincia di Quishou da dove poi tornarono verso il Sichuan (Ohnishi, 1998). Si sostiene che questa tribù migrante abbia adottato il grano saraceno nel Tibet orientale e poi lo abbiano portato durante la loro migrazione nella parte sud-occidentale della Cina.

Le comunità delle Cina sudoccidentale, come la tribù Yi, hanno riportato mediante il proprio alfabeto geroglifico delle parole che significano grano saraceno e grano saraceno tartaro e tramandato nel tempo molti racconti popolari e cerimonie religiose che legate a questa specie vegetale (Chen, 1999). Tuttavia, alcuni studi hanno riportato la presenza di resti archeologici in un villaggio vicino a Chamdu del Tibet orientale, che può essere datato al 2600 a.C, una data precedente ai ritrovamenti fatti in Cina.

Soltanto nel medioevo è stato introdotto in Europa e sono state formulate due ipotesi su come sia arrivato. La prima sostiene l'arrivo in Germania dalla Siberia nel quindicesimo secolo, Clayton Garnet Campbell (1997) mentre la seconda ipotesi sostiene l'arrivo in Grecia e nella penisola balcanica tramite i commerci dell'impero Ottomano con le popolazioni dell'Estremo Oriente

La prima fonte storica che attesta la coltivazione del grano saraceno in Occidente è rappresentata da un antico registro proveniente dalla zona di Gadebusch nel Mecklemburg (Germania orientale, ai confini con la Polonia) datato 1436 e contenente i prodotti agricoli della regione, tra cui il Bukweten (nome del grano saraceno in tedesco antico) (Giancarla Maestroni (2004) Pagine botaniche. N. 29/2004). La seconda ipotesi è formulata dal nome dato alla pianta, "saraceno", termine utilizzato per indicare le popolazioni medio orientali a quel tempo.

In Italia le prime notizie della sua coltivazione risalgono alla prima metà del Cinquecento, tra cui troviamo Pietro Andrea Mattioli, studioso e medico della signora di Cles (TN), il quale ne menziona nel suo "Historia del saracino e le sue virtù" (1565). Secondo Luigi Messedaglia, come riportato nel suo saggio "A proposito di grano saraceno e di polenta. Note manzoniane" (1931), Manzoni descrive una scena collocata temporalmente nel 1628 in Lombardia dove è presente il grano saraceno (Giancarla Maestroni (2004) Pagine botaniche. N. 29/2004). La prima fonte storica che attesta la diffusione del grano saraceno in Valtellina (SO) è rappresentata da una relazione stilata nel 1616 da Giovanni Guler von Weinech, governatore grigionese della Valle dell'Adda, il quale elenca i prodotti agricoli del Terziere di Mezzo (zona compresa tra Sondrio e Tirano). Altra testimonianza è un atto notarile redatto dal notaio Fajj Pietro il 14 agosto 1654, relativo ai Beni incantati del sig. Paulo Besta di Teglio (Archivio di Stato di Sondrio – n. 5004), il quale indica che tale appezzamento veniva coltivato a grano saraceno (Giancarla Maestroni (2004) Pagine botaniche. N. 29/2004). Questo pseudocereale rimase per secoli, dopo la sua introduzione, un alimento destinato alle fasce più povere della società del tempo, che lo consumavano per la maggior parte sotto forma di zuppe o minestre, mentre gli aristocratici e le classi più agiate erano soliti chiamarlo "porridge nero" e preferivano non consumarlo. Ad oggi, invece, il consumo di grano saraceno sta aumentando ed è sempre più richiesto sul mercato per le sue proprietà organolettiche e nutritive, tra cui anche l'assenza di glutine. In particolare, in Valtellina nel tempo si sono sviluppati prodotti tipici ancora oggi consumati come i rinomati pizzoccheri e la polenta taragna. Il suo incremento nel mercato è da correlare anche alla sua assenza di glutine che quindi lo rendono adatto a quelle fasce di popolazione che soffrono di disturbi infiammatori dell'apparato gastro intestinale, come ad esempio la celiachia.

Descrizione della pianta

Classificazione

CLASSIFICAZIONE BOTANICA	
DOMINIO	Eukaryota
REGNO	Plantae
DIVISIONE	Magnoliophyta
CLASSE	Dicotyledonae
ORDINE	Polygonales
FAMIGLIA	Polygonaceae
GENERE	Fagopyrum

Tabella 1. Classificazione scientifica grano saraceno

Morfologia della pianta

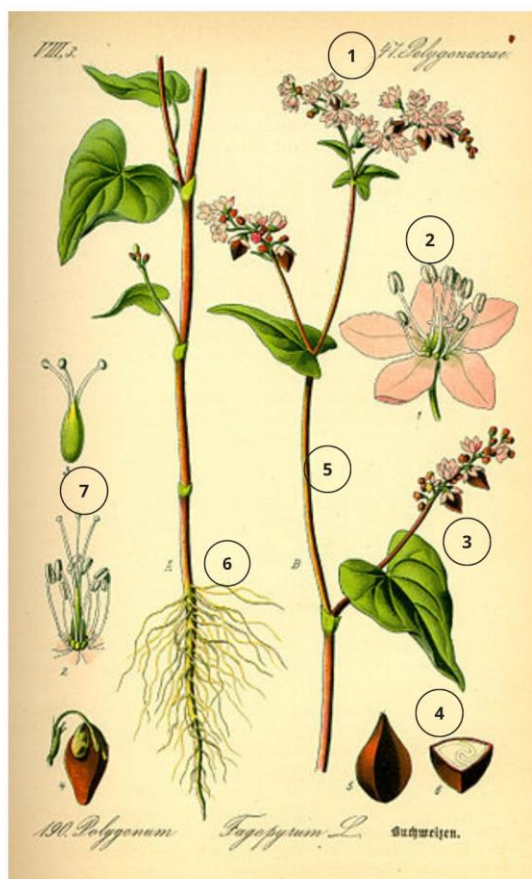
Il grano saraceno è una pianta erbacea annuale a ciclo vegetativo breve, variante da 60-70 giorni fino a 100 giorni. Possiede una radice fittonante poco sviluppata e un fusto cilindrico, glabro, eretto, cavo, ramificato e di colore verde, il quale, raggiungendo la maturità, vira al rossastro o rosso-marrone. La sua altezza varia da 60 cm a 120 cm.

Le foglie sono alterne, provviste alla base di una formazione stipolare caratteristica, detta ocrea, peduncolate alla base e più piccole e sessili verso la parte distale della pianta. La lamina è ovato-triangolare di lunghezza dai 2 agli 8 cm, cordata o approssimativamente astata alla base e con apice acuminato.

L'infiorescenza ascellare o terminale è costituita da racemi corimbiformi o panicolati (infiorescenza caratterizzata da un asse principale da cui si dipartono peduncoli dei fiori in maniera alternata, ma che terminano tutti alla stessa altezza), formati da fiori bianchi, bianco-rosati o rosa, ermafroditi, senza petali e con cinque sepali. I fiori presentano una eterostilia dimorfa: si possono riscontrare, infatti, fiori con lunghi pistilli e corti stami (tipo pin) e fiori con corti pistilli e lunghi stami (tipo thrum).

Gli stami sono otto, mentre il pistillo è composto da un ovario monospermo sormontato da uno stilo terminale con tre stigmi. Le piante sono auto sterili e l'impollinazione, incrociata, può essere sia anemofila (avviene tramite il vento), che entomofila (tramite insetto). Non tutti i fiori danno origine ai semi. Il frutto è un achenio tetraedrico il cui pericarpo (panicolato), è formato da fiori bianchi, bianco-rosati o rosa, ermafroditi, senza petali e con cinque sepali. Non tutti i fiori danno origine ai semi.

Il frutto presenta un colore variante dal bruno al nero, più o meno lucido, e contenente un unico seme ricco di endosperma. L'embrione provvisto da due cotiledoni è situato al centro dell'endosperma. Il peso di 1.000 semi varia da 20-23 a 31-33 g (Remigio Baldoni, Luigi Giardini (2000) Coltivazioni erbacee. Cereali e proteaginose).



- 1) Infiorescenza**
- 2) Fiore**
- 3) Foglia**
- 4) Achenio**
- 5) Fusto**
- 6) Radice**
- 7) Pistillo e stami**

Figura 1. Rappresentazione delle principali parti del grano saraceno

Esigenze ambientali della pianta

Le varietà di grano saraceno, *F. esculentum* e *F. tataricum*, sono colture che richiedono un clima temperato fresco e umido. Nonostante sia una pianta che tollera temperature più basse di altre colture simili la specie *F. esculentum* è particolarmente sensibile alle gelate primaverili tardive e viene coltivato ad altitudini inferiori rispetto a *F. tataricum* il quale è molto più resistente al gelo.

A supporto di ciò, si osserva che le coltivazioni di grano saraceno comune (*F. esculentum*) sono concentrate nella fascia dei 500-2500 m di altitudine, mentre sopra i 2500 m, dove vi è un maggiore rischio che il gelo danneggi il raccolto, il tartarico (*F. tataricum*) lo rimpiazza. Il grano saraceno è una pianta che tollera l'acidità e cresce bene su suoli sabbiosi e ben drenati. L'umidità del suolo impatta in maniera rilevante sulla produzione, in caso di un alto tasso di umidità del suolo vi è un aumento della dimensione del seme, e quindi un incremento della produzione (Gubbels 1978). Mentre in caso di una scarsa umidità del suolo abbasserà la resa finale, e se questa siccità fosse accompagnata da temperature sopra i 30 °C durante la fioritura si potrebbe avere un disseccamento degli acheni e un abbassamento della resa (Krotov, 1963). Inoltre, in condizioni di scarsa umidità la pianta è particolarmente sensibile alle alte temperature e ai venti caldi e secchi, che solitamente portano all'aborto florale e alla perdita di produzione. Vista la superficialità dell'apparato radicale è essenziale per una buona resa un'adeguata umidità del suolo. In caso di siccità la crescita risulterà stentata e lenta e anche la maturazione sarà ritardata, a differenza dei cereali che, in caso di bassa umidità del suolo anticipano la maturità. Tale coltura si adatta bene a suoli poveri mentre in quelli fertili alletta facilmente, soprattutto se presenti venti forti e acquazzoni. Le piante, una volta allettate, continuano la loro crescita, ma gli steli rimangono a contatto con il suolo e quindi possono essere soggette a malattie e marciumi. Vento e grandine provocano anche rotture degli steli, in quanto cavi, e le piantine, se ancora relativamente immature, possono originare una nuova ramificazione dalle ascelle delle foglie più basse, mentre se sono quasi giunte a maturità si può perdere parte del raccolto a causa delle malattie, per la maggior parte fungine, che si possono sviluppare sulla pianta.

Il grano saraceno è in generale una pianta molto resistente alle malattie, soprattutto a quelle originate da funghi o altri microorganismi. Sul grano saraceno compaiono pochi danni dovuti a insetti dannosi, ma è una coltura molto amata dagli animali selvatici e dagli uccelli. Queste possono portare a notevoli perdite di raccolto e di resa, soprattutto su piccoli appezzamenti al confine del bosco. Per ridurre l'incidenza di questi eventi dannosi si può ricorrere all'installazione di una recinzione dove necessario, oppure con l'installazione di reti e di dispositivi di allarme ottici e acustici.

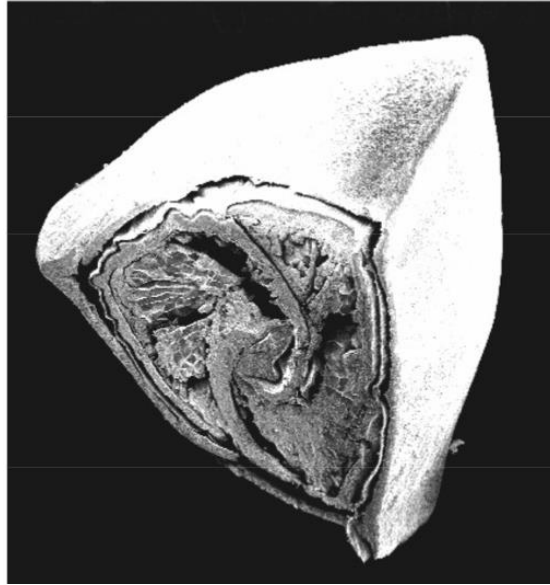


Figura 2. Chicco di grano saraceno visto al microscopio elettronico, (Wijngaard & Arendt, 2006)



Figura 3. Chicchi di grano saraceno tatarico



Figura 4. Chicchi di grano saraceno comune

Ciclo biologico della pianta

Il grano saraceno è una pianta a ciclo vegetativo breve, variante da 60-70 fino a 100 gg in relazione alla varietà, ed è utilizzata come coltura intercalare, estiva-autunnale, in successione a cereali vernini come frumento, segale o orzo. In considerazione del fatto che è molto sensibile alle condizioni climatiche, specialmente durante la fase della fioritura che richiede una temperatura ottimale di 20 °C, e della brevità del suo ciclo, il periodo ottimale per la semina rientra tra il 15 giugno e il 15 luglio (Remigio Baldoni, Luigi Giardini (2000) Coltivazioni erbacee. Cereali e proteaginose) in modo tale che

la coltura non raggiunga la maturità fisiologica prima che la temperatura in autunno scenda sotto il limite critico di 2,5 °C e subisca possibili stress a seguito di siccità. Le fasi fenologiche del grano saraceno dipendono dalla varietà di seme utilizzata e dalle condizioni meteorologiche e, siccome sia la fioritura che la maturazione del seme sono scalari è possibile approssimare sia la data di fioritura, circa 35-40 giorni dopo la semina, che la data di raccolta, che si effettua circa 3-4 mesi dopo la semina, quando il maggior numero dei semi è maturo e le foglie sono in avanzato stato di senescenza. Visto che la fioritura, e di conseguenza anche la maturazione, sono scalari, sulla pianta avremo contemporaneamente semi verdi e granella già matura. La raccolta si effettua quando la maggior parte delle piante è giunta a maturazione. Le rese in seme oscillano tra le 0.5 e le 2 t/ha in funzione della zona, della varietà coltivata, della densità di semina e delle pratiche agronomiche utilizzate durante il ciclo produttivo.

Tecniche colturali

Per la coltivazione del grano saraceno il letto di semina deve essere preparato in modo tale da conservare l'umidità del suolo e allo stesso tempo controllare, per quanto possibile, le piante infestanti che vanno gestite cercando di sfruttare al meglio le operazioni agronomiche ed evitando per quanto possibile l'uso di prodotti diserbanti. Per la coltivazione di questa pianta si può ricorrere a diverse lavorazioni del terreno per la preparazione del letto di semina. La prima opzione è quella di procedere con le lavorazioni tradizionali del terreno optando per un'aratura del terreno a profondità variabile in base al tipo di terreno ma comunque di circa 25-30 cm. Questa permette una facile penetrazione dell'acqua, l'interramento dei residui, dei fertilizzanti minerali dotati di scarsa mobilità, dei fertilizzanti organici, un controllo degli insetti dannosi portando in superficie le forme svernanti che si trovano in profondità. Nei terreni argillosi l'aratura deve essere effettuata su terreno in tempera (terreno che possiede un grado di umidità tale da presentare le migliori condizioni per essere lavorato, in generale con un contenuto idrico pari al 40-50% della sua capacità idrica) possibilmente prima dell'inverno. In terreni più leggeri e sabbiosi queste operazioni possono essere svolte verso la fine dell'inverno o al massimo un paio di mesi prima della semina. All'aratura seguono le lavorazioni di preparazione del letto di semina, variabili anche queste in base al tipo di terreno. Le lavorazioni principalmente usate sono una erpicatura leggera seguita da un pareggiamento del terreno. La loro funzione può essere quella di rompere le zolle, livellare il terreno, sminuzzare la crosta o i residui

superficiali per rendere il terreno più soffice. Tali lavorazioni devono essere eseguite possibilmente un mese prima della semina per rendere uniforme l'umidità dello strato superficiale e garantire quindi una migliore emergenza della coltura.

Le lavorazioni tradizionali sono poco utilizzate perché spesso questa coltura viene usata in successione ad un cereale vernino e in questa situazione si preferisce procedere con un con minimum tillage, ovvero una lavorazione minima del terreno. Questa tecnica colturale consiste nella preparazione del letto di semina tramite un lavoro di sminuzzamento superficiale del terreno, realizzato solitamente con un unico passaggio di erpice.

Si può ricorrere alla tecnica di zero tillage, ovvero la semina su sodo se il grano saraceno viene utilizzato come coltura di successione ad un cereale vernino. Questa tecnica consiste in una rapida semina dopo il raccolto del cereale vernino e può avvantaggiare il controllo delle erbe infestanti in quanto l'emergenza del grano saraceno avviene di norma dopo 4-5 giorni.

L'applicazione delle tecniche di minima lavorazione o non lavorazione consente di avere risultati favorevoli in terreni leggeri come nei terreni sabbiosi e limosi, mentre le tecniche tradizionali risultano ancora le più valide nei terreni più pesanti come quelli argillosi. Infatti, in questi terreni (argillosi o comunque pesanti) la minima o nulla lavorazione potrebbe avere effetti negativi sulle capacità di percolamento, con aumento di danni da ristagno alla pianta.

La semina va effettuata ad una profondità di 2-3 cm a righe, utilizzando una densità di 35-40 kg/ha con seminatrice meccanica, o se si usa la tecnica della semina a spaglio con una dose di seme di 80-150 kg/ha. Un aumento della densità di semina è generalmente utilizzato per promuovere una veloce formazione delle foglie e quindi un miglior controllo delle infestanti, potenziato anche grazie ad un buon effetto allelopatico (rilascio di metaboliti secondari prodotti da una pianta per inibire la crescita delle concorrenti all'interno di quell'agroecosistema) che il grano saraceno possiede. Dei buoni risultati sono stati ottenuti anche da una ricerca condotta da Borghi che con un'alta densità di semina effettuata in Valtellina ha ottenuto delle buone rese, fino a 1,1 t/ha (Borghi, 1995). Per quanto concerne la concimazione si deve considerare che una produzione di 2 t/ha di granella comporta asportazioni di 40 kg di azoto (N), 20 kg di anidride fosforica (P_2O_5) e 30 kg di ossido di potassio (K_2O) e nella fertilizzazione una maggiorazione del 20-30 % in più, secondo il principio della restituzione delle quantità asportate. In terreni fertili è opportuno ridurre le dosi di azoto, in quanto gli eccessi provocano allettamenti più o meno intensi (Remigio Baldoni, Luigi Giardini (2000) Coltivazioni erbacee. Cereali e proteaginose).

Specie coltivate

Ad oggi nel mondo sono principalmente diffuse due specie di grano saraceno, una è *Fagopyrum esculentum*, l'altra è *Fagopyrum tataricum*. La prima è coltivata principalmente in Europa mentre la seconda è più comune in Asia, anche se sono presenti entrambe le specie lungo tutto l'areale di coltivazione. Le due specie hanno origini diverse, infatti gli studi disponibili ad oggi hanno dimostrato che non hanno un antenato comune ma che provengono da due linee genetiche diverse. Le due specie differiscono anche per altre caratteristiche, il *F. tataricum*, a differenza del *F. esculentum*, ha delle infiorescenze composte da piccoli fiori con sepali giallo-verdastri poco appariscenti e che non sembrano essere attrattivi per gli insetti, mentre *F. esculentum* ha dei fiori color bianco, biancorosato o rosa.

Altra differenza tra le due specie è il frutto che producono, un achenio di forma tetraedrica con tre scanalature, con il pericarpo che si spacca tra gli angoli quando raggiunge la maturità. Le caratteristiche della forma e della dimensione dell'achenio differiscono molto tra le varie cultivar ed ecotipi presenti (Clayton Garnet Campbell 1997).



Figura 5. Grano saraceno comune *F. esculentum*



Figura 6. Grano saraceno tatarico *F. tataricum*

Produzione e utilizzo

Attualmente nel mondo sono prodotte 3.827.748 tonnellate di grano saraceno per una superficie coltivata di 3.940.526 ha (Fonte dati Faostat, 2017), con una media complessiva di 0.97 t/ha.

I cinque maggiori produttori di grano saraceno al mondo sono:

- 1) Russia, 1.524.280 tonnellate su una superficie di 1.497.783 ha, con media di circa 1 t/ha
- 2) Cina, 1.447.292 tonnellate su una superficie di 1.683.615 ha, con media di circa 0,9 t/ha
- 3) Ucraina, 180.440 tonnellate su una superficie di 185.300 ha, con media di circa 1 t/ha
- 4) Francia, 127.406 tonnellate su una superficie di 34.860 ha, con media di circa 3.65 t/ha
- 5) Kazakistan, 120.379 tonnellate su una superficie di 141.424 ha, con media di circa 0,8 t/ha

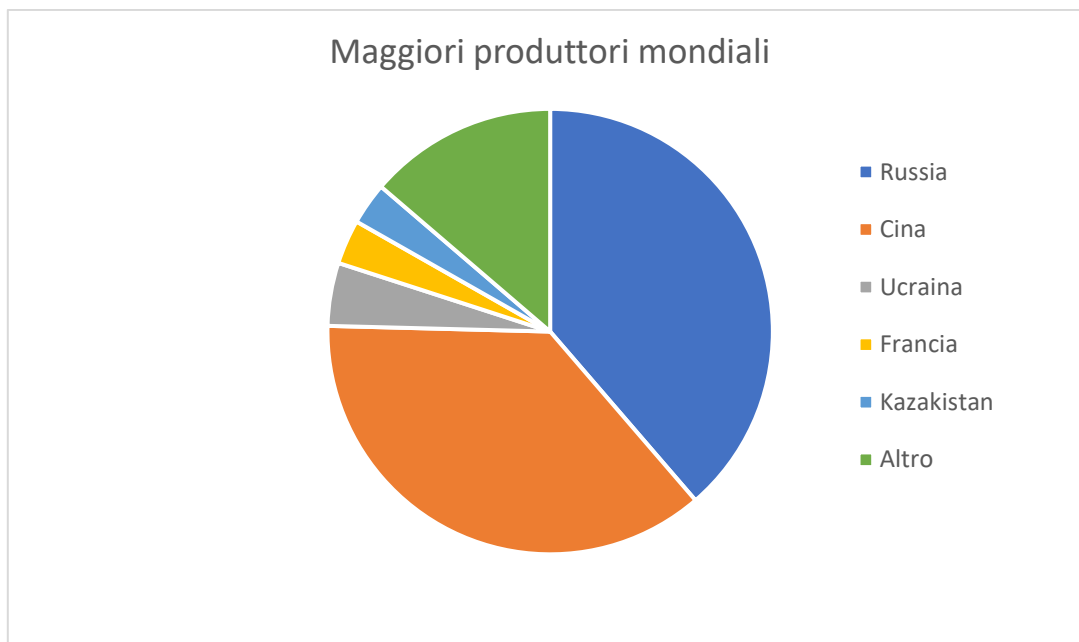


Grafico 1. Principali produttori di grano saraceno per nazione

Per quello che riguarda l'Italia al momento il numero di ettari coltivati con piante di grano saraceno non è registrato dai principali istituti italiani, europei e mondiali. In base a una stima di AgroNotizie, emerge però che la produzione italiana sia di circa 300 tonnellate per una superficie di circa 300 ettari, con una produzione media di 1 t/ha. La maggior parte della superficie coltivata si localizza al nord, e in particolare nelle provincie di Bolzano e Sondrio, anche se è possibile trovarlo coltivato in superfici minori nella provincia di Trento e in alcune zone dell'appennino, come ad esempio nelle zone della Garfagnana (Toscana) e della montagna umbra ad altezze superiori agli 800 metri s.l.m.

La produzione italiana non è sufficiente a coprire il consumo crescente del grano saraceno e la maggior parte di questo pseudocereale viene importato dall'estero, in particolare da Cina e Polonia. La raccolta di questo pseudocereale viene svolta con l'ausilio di una mietitrebbia da frumento. La raccolta comincia quando la maggior parte delle piante sono giunte a maturazione, e si può svolgere secondo due modalità. La prima prevede la raccolta della granella ancora fresca, con un'umidità del 43% e una successiva essiccazione di questa in essiccatoio. La seconda prevede lo sfalcio delle piante in campo 15 giorni prima della raccolta così da far essiccare la granella in campo e poi, dopo aver raggiunto l'umidità corretta si procede con la raccolta.

La maggior parte della granella prodotta da questa coltura viene trasformata in farina, la forma nella quale è più utilizzata per il consumo alimentare. La granella di grano saraceno sottoposta a molitura ha una resa del 76% quindi, per 100 kg di grano saraceno avremo 76 kg di farina e 12 kg di crusca (Quaderno della Regione Piemonte Agricoltura n. 12 – luglio 1998), il rimanente 12% è scarto di lavorazione. La farina ottenuta, dal caratteristico colore grigio in quanto presenti parti di lolla, trova impiego nell'alimentazione umana, in genere miscelata con altre farine come mais o frumento, per la preparazione di polenta, pizzoccheri, dolciumi, frittelle e altri prodotti. Si stanno diffondendo anche prodotti come il grano saraceno decorticato per la preparazione di minestre o i fiocchi ottenuti dallo schiacciamento della granella. La maggior parte della farina viene ottenuta dal grano saraceno comune (*F. esculentum*), mentre la farina derivante dal grano tartarico (*F. tataricum*) non è molto diffusa in Italia in quanto il suo caratteristico sapore amarognolo non è molto gradito al consumatore. La sua coltivazione, quindi non viene effettuata su larga scala o, come da alcuni coltivatori valtellinesi, considerato un infestante del grano saraceno comune.

Il grano saraceno è anche usato come fonte di nettare per la produzione di miele, che si presenta di colore scuro e dal gusto deciso. Anticamente tale prodotto, era più diffuso anticamente per la maggior presenza di *F. esculentum* rispetto ai giorni nostri, ormai è considerato di nicchia. Per facilitare l'impollinazione dei fiori e quindi aumentare la resa in granella si consiglia di posizionare 2,5 alveari per ettaro, che daranno 175 kg di miele in una stagione (Clayton Garnet Campbell 1997).

Un altro impiego di questa pianta è quello di utilizzarlo come coltura da sovescio verde in terreni poco fertili grazie al suo ciclo breve e alla capacità di produrre in poco tempo un'abbondante biomassa. Inoltre, interrando la pianta in fase di prefioritura si decompone rapidamente fornendo al terreno azoto e componenti minerali utili per la coltura successiva, migliorando allo stesso tempo la struttura del suolo e la sua capacità di campo.

Il grano saraceno si presta bene anche per l'alimentazione del bestiame, come granella, farina, foraggio fresco o fieno, e risulta molto produttivo per l'allevamento del pollame.

Va tuttavia menzionato che un'alimentazione prolungata a base di grano saraceno, sia per gli uomini che per gli animali, può provocare una malattia chiamata "fagopirismo", la quale consiste in una fotosensibilizzazione delle zone depigmentate della pelle e si manifesta con eritema cutaneo. Un altro problema che può dare il suo utilizzo è una reazione allergica causata dall'ingestione di grano saraceno o dall'esposizione alla sua polvere. I sintomi di ipersensibilità si manifestano con asma, attacchi asmatici, orticaria e disordini gastrointestinali.

Caratteristiche nutrizionali

Per molti anni la coltivazione del grano saraceno è stata in declino in Italia per svariati motivi, tra i quali, il fatto di essere un alimento consumato principalmente dalle fasce più povere della popolazione. Con lo sviluppo economico del XX secolo quindi ne è stata abbandonato l'uso in cambio di un maggiore consumo di cereali considerati più "pregiati" come il grano duro e il grano tenero. Recentemente questa coltura è stata rivalutata perché i suoi chicchi contengono numerosi composti molto importanti dal punto di vista nutrizionale (Li e Howard Zhang, 2001), oltre a contenere un maggiore quantitativo di proteine e grassi rispetto al grano tenero. Quindi l'interesse del mercato è aumentato nei confronti dei prodotti a base di grano saraceno. Questo ha spinto ad aumentare sensibilmente la sua produzione in Italia.

Infatti, il grano saraceno contiene una varietà di componenti nutrizionali, tra cui i principali sono:

- proteine ad alto valore biologico ed assenza totale di glutine che lo rende adatto alla produzione di alimenti per celiaci
- carboidrati con basso indice glicemico
- alto contenuto di vitamine, specialmente del gruppo delle vitamine B
- buon contenuto di polifenoli, specialmente di rutina
- buon contenuto di diversi microelementi, come ad esempio il potassio (K), il ferro (Fe) e il magnesio (Mg)

Il loro contenuto totale dipende principalmente dalla varietà utilizzata ed è influenzata da fattori ambientali e colturali.

Inoltre, a differenza dei cereali, il grano saraceno non ha particolari requisiti qualitativi dal punto di vista merceologico. I parametri che possono essere menzionati per la vendita di questo prodotto sono:

- contenuto di umidità < 14,0%
- peso ettolitrico > 60 kg/hL
- impurità < 3%
- livelli di contaminanti (ad esempio cadmio), micotossine e residui di pesticidi inferiori ai limiti di legge.

Carboidrati

Il grano saraceno ha una percentuale totale di carboidrati che varia tra il 67% e il 72% calcolato sulla granella umida (contenuto di acqua di circa il 13-14%), mentre sulla granella completamente essiccata (acqua <1%) il contenuto aumenta fino a circa l'80%. L'amido rappresenta circa l'85% dei carboidrati totali, mentre il rimanente 15% è costituito da circa il 10-13% di fibra e la rimanente parte sono zuccheri liberi e altre tipologie di carboidrati, come ad esempio glucani e pectine. Il contenuto di carboidrati totali e delle sue componenti può variare in base alla specie presa in considerazione. Può inoltre variare in base alla cultivar e anche al metodo di analisi utilizzato (Bonafaccia et al., 2003).

Amido

L'amido è la principale riserva alimentare delle piante e costituisce la maggior parte dei carboidrati presenti nel grano saraceno. È composto da una miscela di due polisaccaridi, il più piccolo dei due, l'amilosio, è essenzialmente un polimero lineare composto da unità di α -D-glucosio solitamente da 300 a 3000 collegate da un legame α -1,4. L'altro polisaccaride, il più grande, è l'amilopectina, che è un polimero del glucosio, altamente ramificato, presente nelle piante ed è costituito da monomeri di α -D-glucosio legate in modo lineare tra loro per mezzo di legami di tipo α -1,4. Le ramificazioni avvengono con legami di tipo α -1,6, ogni 24-30 unità di glucosio. Nell'amilopectina, il numero di molecole di glucosio presenti può variare da 2.000 a 200.000. Normalmente il più presente all'interno dell'amido è l'amilopectina che rappresenta circa l'80% del peso dell'amido. Questi polimeri si trovano naturalmente in piccole strutture note come granuli di amido. Molte delle proprietà chimiche dell'amido dipendono dalla sua struttura granulare.

La farina di grano saraceno ha un contenuto di amido del 65% sul peso totale, ed è il carboidrato maggiormente presente in quanto corrisponde all'85% del totale, con delle fluttuazioni dovute alle condizioni climatiche ed agronomiche. La farina di grano saraceno risulta avere un contenuto di amilosio di circa il 25% (variabile tra il 20% e il 30%), leggermente superiore rispetto alle farine ottenute da cereali che ne contengono circa il 20%. Un'altra particolarità dell'amilosio nel grano saraceno è la presenza di complessi amilosio-lipidici suggerita dall'affinità dello iodio aumenta quando gli amidi di grano saraceno vengono sgrassati (Yoshimoto et al., 2004).

(Yoshimoto et al., 2004) ha anche determinato una grande differenza tra il contenuto effettivo di amilosio (15,6–17,9%) e il contenuto apparente di amilosio (25,5–26,5%). Questa differenza indica la presenza di una grande quantità di amilopectine a catena più lunga che tendono a complessarsi con lo iodio. La presenza di molecole ramificate a catena lunga è stata confermata da (Huber & Praznik, 1996) e (Noda et al., 1992).

La formazione di questi complessi amilosio-lipidici potrebbe portare alla limitazione del potere di rigonfiamento e della solubilità (Qian et al., 1998). Nonostante la possibile limitazione la capacità di legare l'acqua dell'amido di grano saraceno è del 109,9%, superiore a quella dell'amido di grano e mais. Questo valore elevato può essere spiegato dalle piccole dimensioni (e quindi da una maggiore superficie) dei granuli di amido di grano saraceno (Qian et al., 1998). Le dimensioni dei granuli di amido di grano saraceno sono di 2,9-9,3 μm con una dimensione media di 5,8 μm e sono di forma rotonda o poligonale (Qian e Kuhn, 1999). L'aspetto di un granulo di amido di grano saraceno è liscio con pochi pori, probabilmente causato da un attacco enzimatico (Qian e Kuhn, 1999). A causa della presenza di pori e della piccola dimensione dei granuli di amido, l'amido di grano saraceno è più suscettibile all' α -amilasi rispetto all'amido di mais e di frumento (Qian et al., 1998). In generale, si può affermare che l'amido di grano saraceno possiede le sue caratteristiche uniche; alcune proprietà corrispondono agli amidi di tuberi (alti valori di viscosità) e altre corrispondono maggiormente agli amidi di cereali (forma e composizione).

L'amido può essere suddiviso in tre gruppi a seconda della velocità e del grado di digestione in vitro:

- amido rapidamente digeribile (RDS), prevalente negli alimenti appena cotti, viene idrolizzato rapidamente e completamente nell'intestino tenue ed è associato a livelli elevati e instabili di glucosio nel sangue.
- amido lentamente digeribile (SDS) presente nei cereali crudi ma anche in quelli cotti in quantità variabile e in quantità inferiore a quello RDS, viene digerito completamente, ma con lentezza.
- amido resistente (RS) alla digestione, viene metabolizzato dalla flora batterica nel colon e può ancora essere suddiviso in tre gruppi: amido fisicamente inaccessibile, amido granulare nativo e amido retrogradato (Englyst et al., 1992). L'amido non digerito può determinare effetti nutrizionali positivi simili agli effetti osservati con le fibre (Skrabanja & Kreft, 1998). Nelle semole di grano saraceno crudo con un contenuto totale di amido del 73,5%, il 33,5% era RS (Skrabanja & Kreft, 1998). Pertanto, il grano saraceno è suggerito quando si progettano

alimenti a basso indice glicemico. Gli alimenti a basso indice glicemico sono importanti per migliorare il controllo del diabete e possono essere classificati in base al loro potenziale di aumento della glicemia (indice glicemico) (Jenkins et al., 1981). Gli alimenti con livelli più elevati di amido resistente di solito hanno un IG basso. Rispetto al pane di grano bianco (100 IG), è stato registrato un 61,2 IG nei chicchi di grano saraceno bolliti e un 66,2 IG nel pane di grano saraceno cotto con il 50% di semole di grano saraceno (Skrabanja et al., 2001). L'estratto di farina di grano saraceno inoltre contiene composti come tannini, acido fitico e inibitori proteici che possono agire contro l'amilasi della saliva umana (S. Ikeda & Yamashita, 1994); (Skrabanja et al., 2001) e influenzare il livello di amido digeribile.

Fibra

La fibra alimentare è una componente degli alimenti derivata dalle piante, non digeribile dallo stomaco e dall'intestino tenue dell'uomo. È invece parzialmente digeribile dal colon. La sua presenza nella dieta è fondamentale per la salute. La fibra alimentare (DF) è inoltre stata menzionata in molti studi come potenzialmente protettiva contro alcune malattie (Roberfroid et al., 1993). La DF può essere suddivisa in fibra insolubile (IDF) e fibra solubile (SDF). L'IDF generalmente include lignina e cellulosa, mentre l'SDF include pectina e gomme (Roberfroid et al., 1993); (Steadman et al., 2001). La SDF può contribuire positivamente alla salute umana riducendo i livelli di colesterolo nel sangue (Roberfroid et al., 1993) e pertanto può fungere da prebiotico. La DF può però anche avere un ruolo negativo in quanto può legare proteine e minerali, inibire gli enzimi digestivi e quindi ridurre la digeribilità o l'assorbimento dei nutrienti (K. Ikeda & Kusano, 1983); (Steadman et al., 2001), (Bonafaccia et al., 2003) hanno riportato un DF del 27% nei semi di grano saraceno. Il DF è presente principalmente nelle crusche del grano saraceno, il che spiega la percentuale di DF molto inferiore al 7% nell'endosperma dei chicchi di grano saraceno (Steadman et al., 2001); (Bonafaccia et al., 2003).

Zuccheri semplici

Gli zuccheri liberi sono la classe più semplice dei glucidi. Si possono rappresentare principalmente in tre categorie:

- monosaccaridi, sono la forma più semplice di carboidrato, monomeri che legandosi tra loro tramite legami glicosidici danno origine ai carboidrati più complessi (es. l'amido è una catena di monomeri di glucosio. Sono classificati a seconda del tipo di gruppo carbonilico (aldeidico o chetonico) e dal numero di atomi di carbonio contenuti nella molecola, che possono variare da 2 a 7.
- disaccaridi, si formano quando due monosaccaridi condensano tra loro sono. I disaccaridi sono la classe più semplice ed importante degli oligosaccaridi.
- oligosaccaridi formati dall'unione di tre o più monosaccaridi.

All'interno della farina di grano saraceno si può trovare una piccola percentuale di zuccheri semplici che varia tra 0,5 e 1% è dovuta alla presenza di enzimi come le amilasi e le maltasi che idrolizzano l'amido principalmente in monosaccaridi e disaccaridi. Questa attività enzimatica è necessaria nel momento della germinazione del seme rifornendo l'embrione di zuccheri semplici garantendo la crescita e lo sviluppo. È possibile trovarne una piccola quantità all'interno della farina perché questi enzimi lavorano in presenza di acqua e quindi durante la fase di essiccamento della granella continuano la loro attività liberando, nel caso del grano saraceno, principalmente maltosio (disaccaride formato da due unità di glucosio legate da un legame α -1,4).

Proteine

Il contenuto proteico dei chicchi di grano saraceno riscontrato in letteratura varia dal 12% al 18,9% anche secondo la presenza della crusca: se la crusca è assente il contenuto proteico sarà inferiore. Il contenuto proteico della farina è mediamente del 13,7% in base alle parti che vengono utilizzate per la sua produzione (con o senza crusca). Il contenuto di proteina nella farina può variare dall'8,5% a quasi il 19%. Il tenore proteico varia anche a seconda della varietà, e dalle pratiche agronomiche utilizzate durante la coltivazione (specialmente i pesticidi e i fertilizzanti) che influenzano in maniera rilevante la concentrazione delle proteine nel grano saraceno (Fornal, 1999).

Le proteine del grano saraceno hanno un alto valore biologico e risultano essere un'eccezione tra le proteine di origine vegetale (Eggum et al., 1981), ma la loro digeribilità è piuttosto bassa. L'alto valore biologico è dovuto alla composizione amminoacidica molto ricca in aminoacidi essenziali. Inoltre, non contengono glutine come gli altri cereali e i prodotti a base di grano saraceno possono essere impiegati dalle persone celiache.

Le principali frazioni proteiche dei cereali sono albumine e globuline idrosolubili e solubili in sale che rappresentano quasi la metà di tutto il grano saraceno proteine. Le globuline sono costituite da 12-13 subunità con pesi molecolari da 16 kDa a 66 kDa (Krkošková & Mrázová, 2005). La principale proteina di riserva dei chicchi di grano saraceno è la globulina 13S (Aubrecht & Biacs, 2005); (Li & Howard Zhang, 2001). Queste proteine possiedono una struttura esametrica molto simile a quella che si trova nelle proteine delle leguminose (Aubrecht & Biacs, 2005).

Le globuline rappresentano quasi la metà del contenuto proteico totale, mentre il contenuto medio di albumina è del 21%, (con picchi che possono raggiungere il 30-33%) (Bharali & Chrungoo, 2003).

Le prolamine presenti nel grano saraceno hanno caratteristiche diverse rispetto alle prolamine di frumento, orzo e segale, infatti, in questi cereali le prolamine sono note con il nome di gliadine e glutenine (proteine del glutine). Il grano saraceno è caratterizzato dall'assenza di questa tipologia di prolamine e fa sì che possa essere utilizzato nella profilassi delle malattie gastrointestinali come la celiachia. Inoltre, il grano saraceno può costituire una preziosa fonte di proteine alimentari ad alto contenuto di aminoacidi essenziali, che può essere importante per persone che presentano carenza di proteine nella dieta.

Sono state inoltre identificate le proteine (TBP) leganti la tiamina (vitamina B1) fungono da trasportatori vitaminici nella pianta e possono stabilizzare le vitamine durante l'elaborazione

tecnologica dei prodotti a base di grano saraceno. Possono anche migliorare la stabilità della tiamina durante lo stoccaggio così come la sua biodisponibilità. (Mitsunaga et al., 1996) fu il primo a isolare le proteine leganti la tiamina (TBP) dai chicchi di grano saraceno. Queste proteine (TBP) possono essere utilizzate nei casi di carenza di tiamina e difficoltà nella sua conservazione.

Si osserva inoltre una crescente incidenza di manifestazioni o sintomi di allergia nelle persone che consumare prodotti alimentari contenenti grano saraceno spesso e in quantità elevate. Il motivo principale per tali disturbi immunologici sono le proteine a basso peso molecolare in particolare quelle con peso molecolare pesi di 15, 22 o 26 kDa (Handoyo et al., 2006).

Aminoacidi

Le proteine del grano saraceno sono ricche di arginina e lisina, gli amminoacidi primari che limitano il contenuto di proteine nei cereali, mentre il contenuto di metionina e treonina nelle proteine del grano saraceno sono bassi.

Il grano saraceno possiede una buona ed equilibrata composizione in amminoacidi e le sue proteine risultano di digeribilità relativamente bassa, fatto che può favorire l'abbassamento della concentrazione di colesterolo nel sangue (Costantini et al., 2014). L'assortimento degli amminoacidi presenti nelle due tipologie di grano saraceno è pressoché simile. In entrambi sono stati identificati 17 amminoacidi. Sono essenziali e devono essere assunti, poiché il corpo non è in grado di produrli (Insel et al., 2011). In confronto ai chicchi di cereali, la proteina del grano saraceno mostra un alto livello lisina (6,1% di 100 g di amminoacido recuperato). Inoltre, il grano saraceno contiene alti livelli di arginina (9,7%) e acido aspartico (11,3%) e bassi livelli di prolina (3,9%) e acido glutammico (18,6%), rispetto ai cereali (Pomeranz & Robbins, 1972). Risultati simili sono stati riportati da (Kreft et al., 2014). Un livello relativamente basso di prolina e acido glutammico può essere spiegato dal fatto che le prolamine, che sono ricche di prolina e glutamina, sono presenti in quantità molto basse nel grano saraceno (*Ikeda 1991.Pdf*, n.d.). La composizione aminoacidica era simile in tutte le parti del chicco di grano saraceno. L'unica differenza nella composizione aminoacidica del seme di grano saraceno è stata osservata nelle crusche di grano saraceno (Pomeranz & Robbins, 1972).

Oltre agli effetti ipocolesterolemici, i prodotti proteici di grano saraceno sono inoltre riconosciuti come alimenti di prevenzione, in quanto sono associati alla soppressione della carcinogenesi del colon, riducendo la proliferazione cellulare, e l'oncogenesi mammaria, abbassando l'estradiolo.

Numerosi studi hanno inoltre provato che l'utilizzo di estratti proteici del grano saraceno per la produzione di nutrienti potenzialmente funzionali ha effetti positivi sull'ipertensione, l'obesità, l'alcolismo e la costipazione (Christa & Soral-Śmietana, 2008).

Lipidi

In generale, i lipidi costituiscono una piccola parte dei cereali e degli pseudocereali, ma hanno un importante ruolo fisiologico (Chapkin, 2000) e sulla qualità delle farine. Possono andare incontro all'irrancidimento ossidativo e possono causare il deterioramento dei semi o delle farine. Nei semi di grano saraceno troviamo un contenuto di lipidi che va dall'1,5 al 4%, con una presenza maggiore di acidi grassi insaturi, che può arrivare fino all'80% e con il 40% di acidi grassi polinsaturi (Christa & Soral-Śmietana, 2008). Nel grano saraceno i lipidi sono concentrati nell'embrione che ne contiene in media il 6,5%, mentre l'endosperma ne contiene meno dello 0,4% (Dorrell, 1971). Nella farina di grano saraceno l'embrione è generalmente incluso, quindi la farina presenta una quantità rilevante di grassi e il rischio di deterioramento da parte dei lipidi è particolarmente importante (Taira & Chang, 1986). Generalmente, il livello di lipidi nel grano saraceno può variare a seconda della cultivar e a seconda della semina e delle pratiche agronomiche. Il grano saraceno detiene anche un'attività lipasica, maggiormente localizzata nell'embrione.

Acidi grassi

Nel grano saraceno sono stati identificati diciotto differenti acidi grassi, di cui 14 compaiono in tutti i tessuti del seme. Gli otto acidi principali (miristico, palmitico, stearico, oleico, linoleico, linolenico, arachico e beenico) rappresentano circa il 95% degli acidi grassi totali (Dorrell, 1971).

La composizione in acidi grassi del grano saraceno comune e tartarico è riportata nella Tabella.

ACIDO GRASSO	CONTENUTO %
Miristico (C14:0)	<0,5
Palmitico (C16:0)	15
Stearico (C18:0)	2
Oleico (C18:1)	34
Linoleico (C18:2)	38
Linolenico (C18:3)	3.5
Arachico (20:0)	2
Beenico (C22:0)	<0.5

Tabella 2. Composizione acidi grassi grano saraceno

L'embrione contiene la maggior parte degli acidi grassi insaturi, mentre la crusca ha un alto livello di acidi grassi saturi (Dorrell, 1971). Alcuni acidi grassi, acido linoleico e acido linolenico, sono polinsaturi e non possono essere prodotti dal corpo umano e sono considerati acidi grassi essenziali. Uno di questi acidi grassi essenziali (acido linoleico), è il principale acido grasso presente nel grano saraceno; il livello di acido linoleico è particolarmente elevato nel tegumento, la parte esterna del seme (Dorrell, 1971). Sono state riportate differenze nella quantità dei vari acidi grassi (Tsuzuki et al., 1987); (Jahaniaval et al., 2000); (Bonafaccia et al., 2003) che possono essere dovute alla varietà, ai luoghi di crescita e al tempo di semina (Tsuzuki et al., 1987).

Polifenoli

I polifenoli sono una famiglia composta da circa 5000 molecole che possono avere origine naturale, seminaturale o sintetica. Sono molecole largamente presenti nel regno vegetale e sono formati, come indica il nome, dalla polimerizzazione di più strutture fenoliche semplici come ad esempio il fenolo, il pirocatecolo e il resorcinolo. Questi si associano e vanno a formare strutture più o meno complesse generalmente di alto peso molecolare. Il numero e le caratteristiche di tali strutture fenoliche sottolineano le proprietà fisiche, chimiche, e biologiche di ogni molecola appartenente alla classe dei polifenoli. Questi composti sono il prodotto del metabolismo secondario delle piante e possono avere diverse funzioni per essa. Ad esempio possono essere utilizzati per la difesa dagli animali erbivori (impartiscono sapore sgradevole) e dai patogeni (fitoalessine), supporto meccanico (lignine) e di barriera contro l'invasione microbica, attrazione per gli impollinatori e per la dispersione del frutto (antocianine), inibitori di crescita delle piante in competizione.

I polifenoli vengono suddivisi in quattro classi:

- Acidi fenolici caratterizzati dalla presenza di un anello aromatico un gruppo carbossilico e possono essere suddivisi a loro volta in acidi idrossibenzoici e acidi idrossicinnamici. Tra questi ultimi si riconoscono gli acidi caffeico, ferulico, sinapico, cumarico, gallico e clorogenico.
- Flavonoidi, caratterizzati da una struttura chimica più complessa con due anelli aromatici legati tra loro da tre atomi di carbonio che formano un eterociclo ossigenato. A questa struttura si legano gruppi idrossilici (OH), metossilici (OCH₃) e zuccheri. In generale i flavonoidi in natura sono presenti nella forma glicosilata con zuccheri semplici quali per esempio ramnosio e glucosio mentre la molecola priva di zucchero è detta aglicone. La variazione strutturale degli anelli permette di classificare i flavonoidi in diverse famiglie quali flavoni, flavonoli, antocianidine, isoflavoni e flavani.
 - I flavonoli sono ampiamente diffusi nel regno vegetale e ne sono un esempio quercetina, kaempferolo, miricetina e isoramnetina.
 - I flavani sono costituiti dai monomeri di catechine e dai suoi polimeri che prendono il nome di proantocianidine e sono per lo più localizzate nella frutta e in piante legnose.
 - I flavoni, come per esempio agipenina e luteolina, sono presenti nel mondo vegetale nelle foglie, ma anche in radici, corteccia e fiori.

- Le antocianine, derivati glicosilati delle antocianidine, sono pigmenti che conferiscono alle piante il colore rosso, viola e rosa porpora. Sono esempi di antocianidine la delphinidina, la malvidina, la peonidina e la petunidina.
- Gli isoflavoni, chiamati anche fitoestrogeni, tra cui si riconoscono genisteina e daidzeina, sono presenti nei semi di soia e altri legumi come ceci, lenticchie e fave (Güneş Bayir et al., 2019).
- Stilbenoidi sono prodotti secondari che si formano nel durame degli alberi e che possono fungere da fitoalessine. Dal punto di vista chimico sono derivati idrossilati dello stilbene. In termini biochimici, appartengono alla famiglia dei fenilpropanoidi e condividono molte delle vie metaboliche con i calconi. Un esempio di stilbenoide è il resveratrolo.
- Lignani sono un vasto gruppo di polifenoli a basso peso molecolare (di cui fa parte anche la lignina) che si trovano nelle piante, in particolare nei semi, nei cereali integrali e nelle verdure. Il nome deriva dalla parola latina per "legno". I lignani sono precursori dei fitoestrogeni e possono svolgere un ruolo nella difesa di semi e piante contro gli erbivori.

I composti polifenolici sono noti per le loro numerose attività biologiche ma principalmente per i loro caratteri antiossidanti e pro-ossidanti. Il ruolo potenziale dei polifenoli nella prevenzione e/o nel trattamento di malattie croniche come quelle cardiovascolari, neurodegenerative e tumorali è estremamente importante (Zhou et al., 2016). I polifenoli, infatti, agiscono da antiossidanti di tipo esogeno con riduzione dei radicali e quindi proteggono cellule, tessuti e DNA dal danno ossidativo e le LDL (Low Density Lipoprotein) dalla perossidazione (Ferguson, 2001). Ai polifenoli è attribuito anche un effetto protettivo contro alcuni tipi di cancro determinato dalla loro attività pro-ossidante e quindi citotossica e inibitoria per la crescita cellulare. I polifenoli hanno anche un effetto protettivo sul sistema cardiovascolare attraverso la prevenzione dell'ossidazione delle LDL, l'aumento delle HDL e la riduzione di LDL e trigliceridi. Infine, è stato osservato che una dieta ricca di polifenoli riduce il rischio di sviluppare il diabete grazie alla regolazione positiva dell'insulina nei tessuti periferici.

Il grano saraceno contiene una componente polifenolica rilevante, di cui la maggior parte è rappresentata dai flavonoidi e in minor parte dalle proantocianidine (catechine), alcuni di questi componenti possiedono un'attività antiossidante. Per questo motivo il grano saraceno risulta particolarmente interessante rispetto ai cereali che non possiedono questa attività.

Dei flavonoidi che sono stati isolati la rutina risulta essere il predominante. Il suo contenuto dipende dalla cultivar e da fattori ecologici. Differenti parti della pianta ne contengono diverse concentrazioni:

nelle infiorescenze si accumula più del 12% del peso secco, negli steli lo 0,4-1,0% e nelle foglie distali l'8-10 % (Kreft et al., 2006). La rutina è un glucoside flavonoico, conosciuto per i suoi benefici effetti sulla salute come la riduzione della pressione sanguigna, l'abbassamento della concentrazione dello zucchero nel sangue, l'incremento dell'attività antiossidante (Cho et al., 2014), la diminuzione della fragilità dei capillari e della permeabilità dei vasi sanguigni, la riduzione del rischio di arteriosclerosi (Kreft et al., 2006). In considerazione del fatto che è assente nei cereali, il grano saraceno, che è la maggior fonte alimentare di rutina, sta ricevendo un'attenzione sempre maggiore come potenziale cibo funzionale. Nello specifico il *F. tataricum* ha quasi 100 volte il contenuto in rutina del *F. esculentum* e, tra i prodotti di molitura, la crusca ne possiede il quantitativo maggiore. Diversi studi riportano il contenuto di rutina nei prodotti alimentari di grano saraceno, dai quali è emerso che si riduce quanto la farina viene miscelata con acqua in quanto si innesca un processo di degradazione enzimatica che porta alla conversione della rutina in quercitina. Questo porta ad una diminuzione dell'attività antiossidante dovuta alla labilità al calore e alla degradazione ossidativa dei composti antiossidanti durante la cottura. (Brunori et al., 2009) indica che il fabbisogno giornaliero di rutina è di 0,5 g e dai 0,04 ai 0,10 g per, rispettivamente, una funzione curativa e di prevenzione, e dallo studio da loro condotto viene indicato che l'uso di farina di grano saraceno tartarico, dove il contenuto in rutina varia tra i 1.000 e i 2.000 mg/100 g peso secco, permette di raggiungere un quantitativo ideale con una bassa percentuale di questo ingrediente nella ricetta originale, non alterando pertanto l'accettabilità del prodotto arricchito.

Vitamine

Le vitamine sono un gruppo di composti organici essenziali in piccolissime quantità per il normale funzionamento del corpo umano e sono chiamate in questo modo perché l'organismo non è in grado di sintetizzarle in quantità sufficiente e pertanto deve ottenerlo attraverso l'alimentazione. Variano ampiamente nelle loro funzioni chimiche e fisiologiche e sono ampiamente distribuiti nelle fonti alimentari naturali. Esistono diverse tipologie di vitamine che si possono dividere in due classi distinte, le vitamine idrosolubili (B, C) e le vitamine liposolubili (A, D, E, K).

I chicchi di grano saraceno contengono livelli più elevati di vitamina B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (acido nicotinico e nicotinamide) e di vitamina E (tocoferolo) rispetto alla maggior parte dei cereali.

In generale, il grano saraceno tartaro ha più vitamina B1, B2 e B3, ma meno vitamina E rispetto al grano saraceno comune (Bonafaccia et al., 2003), (S. Ikeda et al., 2006).

I livelli di vitamina C e la somma di vitamina B1 e B6 possono essere aumentati facendo germinare il grano saraceno. Il livello di vitamina C è maggiore nei germogli di grano saraceno e può arrivare fino a 250 mg/100g (Lintschinger et al., 1997); (Kim et al., 2002).

I *tocoferoli* sono antiossidanti presenti in natura (Dietrych-Szostak & Oleszek, 1999) ed esistono in forma α -, β - γ - e δ - (Burton e Traber 1990). Le semole provenienti da grano saraceno presentano una quantità massima di 5,46 mg/100 g di tocoferoli. (Przybylski et al., 1998) hanno riportato l' α -tocoferolo come il principale tocoferolo nel grano saraceno. Differenze nelle forme del tocoferolo sono state attribuite a diverse cultivar di grano saraceno comune (Przybylski et al., 1998); (Zielinski et al., 2001). Il grano saraceno tartaro contiene livelli più elevati di tocoferoli rispetto al grano saraceno comune (Kim et al., 2002).

È noto, inoltre, che la tiamina (vitamina B1) si lega in maniera stabile alle proteine TBP, che ne migliorano la stabilità durante le lavorazioni tecnologiche e durante lo stoccaggio così ne garantiscono una maggiore biodisponibilità (Mitsunaga et al., 1996); (Rapala-Kozik et al., 1999).

Il contenuto vitaminico della farina di grano saraceno è mostrato nella Tabella.

Vitamina	Nome	Contenuto (mg/100g)
A	Retinolo	0.21
B1	Tiamina	0.46
B2	Riboflavina	0.14
B3	Acido nicotinico / Nicotinammide	1.80
B5	Acido pantotenico	1.05
B6	Piridossina	0.73
B8	Biotina	0.2
B9	Acido folico	Tracce
C	Acido ascorbico	5.00
E	Tocoferolo	5.46

Tabella 3. Contenuto vitaminico del grano saraceno

La crusca di *F. tataricum* è una preziosa materia prima in quanto contenente le vitamine B1, B2 e B6 in misura maggiore rispetto al grano saraceno comune e si indica che 100 g forniscano circa il 6% della dose terapeutica giornaliera di piridossina, efficace, assieme ad acido folico e vitamina B12, nella riduzione dei livelli di omocisteina nel plasma sanguigno e del tasso di restinosi dopo un'angioplastica coronarica (Bonafaccia et al., 2003).

Minerali

I minerali sono importanti per varie funzioni fisiologiche nel corpo umano. Il corpo umano richiede più di 100 mg al giorno di ogni minerale principale (Na, Mg, K, Ca, P, S e Cl) e meno di 100 mg al giorno di oligoelementi (Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo e I), (Insel et al., 2011).

La composizione minerale delle semole di grano saraceno è mostrata nella Tabella.

Elemento	Contenuto mg/100g
K (potassio)	565.00
P (fosforo)	490.00
Mg (magnesio)	267.00
Ca (calcio)	19.70
Fe (ferro)	3.03
Zn (zinco)	2.92
Mn (manganese)	1.64
Cu (rame)	0.70
Mo (molibdeno)	0.09
Co (cobalto)	0.01
Cr (cromo)	0.00
B (boro)	0.67
Al (alluminio)	0.36
Ni (nichel)	0.24
Cd (cadmio)	0.00

Tabella 4. Contenuto di minerali del grano saraceno

Sono state segnalate variazioni nella composizione minerale tra le diverse cultivar e luoghi di crescita (Ikeda e Yamashita, 1994); (Bonafaccia et al., 2003). Il grano saraceno è una fonte di minerali più ricca (ad eccezione di Ca) rispetto a molti cereali come riso, sorgo, miglio e mais. Il grano saraceno è ricco in potassio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca) e sodio (Na), ed è un'importante fonte nutrizionale di ferro (Fe), manganese (Mn) e zinco (Zn) (Mazza, 1988); (Steadman et al., 2001). La crusca dei grani saraceno risulta essere particolarmente ricca di elementi. Facendo un esempio: 50 g di crusca di *F. tataricum* fornirebbero metà dell'assunzione minima giornaliera raccomandata di zinco e cromo, solo il 5% di selenio, mentre per quanto riguarda il nickel ci si avvicina al livello giornaliero tollerato e per il mercurio si è molto sotto il limite superiore di tolleranza giornaliera (Bonafaccia et al., 2003).

Mg, Zn, K, P e Co sono immagazzinati principalmente come fitati all'interno delle proteine (Elpidina et al., 1991); (Steadman et al., 2001). L'acido fitico è talvolta considerato un "anti-nutriente" perché lega i minerali prima che possano essere assorbiti e possano interagire con gli enzimi digestivi. I fitati, inoltre, riducono anche la digeribilità degli amidi, delle proteine e dei grassi. D'altra parte, quando l'acido fitico lega minerali, previene la formazione di radicali liberi, rendendolo un antiossidante. Non solo, ma sembra legare metalli pesanti (es. cadmio, piombo) aiutandoli a prevenirne l'accumulo nel corpo. Infatti, l'acido fitico ha alcune ottime proprietà preventive, ad esempio, aiuta a combattere il cancro, le malattie cardiovascolari, i calcoli renali e l'insulino-resistenza.

Il grano saraceno contiene circa 10,0 mg/g di acido fitico, per ridurre la quantità di questo e migliorare la disponibilità dei minerali si può ricorrere a diversi sistemi che lo degradano. Le strategie che lo degradano maggiormente sono: consumare alimenti cotti in quanto il calore sembra distruggerlo parzialmente, tenere ammollo i chicchi di grano per una notte per idrolizzarlo parzialmente, aggiungere vitamina C per neutralizzarlo (in uno studio, 80 mg di acido ascorbico hanno neutralizzato 25 mg di acido fitico) oppure far germinare il seme in modo da attivare la fitasi (enzima che degrada l'acido fitico). Durante la germinazione, infatti, la fitina viene idrolizzata per liberare gli ioni metallici (Derek & Bradford, 1985). Minerali come Fe, Zn, Mn, Cu, Mo, Ni e Al sono principalmente localizzati sia nella crusca e nella parte di rivestimento del seme. Ca e B sono maggiormente presenti nelle frazioni di crusca del grano saraceno (Steadman et al., 2001); (Bonafaccia et al., 2003); (Skrabanja et al., 2004).

Scopo

Il progetto prevede di analizzare i profili chimico-nutrizionali delle farine di *Fagopyrum esculentum* provenienti dalla grande distribuzione (UE, extra UE), piccole aziende locali (Treviso e Parma) e autoconsumo (Val di Non - TN). A tale scopo sono state prese in considerazione 7 farine per osservare se il luogo di produzione e le pratiche colturali adottate influiscono in maniera significativa sulla qualità del prodotto.

Nello specifico è stato valutato il profilo nutrizionale, il contenuto di proteine totali, grassi e acidi grassi, e infine il contenuto di zuccheri liberi. Inoltre, sono stati valutati i micronutrienti quali le vitamine B e i polifenoli.

Materiali

Per valutare la differenza tra le diverse categorie di grano sono state prese in considerazione 7 diverse farine di cui due denominate come “artigianali”, due come “italiane” e tre denominate “commerciali”.

Categoria	Nome identificativo	Zona di produzione	Destinazione di produzione
Artigianali	AT	Tregiovo – Val di Non (TN)	Autoconsumo
	AS	Sarnonico Val di Non (TN)	
Italiani	MF	Molino Favrin (TV)	Prodotte e macinate da aziende locali per essere vendute in mercati nazionali
	MG	Azienda agricola Grossi Claudio – Lesignano (PR)	
Commerciali	Almaverde integrale “CA”	Origine UE	Prodotte in paesi UE e extra UE, macinate e messe sul mercato dalla GDO
	Molino Bertolo”CB”	Origine UE	
	Ruggeri “CR”	Paesi extra-UE	

Tabella 5. Nome, provenienza e descrizione dei campioni utilizzati per le analisi

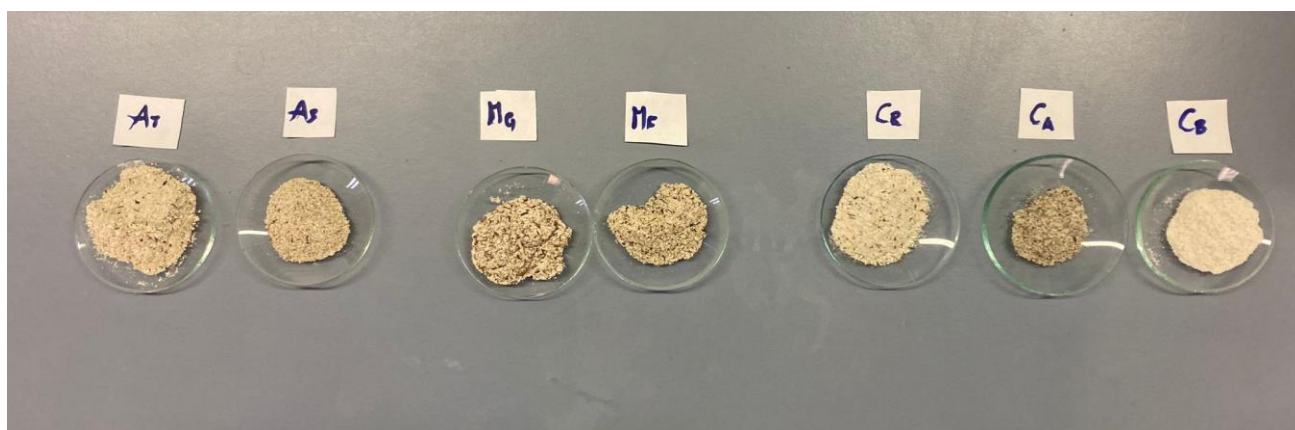


Figura 7. Campioni di grano saraceno utilizzati per le analisi

Le analisi sono state svolte all'interno del Laboratorio di prodotti naturali del Dipartimento di Scienze del Farmaco dell'Università degli studi di Padova sotto la supervisione del Professor. Stefano Dall'Acqua.

I solventi di grado HPLC utilizzati per le estrazioni e separazioni cromatografiche sono stati forniti da Sigma – Aldrich (Milano, Italia). Sono stati utilizzati metanolo, esano, dietiletere, diclorometano, acido solforico. L'acqua di diluizione è stata ottenuta dall'impianto di deionizzazione del dipartimento. L'acqua purificata è stata ottenuta con sistema Milli-Q Plus185 Millipore (Milford, MA, USA). Sodio solfato, metil pentadecanoato, fruttosio, glucosio, xilosio, galattosio, arabinosio, acido citrico, rutina sono stati acquistati da Sigma Aldrich (Milano, Italia).

Metodi

Analisi del contenuto proteico totale

Le analisi sono state svolte utilizzando un analizzatore elementare varioMICRO CHNS Elementar v 4.0.10 Analysensysteme GmbH, mentre le pesate sono state effettuate con una bilancia Ultra Analytical Balance Sartorius Cubis MSA 6.6S-000-DM.

Il contenuto della proteina totale è stato svolto mediante il metodo Dumas a seguito della determinazione dell'azoto con l'analisi elementare. Il valore di azoto è ottenuto mediante l'applicazione del fattore di correzione 6.5, secondo quanto indicato in letteratura da (Wijngaard & Arendt, 2006).

Analisi delle vitamine b totali e delle singole vitamine B

Preparazione del campione

Per la determinazione delle vitamine B è stato utilizzato il metodo riportato da (Motta et al., 2017) con piccole modifiche. Sono stati pesati circa 100 mg per ogni farina. La farina viene poi messa in un tubo eppendorf da 2 mL e viene aggiunto 1,5 mL di tampone (fosfato 50 mM, acido ascorbico 0,5%). I tubi vengono poi messi nel bagnetto termostato a 100°C per 10 minuti. Dopo 10 minuti, i tubi vengono raffreddati in ghiaccio e vengono aggiunti 20 µL di soluzione di α -amilasi (40 mg/mL). I tubi sono incubati nel bagno termostato a 37°C per 60 minuti. Dopo l'aggiunta di 15 µL di una soluzione di proteasi (2 mg/mL) i campioni sono lasciati per una notte a 37°C. Per eliminare l'attività enzimatica i campioni vengono riscaldati a 100°C per 10 minuti e poi raffreddati in ghiaccio. In seguito, vengono aggiunti 30 µL di siero di ratto (il siero di ratto è la frazione liquida del sangue intero che viene raccolto dopo che il sangue è stato lasciato coagulare) e il tutto è lasciato nel bagno termostato a incubare per 4 ore. I campioni vengono poi riportati a 100°C per 10 minuti e raffreddati nel ghiaccio. Dopo averli raffreddati dalle soluzioni centrifugate viene prelevato il surnatante per l'analisi. Per ogni campione viene realizzato un duplicato.

Analisi in LC-MS

Per l'analisi in LC-MS è stato usato un HPLC Waters E2695 con autocampionatore e colonna termostata accoppiato a uno spettrometro di massa Varian MS-320 con sorgente ESI in modalità di ionizzazione in positivo. Come fase stazionaria viene usata una colonna Agilent Eclipse C8 (3 mm * 150 mm, 3.5 µm) e una fase mobile a gradiente costituita da acqua 1% acido formico (A) e metanolo (B) al flusso di 0.35 mL/min. Il gradiente utilizzato è riportato in tabella:

TEMPO (min)	A (%)	B (%)
0-2	95	5
8-10	5	95
10.5-13	95	5

Tabella 6. Gradiente utilizzato per le analisi delle vitamine B

Transizioni utilizzate per la lettura delle vitamine in massa:

VITAMINA	TRANSIZIONE <i>m/z</i>
B1 Tiamina	265>122
B2 Riboflavina	377>242
B3 Acido Nicotinico	124>80
B3 Nicotinammide	123>80
B5 Acido pantotenico	170>152
B6 Piridossina	220>90
B8 Biotina	245>227
B9 Acido folico	442.2>295

Tabella 7. Transizioni utilizzate allo spettrometro di massa per il riconoscimento delle singole vitamine

Parametri dello spettrometro di massa:

- Capillary voltage: 35 V
- Needle voltage: 5750 V
- Shield voltage: 600 V
- Collision energy: 35 V
- CID gas pressure: 1,8 mTorr
- Nebulizing gas pressure: 20 psi

Analisi dei polifenoli

Preparazione del campione

Per la determinazione dei polifenoli vengono pesati circa 500 mg di prodotto ed estratti con 10 mL di una soluzione di metanolo acqua in rapporto 1:1. I campioni sono estratti in bagno ad ultrasuoni per 10 minuti. L'estratto è stato filtrato e il residuo riestratto con altri 10 mL di metanolo acqua in rapporto 1:1 in bagno ad ultrasuoni per 10 minuti. Gli estratti sono stati raggruppati e portati a 25 mL. Le analisi sono state condotte in triplicato.

Per l'analisi qualitativa e identificazione degli analiti sono stati pesati circa 500 mg per ogni campione ed estratti con una doppia estrazione con 10 mL in bagno ad ultrasuoni. L'estratto è portato a secco con rotavapor e poi ripreso con 3 mL di metanolo. I campioni vengono poi centrifugati e posti in vial per l'analisi.

Analisi in LC-MS-DAD

Per l'analisi in LC-MS-DAD (Diode Array Detection) viene usato un sistema HPLC Agilent 1260 accoppiato ad un rivelatore DAD (Diode Array Detection) e uno spettrometro di massa Varian MS 500 con sorgente ESI settata con modalità di ionizzazione in negativo. Come fase stazionaria viene usata una colonna lipofila Agilent Eclipse XDB C18 (3.0 mm * 150 mm, 3.5 μ m). Come fase mobile a gradiente costituita da acqua 1% acido formico (A) e acetonitrile (B) al flusso di 0.4 mL/min. Il gradiente utilizzato è riportato in tabella:

TEMPO (min)	A (%)	B (%)
0-30	95	5
30-32.5	0	100
32.5-34	95	5

Tabella 8. Gradiente utilizzato per l'analisi dei polifenoli

Parametri dello spettrometro di massa:

- Capillary voltage: 60 V
- Needle voltage: 4800 V
- Shield voltage: \pm 600 V

Analisi dei lipidi

Preparazione del campione

Per la determinazione dei lipidi totali sono stati pesati circa 15 g per ognuno dei campioni e sono stati estratti in soxhlet con 150 mL di esano, in palloni precedentemente tarati, a refluxo per circa 4 ore. L'estratto organico è poi evaporato con rotavapor e i palloni e posti successivamente con flusso di azoto per allontanare il solvente fino a peso costante. Gli estratti sono pesati per la determinazione gravimetrica dei lipidi.

$$\% \text{ lipidi} = \frac{g_{\text{totali}} - g_{\text{tara}}}{g_{\text{pesata}}} \times 100$$

I lipidi sono trasferiti dai palloni in provette riparate dalla luce e la successiva quantificazione degli acidi grassi.

Per la determinazione degli acidi grassi questi devono essere convertiti nei loro metilesteri per renderli volatili e adatti all'analisi in gas cromatografo. Per la formazione dei metilesteri si sfrutta la reazione di transesterificazione di Fisher. Per questa reazione vengono pesati circa 100 mg di lipidi che vengono solubilizzati con 3 ml di diclorometano e 10 ml di metanolo a cui sono stati aggiunti 1 ml di una soluzione standard di metilpentadecanoato (C15) in metanolo alla concentrazione di circa 1,0 mg/ml e 3 gocce di acido solforico per catalizzare la reazione. Durante la reazione di esterificazione gli acidi carbossilici reagiscono con gli alcoli per formare esteri in presenza di catalizzatore acido (H₂SO₄). Per lo svolgimento della reazione è necessario fornire calore e lasciare a refluxo per 3-4 ore. Al termine la soluzione viene raffreddata in un bagno di ghiaccio e versata all'interno di un imbuto separatore cui vengono addizionati 5 mL di dietiletere. La soluzione ottenuta deve essere miscelata per permettere ai metilesteri di passare nella fase organica. Per favorire poi la separazione delle due fasi (fase acquosa e fase organica) vengono addizionati circa 20-30 mL di acqua deionizzata. Dopo due lavaggi con il dietiletere la fase organica raccolta dagli imbuti viene anidrificata con sodio solfato (Na₂SO₄) e viene trasferita in vial per l'analisi.

Analisi in GC-MS

Per l'analisi in GC-MS è stato utilizzato un gas cromatografo Agilent Technologies 7820 accoppiato ad uno spettrometro di massa a singolo quadrupolo Agilent Technologies 5977B utilizzando una colonna HP88 (60 m * 0,25 mm, 0.1 µm).

Il programma di temperatura utilizzato è:

TEMPO (min)	T (C°)
0-5	120°
5-45	+ 5°/min
45-55	240°

Tabella 9. Gradiente utilizzato per l'analisi degli acidi grassi

Iniettore e transfer line alla temperatura di 290° C. Come gas carrier è stato utilizzato elio al flusso di 1 mL/minuto; Lo spettrometro di massa ha un range di acquisizione 40-650 m/z.

Analisi degli zuccheri liberi

Preparazione del campione

Per la determinazione degli zuccheri liberi vengono pesati circa 200 mg per ogni campione. Come operazione preliminare i campioni vengono messi in forno a 100°C per 15 minuti per eliminare l'attività enzimatica della farina, in particolare quelle delle amilasi. I campioni sono estratti in 5 mL di acqua e metanolo in rapporto 80:20 in bagno ad ultrasuoni per 10 minuti. L'estratto è stato filtrato e il residuo riestratto con altri 5 mL di acqua e metanolo in rapporto 80:20 acqua e metanolo in rapporto 80:20 in bagno ad ultrasuoni per 10 minuti. Gli estratti sono stati raggruppati e portati a 10 mL. I campioni vengono poi centrifugati per 10 minuti e il surnatante posto in vial per l'analisi.

Analisi in LC-ELSD

Per l'analisi in LC-ELSD è stato utilizzato un sistema HPLC Agilent 1100 accoppiato a un detector ELSD (Evaporative Light Scattering Detector) Sedex 60 Sedere. Come fase stazionaria è stata utilizzata una colonna a scambio ionico Hi-Plex Ca (7.7mm * 300 mm, 8 µm) mantenuta a 80°C e come fase mobile acqua milliQ per 22 minuti in condizioni isocratiche. I parametri del detector ELSD sono: temperatura 60°C, pressione gas di azoto 2.1 bar e gain 11.

Analisi dell'umidità

Preparazione del campione e analisi

Per la determinazione dell'umidità degli sfarinati si usa il metodo ufficiale UNI-EN-ISO 712-2009. Come operazione preliminare la farina deve essere macinata in maniera uniforme e con il minor riscaldamento possibile, fino ad ottenere particelle del diametro di circa 0,5 mm (su un setaccio con le maglie da 0,5 mm non deve rimanere più del 50% del prodotto e su un setaccio da 1 mm non ne deve rimanere più del 10%). Vengono poi pesati con una bilancia analitica 10 g di farina che vengono stesi in uno strato uniforme su di un piattello di alluminio del diametro di mm 85, previamente tarato in pesafiltri. Si fa seccare per 60 minuti in stufa ad aria termoregolata alla temperatura di 130°-135°C. Dopo aver estratto dalla stufa e lasciato raffreddare, si procede a pesare e a reinserire in stufa per altri 30 minuti. Si procede con il medesimo metodo a una nuova pesata. Si continua fino ad ottenere una pesata costante.

Risultati e discussione

Risultati

Analisi del contenuto proteico totale

Per tale analisi il campione viene pesato e riscaldato in forno ad alte temperature e rapidamente bruciato in presenza di ossigeno puro a circa 1000 °C. Questo porta al rilascio di sostanze come anidride carbonica, acqua, diossido di azoto e azoto sottoforma di altri ossidi (NyOx). I gas prodotti vengono raccolti e fatti passare all'interno di una camera di riduzione contenente rame riscaldato così da rimuovere l'ossigeno e convertire gli ossidi di azoto in azoto molecolare. Mediante trappole dedicate vi è la rimozione dell'acqua e dell'anidride carbonica e quindi si può risalire al contenuto originario dell'elemento chimico cercato tramite analisi gravimetrica.

CATEGORIA	CAMPIONE	C%	H%	N%
Artigianali	AT	39,46 ± 0,06	6,26 ± 0,04	1,77 ± 0,16
	AS	40,23 ± 0,13	6,29 ± 0,01	2,41 ± 0,20
Italiani	MF	41,58 ± 0,17	6,16 ± 0,01	3,04 ± 0,08
	MG	41,08 ± 0,21	6,09 ± 0,25	1,47 ± 0,36
Commerciali	CA	41,25 ± 1,92	5,96 ± 0,33	1,64 ± 0,28
	CB	37,98 ± 0,29	5,97 ± 0,01	1,21 ± 0,28
	CR	39,57 ± 0,20	6,12 ± 0,09	2,01 ± 0,49

Tabella 10. Composizione elementare delle farine in % m/m con relativa deviazione standard.

Per la determinazione del contenuto proteico viene utilizzato il metodo Dumas secondo cui è possibile determinare il contenuto di proteine presenti partendo dal contenuto di azoto mediante un fattore di conversione. In media le proteine contengono il 16 % di azoto e, mediante il fattore di conversione 6.5 come indicato in letteratura, è possibile quantificare il contenuto di proteine presenti nel campione (Wijngaard & Arendt, 2006).

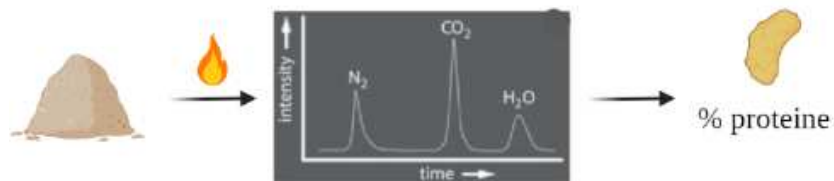


Figura 8. Processo Dumas con trasformazione del campione mediante combustione in gas, liberazione di azoto e quantificazione delle proteine.

CATEGORIA	CAMPIONE	% m/m
Artigianali	AT	10,32 ± 0,91
	AS	14,05 ± 1,15
Italiani	MF	8,54 ± 2,10
	MG	17,72 ± 0,49
Commerciali	CA	9,56 ± 1,65
	CB	7,05 ± 1,65
	CR	11,69 ± 2,84

Tabella 11. Contenuto proteico dei diversi campioni espresso in % m/m (g/100g) e relativa deviazione standard.

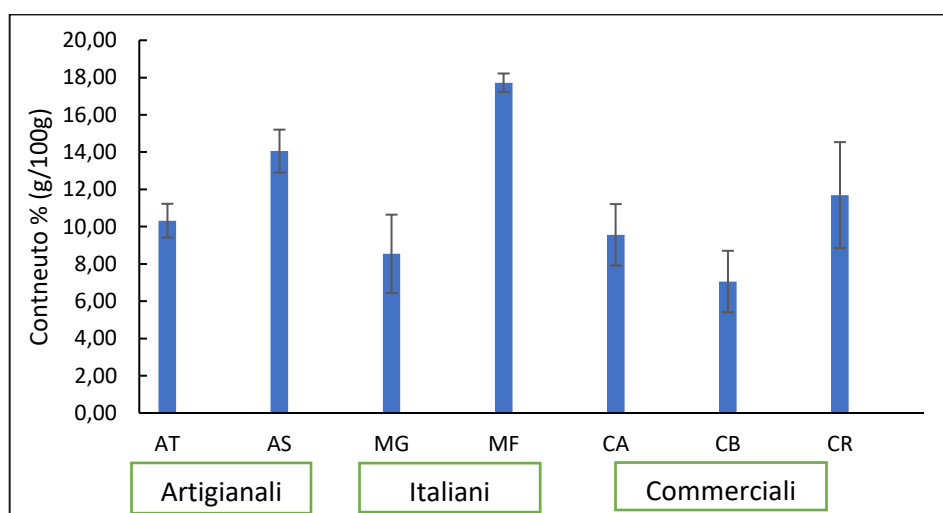


Grafico 2. Contenuto proteico medio per campione espresso come % (g/100g)

CAMPIONE	% m/m
Artigianali	12,18 ± 2,31
Italiani	13,13 ± 5,45
Commerciali	9,43 ± 2,65

Tabella 12. Contenuto medio per gruppo di proteina espresso in % m/m (g/100g) con relativa deviazione standard

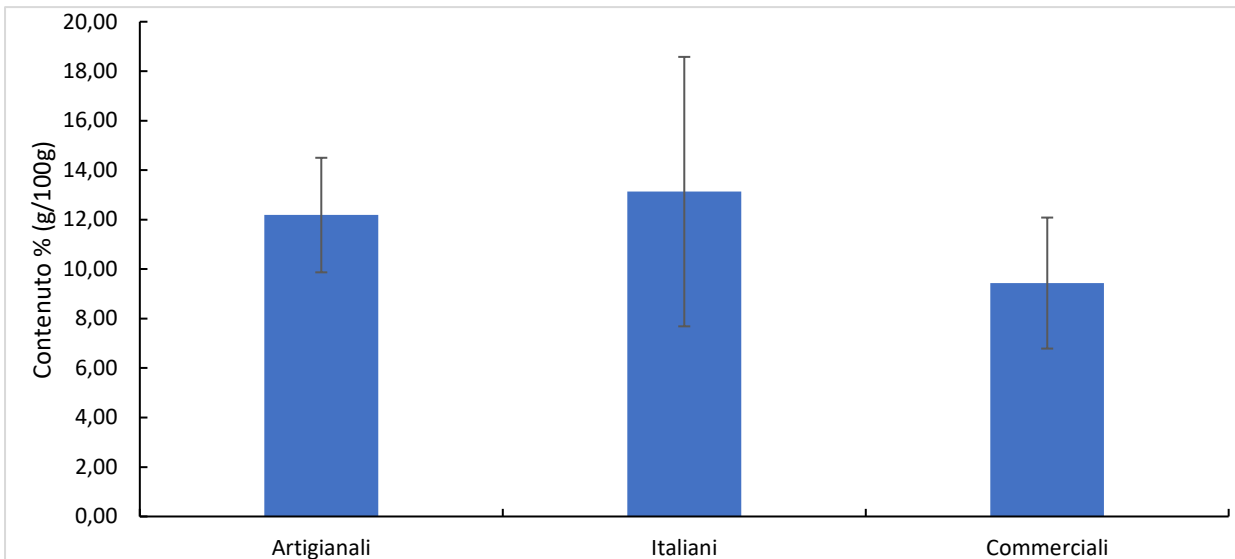


Grafico 3. Contenuto proteico medio per categoria espresso come % m/m (g/100g)

Analisi delle vitamine B totali e delle singole vitamine B

Per l'analisi delle vitamine è stata utilizzata la cromatografia liquida a fase inversa accoppiata a uno spettrometro di massa. Per la separazione degli analiti è stata utilizzata come fase stazionaria una colonna lipofila C8, e come fase mobile un gradiente di acqua 1% formico e acetonitrile per l'eluizione degli analiti.

Le vitamine sono state identificate mediante il peso molecolare determinato dallo spettrometro di massa e dalla specifica transizione. Sono poi state quantificate tramite le curve di calibrazione ottenute con una soluzione standard, una per ogni vitamina, a concentrazione variabile da 0.01 µg/mL a 3 µg/mL.

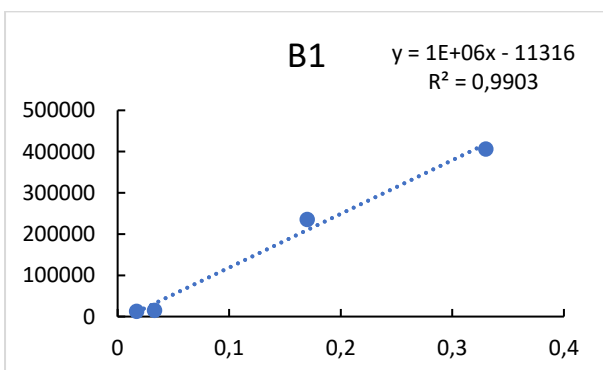


Tabella 13. Curva di calibrazione della vitamina B1

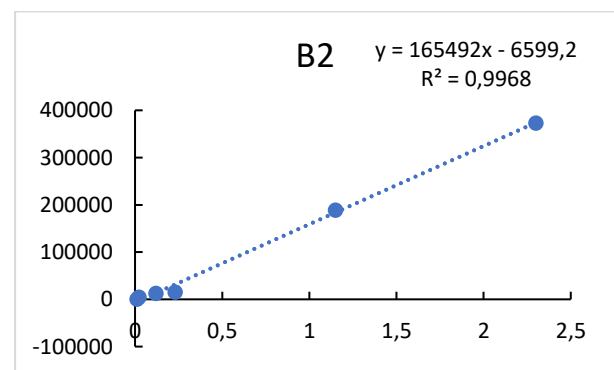


Tabella 14. Curva di calibrazione della vitamina B2

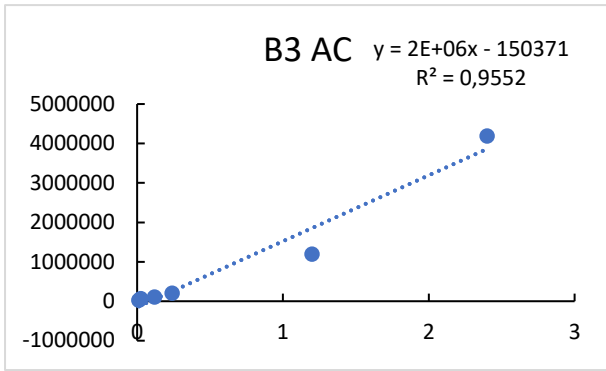


Tabella 15. Curva di calibrazione della vitamina B3 (acido nicotinico)

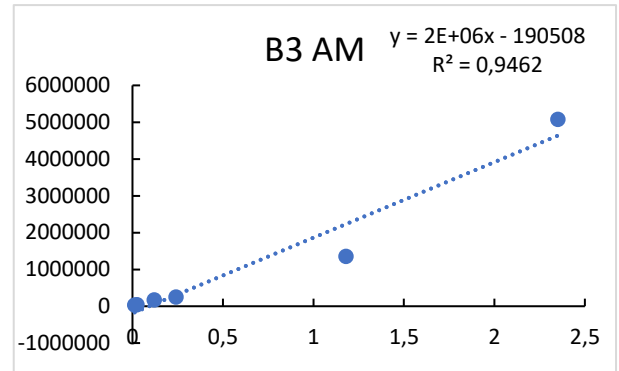


Tabella 16. Curva di calibrazione della vitamina B3 (nicotinamide)

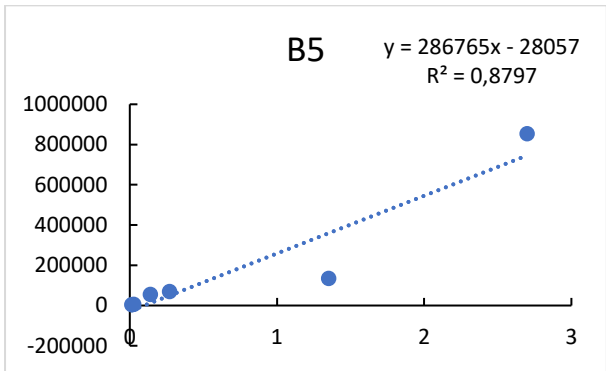


Tabella 17. Curva di calibrazione della vitamina B5

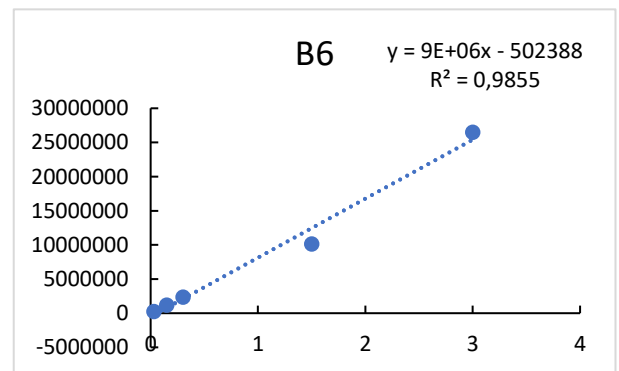


Tabella 18. Curva di calibrazione della vitamina B6

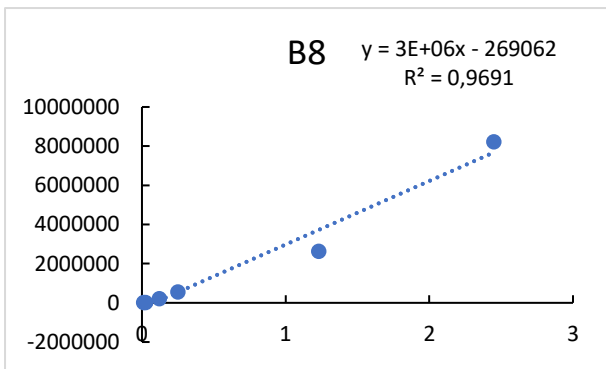


Tabella 19. Curva di calibrazione della vitamina B8

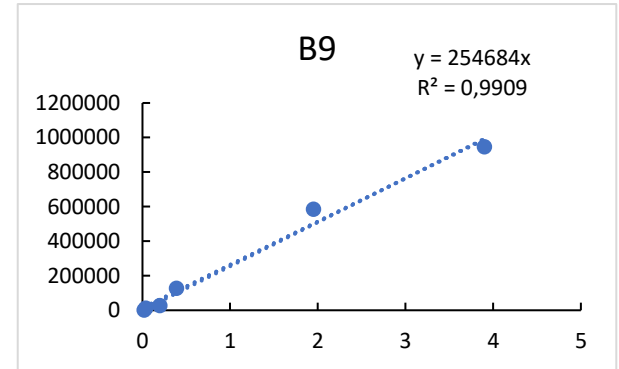


Tabella 20. Curva di calibrazione della vitamina B9

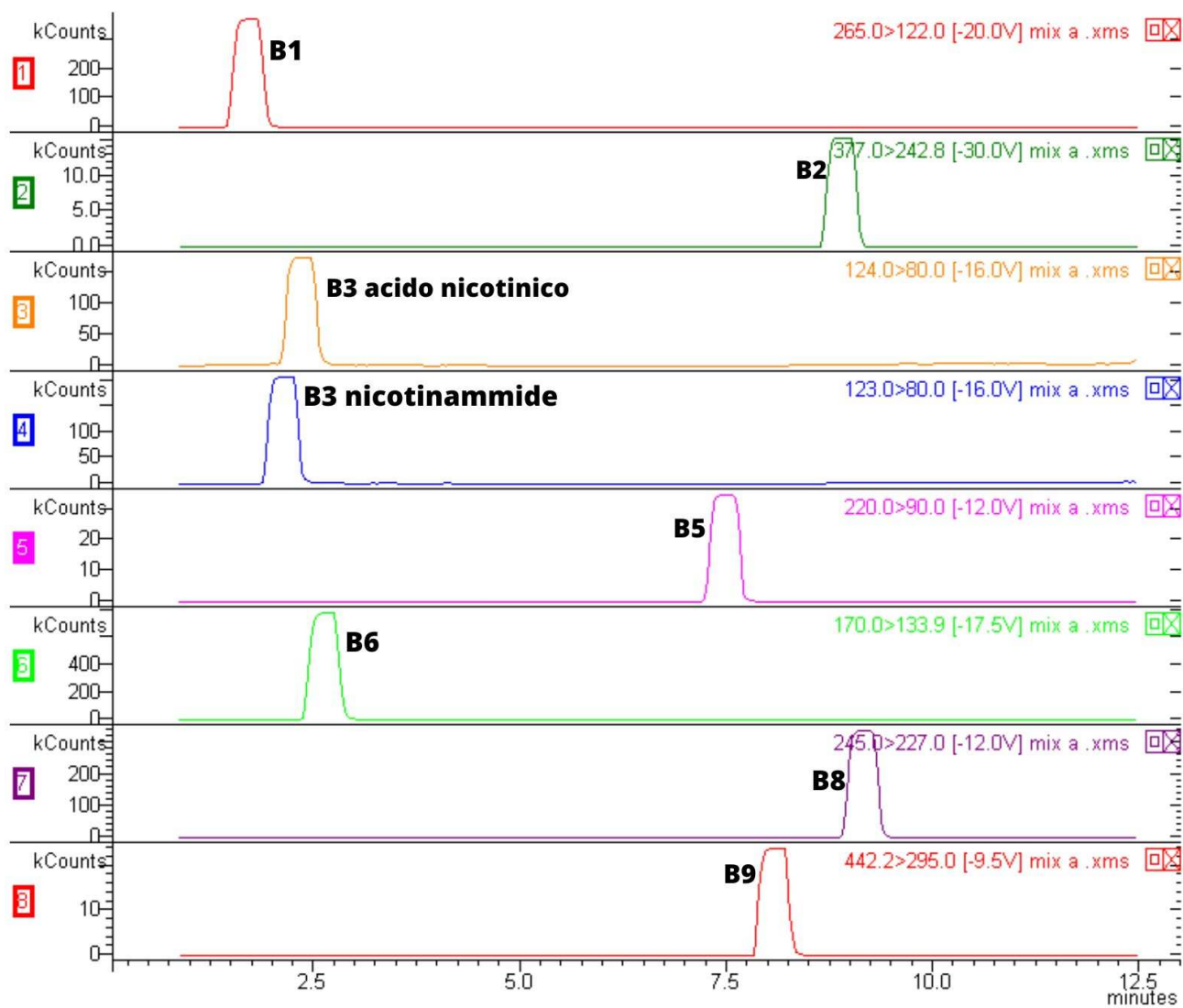


Grafico 4. Cromatogrammi degli standard delle vitamine B, in ordine: B1, B2, B3 (acido nicotinic), B3 (nicotinamide), B5, B6, B8, B9

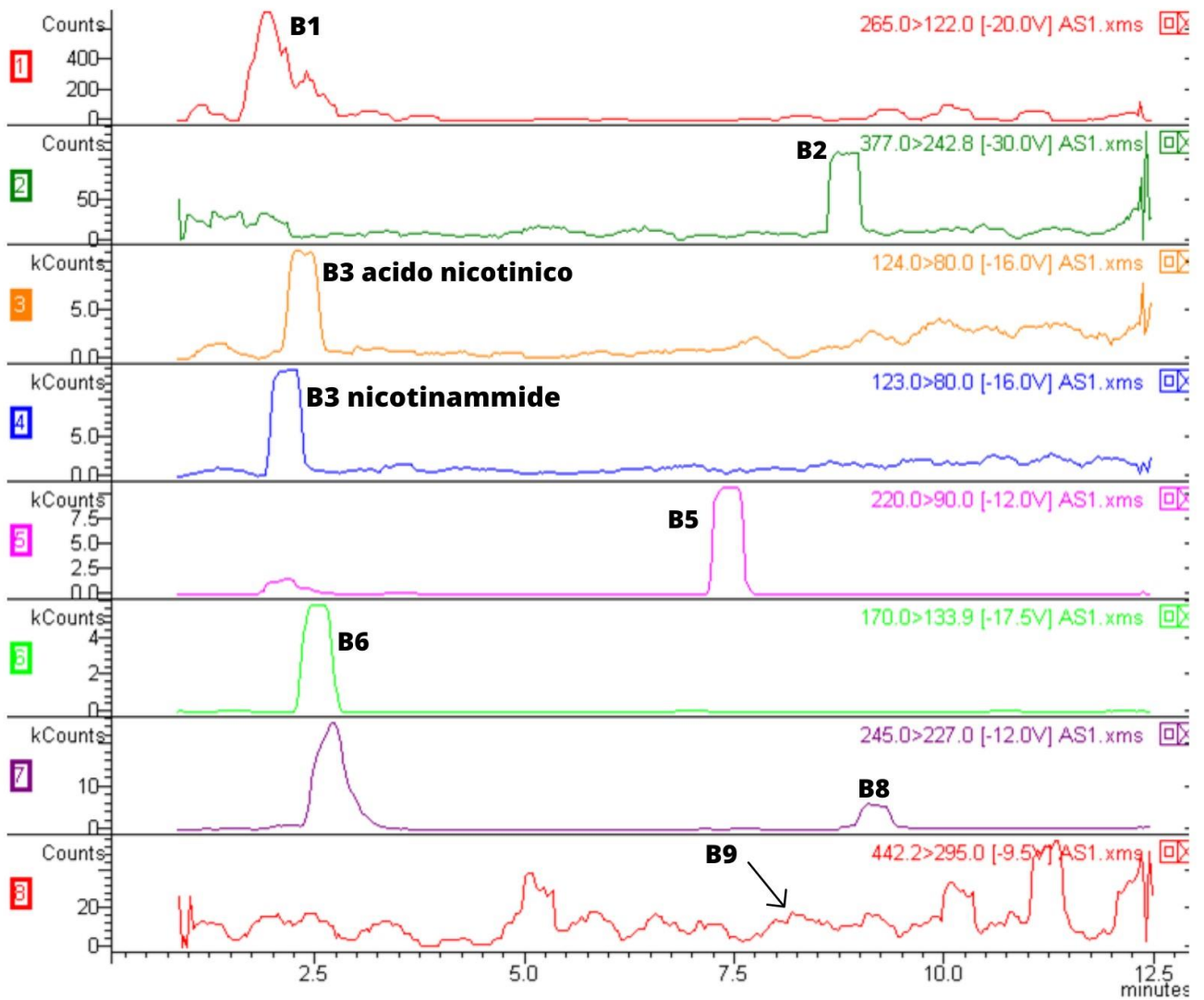


Grafico 5. Cromatogrammi delle vitamine B del campione AS (artigianale), in ordine: B1, B2, B3 (ac. nicotinic), B3 (nicotinamide), B5, B6, B8, B9

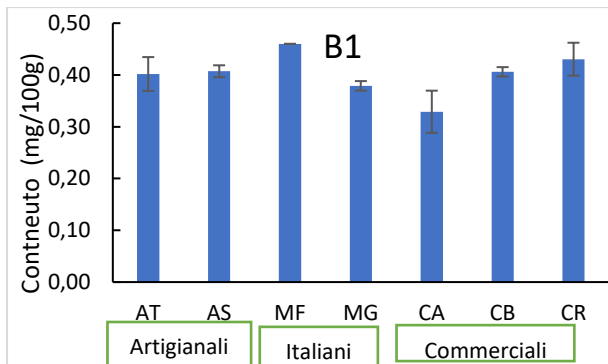


Grafico 6. Contenuto medio di vitamina B1 nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

B1		
CATEGORIA	CAMPIONE	mg/100g
Artigianali	AT	0,40 ± 0,03
	AS	0,41 ± 0,01
Italiani	MF	0,46 ± 0,01
	MG	0,38 ± 0,01
Commerciali	CA	0,33 ± 0,04
	CB	0,41 ± 0,01
	CR	0,43 ± 0,03

Tabella 21. Contenuto medio di vitamina B1 nei campioni in mg/100g

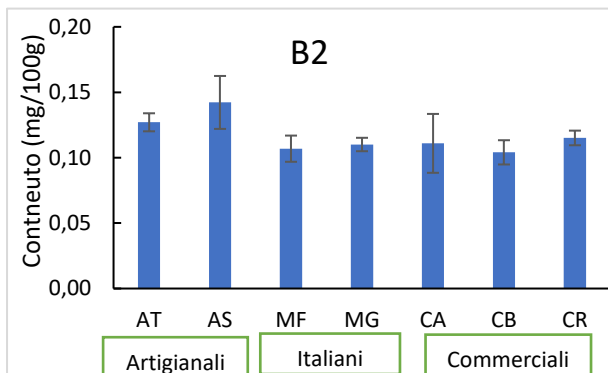


Grafico 7. Contenuto medio di vitamina B2 nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

B2		
CATEGORIA	CAMPIONE	mg/100g
Artigianali	AT	0,13 ± 0,01
	AS	0,14 ± 0,02
Italiani	MF	0,11 ± 0,01
	MG	0,11 ± 0,01
Commerciali	CA	0,11 ± 0,02
	CB	0,10 ± 0,01
	CR	0,12 ± 0,01

Tabella 22. Contenuto medio di vitamina B2 nei campioni in mg/100g

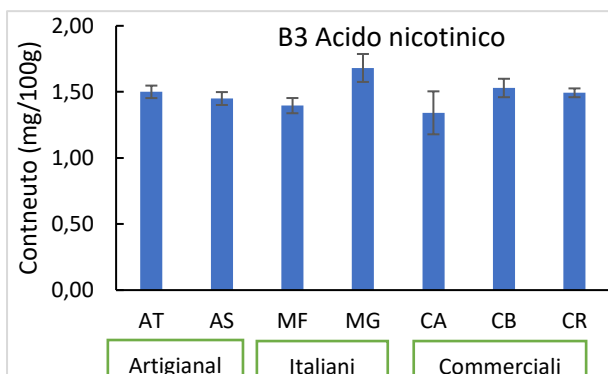


Grafico 8. Contenuto medio di vitamina B3 nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

B3 Acido Nicotinico		
CATEGORIA	CAMPIONE	mg/100g
Artigianali	AT	1,50 ± 0,05
	AS	1,45 ± 0,05
Italiani	MF	1,40 ± 0,06
	MG	1,68 ± 0,11
Commerciali	CA	1,34 ± 0,16
	CB	1,53 ± 0,07
	CR	1,49 ± 0,03

Tabella 23. Contenuto medio di vitamina B3 nei campioni in mg/100g

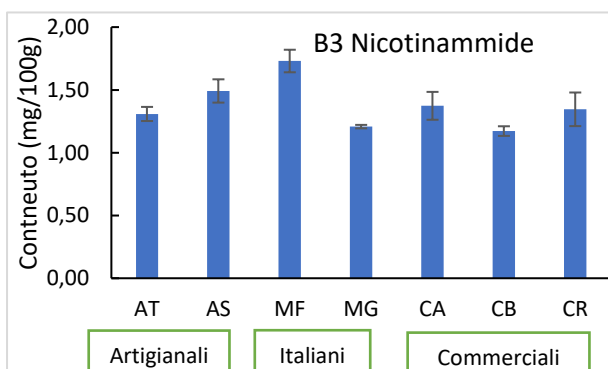


Grafico 9. Contenuto medio di vitamina B3 nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

B3 Nicotinamide		
CATEGORIA	CAMPIONE	mg/100g
Artigianali	AT	1,31 ± 0,06
	AS	1,49 ± 0,09
Italiani	MF	1,73 ± 0,09
	MG	1,21 ± 0,01
Commerciali	CA	1,37 ± 0,11
	CB	1,17 ± 0,04
	CR	1,35 ± 0,13

Tabella 24. Contenuto medio di vitamina B3 nei campioni in mg/100g

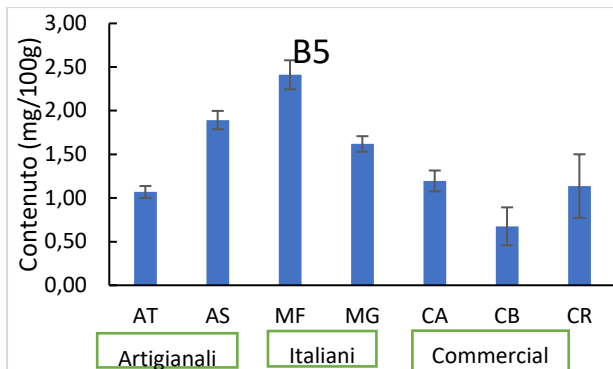


Grafico 10. Contenuto medio di vitamina B1 nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

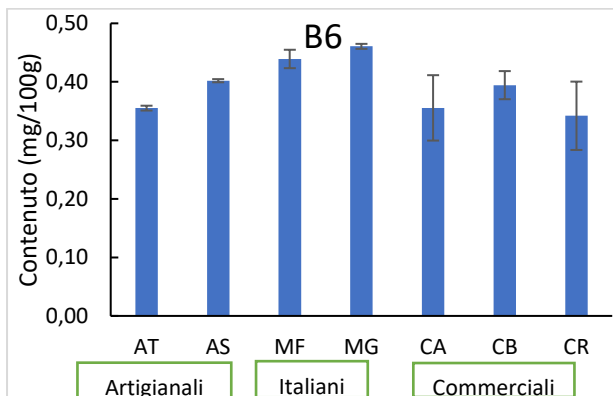


Grafico 11. Contenuto medio di vitamina B1 nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

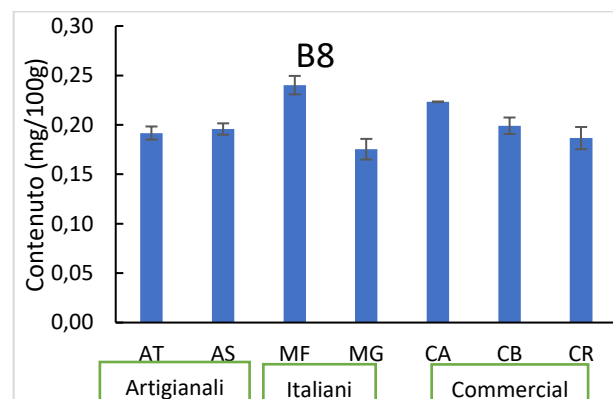


Grafico 12. Contenuto medio di vitamina B1 nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

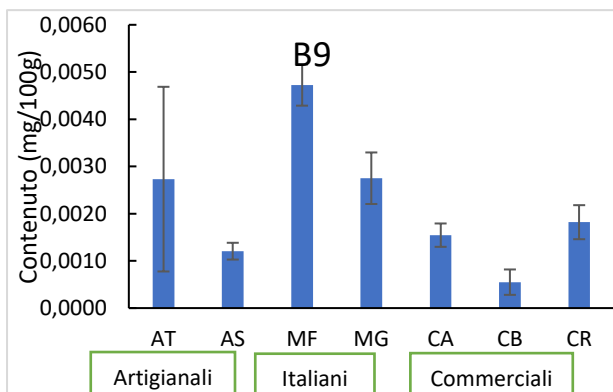


Grafico 13. Contenuto medio di vitamina B1 nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

B5		
CATEGORIA	CAMPIONE	mg/100g
Artigianali	AT	1,07 ± 0,07
	AS	1,89 ± 0,10
Italiani	MF	2,41 ± 0,17
	MG	1,62 ± 0,09
Commerciali	CA	1,20 ± 0,12
	CB	0,68 ± 0,22
	CR	1,14 ± 0,36

Tabella 25. Contenuto medio di vitamina B5 nei campioni in mg/100g

B6		
CATEGORIA	CAMPIONE	mg/100g
Artigianali	AT	0,36 ± 0,01
	AS	0,40 ± 0,01
Italiani	MF	0,44 ± 0,02
	MG	0,46 ± 0,01
Commerciali	CA	0,36 ± 0,06
	CB	0,39 ± 0,02
	CR	0,34 ± 0,06

Tabella 26. Contenuto medio di vitamina B5 nei campioni in mg/100g

B8		
CATEGORIA	CAMPIONE	mg/100g
Artigianali	AT	0,19 ± 0,01
	AS	0,20 ± 0,01
Italiani	MF	0,24 ± 0,01
	MG	0,18 ± 0,01
Commerciali	CA	0,22 ± 0,01
	CB	0,20 ± 0,01
	CR	0,19 ± 0,01

Tabella 27. Contenuto medio di vitamina B5 nei campioni in mg/100g

B9		
CATEGORIA	CAMPIONE	mg/100g
Artigianali	AT	0,0027 ± 0,0020
	AS	0,0012 ± 0,0002
Italiani	MF	0,0047 ± 0,0004
	MG	0,0028 ± 0,0005
Commerciali	CA	0,0015 ± 0,0002
	CB	0,0005 ± 0,0003
	CR	0,0018 ± 0,0004

Tabella 288. Contenuto medio di vitamina B5 nei campioni in mg/100g

CATEGORIA	CAMPIONI	mg/100mg
Artigianali	AT	4,96 ± 0,58
	AS	5,98 ± 0,74
Italiani	MF	6,79 ± 0,88
	MG	5,64 ± 0,69
Commerciali	CA	4,93 ± 0,58
	CB	4,48 ± 0,54
	CR	5,05 ± 0,60

Tabella 29. Contenuto totale di vitamina B nei diversi campioni espresso in mg/100g

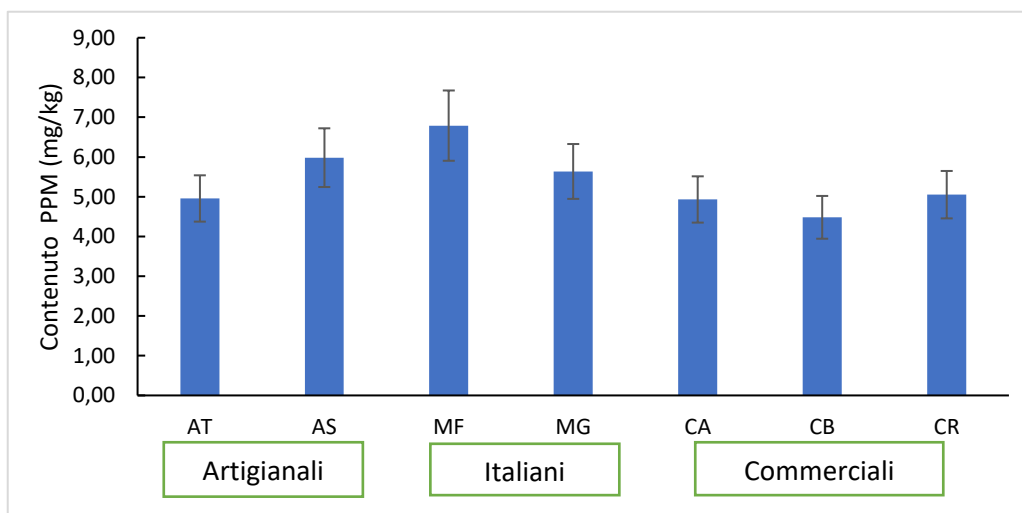


Grafico 14. Contenuto medio totale di vitamina B nei campioni espresso in PPM (mg/kg)

CATEGORIA	mg/100g
Artigianali	5,47 ± 0,47
Italiani	6,21 ± 0,82
Commerciali	4,82 ± 0,30

Tabella 30. Contenuto medio di vitamina B per categoria espresso in mg/100g

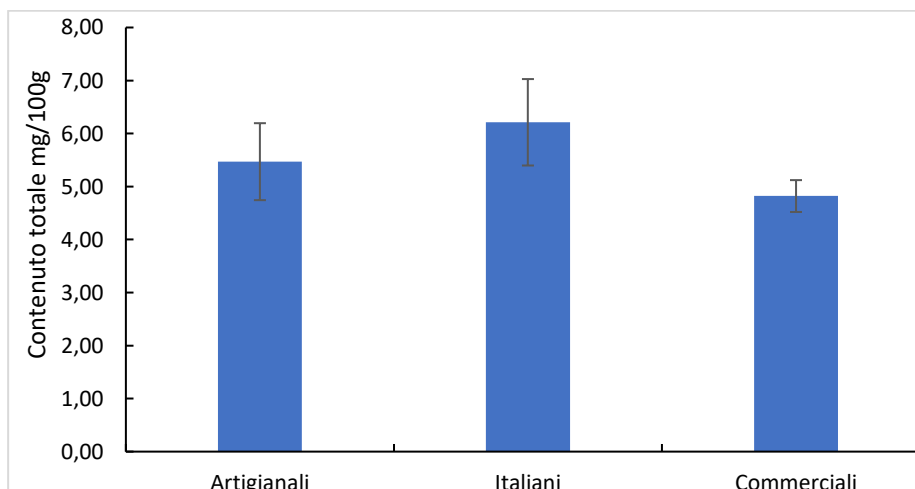


Grafico 15. Contenuto medio di vitamina B per categoria espresso in mg/100g

Analisi dei polifenoli

Per l'analisi dei polifenoli è stata utilizzata la cromatografia liquida a fase inversa accoppiata a DAD e spettrometria di massa. Per la caratterizzazione e separazione degli analiti è stata utilizzata una colonna lipofila, C18, con un gradiente di acqua 1% formico e acetonitrile per l'eluizione degli analiti. I polifenoli sono stati identificati mediante i pathway di frammentazione ottenuti in spettrometria di massa e confrontati con i dati di letteratura. La lettura in DAD è stata condotta a 280 nm permettendo di quantificare i diversi analiti. Per i flavonoli è stato utilizzato come standard di riferimento una soluzione di rutina a 280 nm nel range di concentrazione 126 - 16 µg/mL, mentre per i flavanoli lo standard di riferimento usato è la catechina, sempre a 280 nm nel range di concentrazione 68.8 - 17.2 µg/mL.

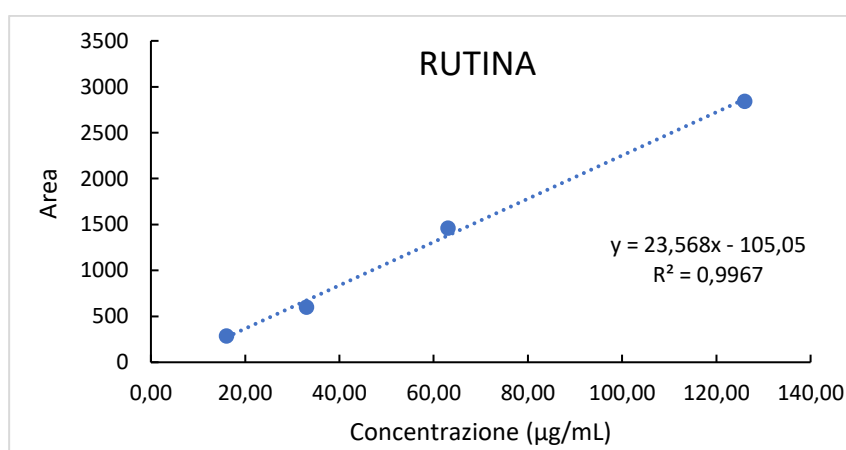


Grafico 16. Curva di calibrazione dello standard di rutina

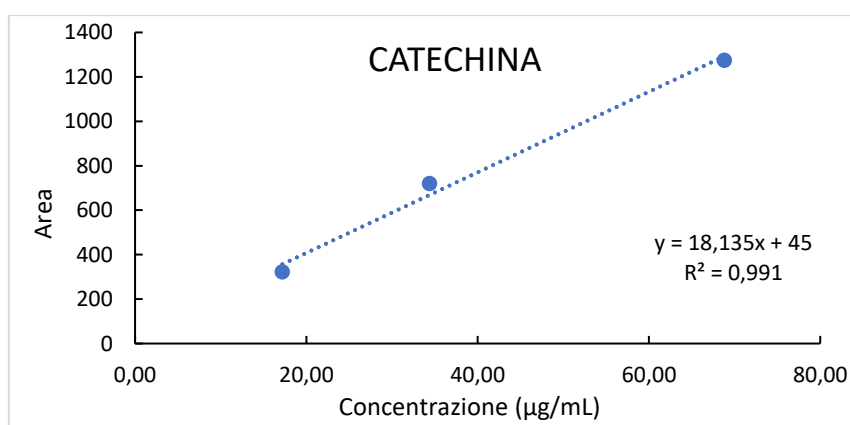


Grafico 17. Curva di calibrazione dello standard di catechina

Per svolgere l'analisi qualitativa sono stati preparati 3 campioni concentrati. I campioni scelti sono il campione AT per la categoria "Artigianali", il campione MF per la categoria "Italiani" e il campione CA per la categoria "Commerciali".

Campione AT concentrato

N°	T. RIT.	[M-H] ⁻	FRAMMENTI	NOME	CITAZIONE
1	10.811	609	301-300-271-255-179-151	Rutina	(Zhang et al., 2017)
2	10.998	833	543-561-707-561	Epiatzelchin-epiatzelchin-epicatechina	(Zhang et al., 2017)
3	11.574	593	285-286	Kaempferolo 3-rutinoside	(Zhang et al., 2017)
4	12.860	741	469-605	Epiatzelchin-epicatechina dimetil gallato	(Verardo et al., 2010)
5	13.375	469	319-271	Epicatechina dimetil gallato	(Verardo et al., 2010)

Tabella 31. Identificazione dei polifenoli nel campione AT tramite lo spettro di massa

Campione MF concentrato

N°	T. RIT.	(M-H)	FRAMMENTI	NOME	CITAZIONE
1	9.736	561	289-435	Epiatzelchin-epicatechina isomero d	(Verardo et al., 2010)
2	10.466	729	407-559-451	Epicatechina-epigallocatechina-3-gallato	(Zhang et al., 2017)
3	10.764	609	301-300	Rutina	(Zhang et al., 2017)
4	10.885	833	707-543-561-707-436-271-407	Epiatzelchin-epicatechina-epicatechina	(Zhang et al., 2017)
5	12.852	741	469-605-407	Epiatzelchin-epicatechina dimetil gallato	(Verardo et al., 2010)
6	13.726	469	319-271	Epicatechina dimetil gallato	(Verardo et al., 2010)
7	14.380	1013	741-543-887-587-468-573-469-407	Epiatzelchin-epiatzelchin-epicatechina dimetilgallato	(Zhang et al., 2017)

Tabella 32. Identificazione dei polifenoli nel campione AT tramite lo spettro di massa

Campione CA concentrato

N°	T. RIT.	[M-H] ⁻	FRAMMENTI	NOME	CITAZIONE
1	10.794	609	301-300	Rutina	(Zhang et al., 2017)
2	11.596	593	285	Kaempferolo 3-rutinoside	(Zhang et al., 2017)
4	12.950	741	469-605-319-425	Epiatzelchin-epicatechina dimetil gallato	(Verardo et al., 2010)

Tabella 33. Identificazione dei polifenoli nel campione AT tramite lo spettro di massa

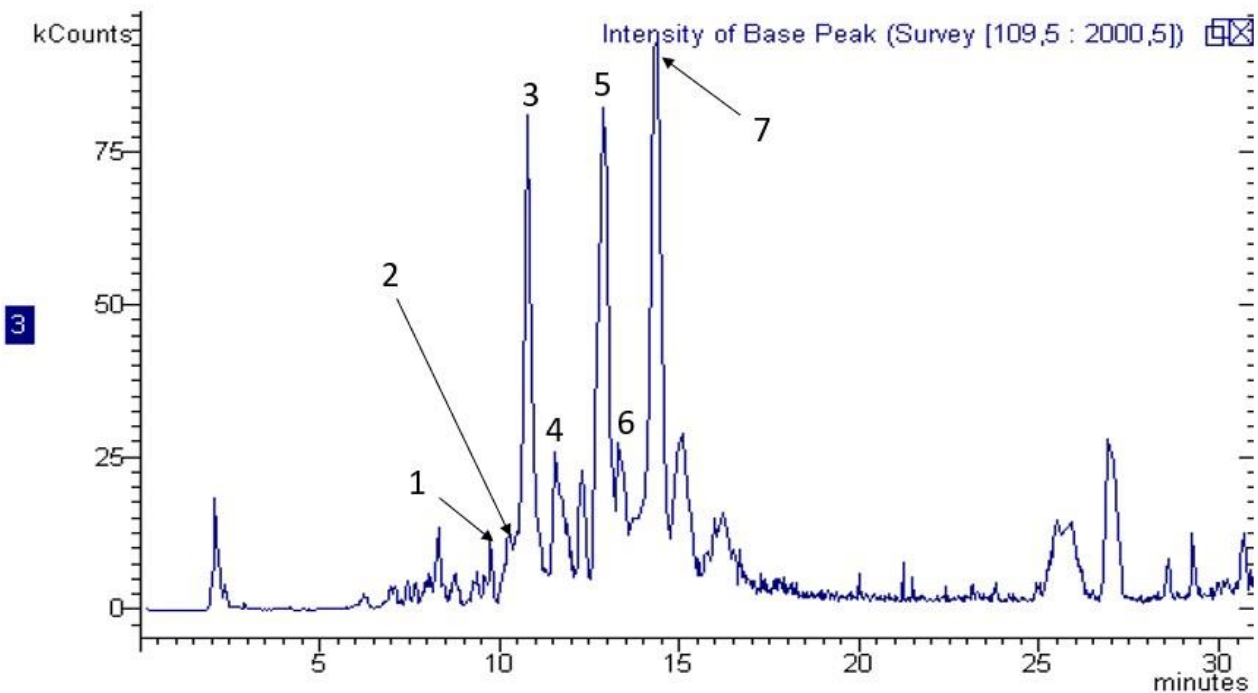


Grafico 18. Cromatogramma del campione concentrato MF risultante dallo spettrometro di massa con indicati i principali picchi. 1)Epiatzelchin epicatechina isomero D, 2) Epicatechina-epigallocatechina-3-gallato, 3) Rutina, 4) Epiatzelchin-epicatechina-epicatechina, 5) Epiatzelchin-epicatechina dimetil gallato, 6) Epicatechina dimetil gallato, 7) Epiatzelchin-epiatzelchin-epicatechina dimetilgallato

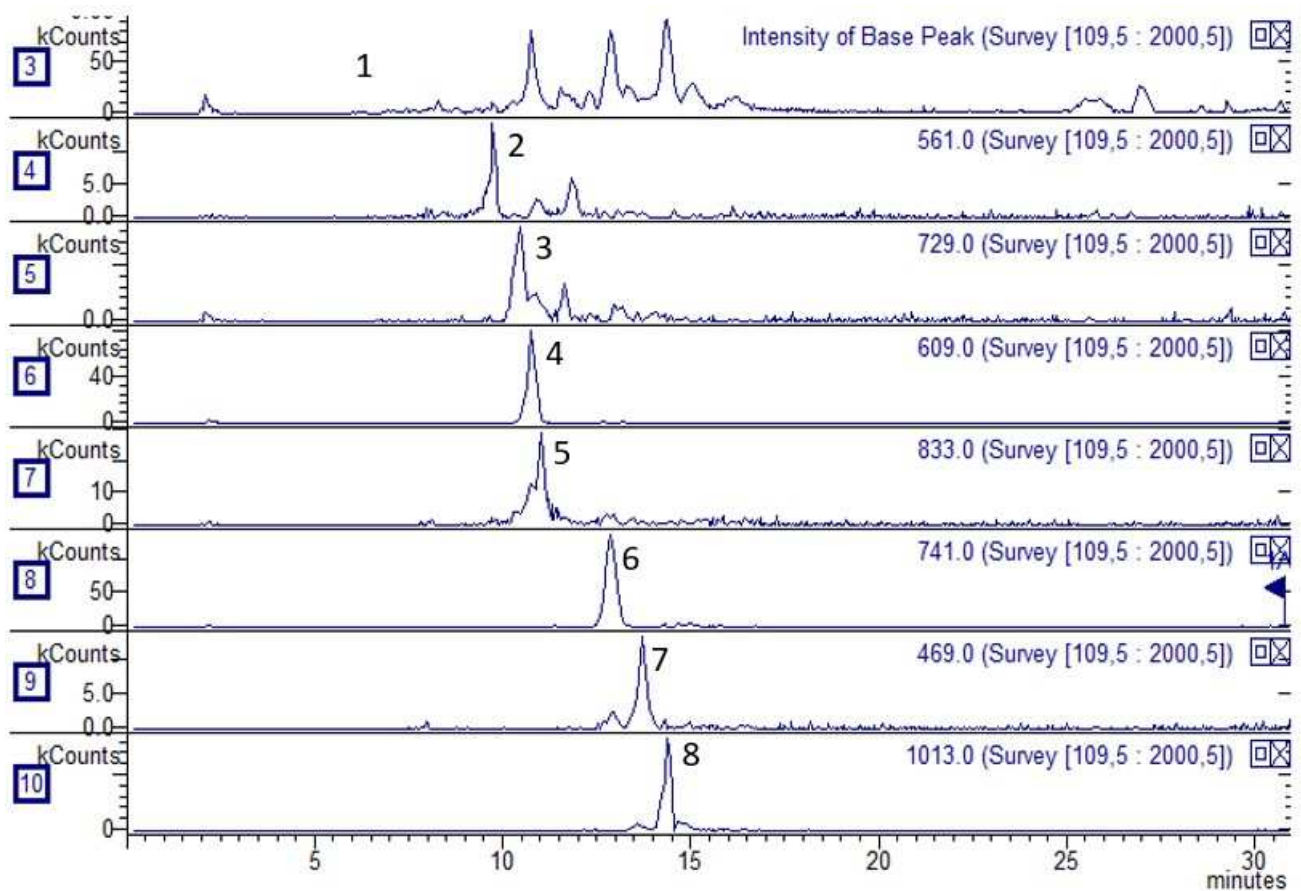


Grafico 19. Cromatogramma del campione MF concentrato con identificati i diversi picchi: 1) Cromatogramma campione MF, 2) Epiatzelchin epicatechina isomero D, 3) Epicatechina-epigallocatechina-3-gallato, 4) Rutina, 5) Epiatzelchin-epicatechina-epicatechina, 6) Epiatzelchin-epicatechina dimetil gallato, 7) Epicatechina dimetil gallato, 8) Epiatzelchin-epiatzelchin-epicatechina dimetilgallato

Dopo aver svolto l'analisi qualitativa sono stati analizzati i singoli campioni per svolgere la quantificazione dei composti.

NOME COMPOSTO	Artigianali		Italiani		Commerciali		
	AT mg/g	AS mg/g	MF mg/g	MG mg/g	CA mg/g	CB mg/g	CR mg/g
Epiafelchin-epicatechina isomero D	n.d.	n.d.	0,39 ± 0,03	0,13 ± 0,03	n.d.	n.d.	n.d.
Epicatechina-epigallocatechina dimetil gallato	n.d.	n.d.	0,73 ± 0,06	0,41 ± 0,06	n.d.	n.d.	n.d.
Rutina	0,33 ± 0,01	0,38 ± 0,04	0,75 ± 0,04	0,81 ± 0,09	1,11 ± 0,02	0,36 ± 0,08	0,51 ± 0,07
Epiafelchin-epicatechina-epicatechina	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,06	0,36 ± 0,07	0,02 ± 0,02	n.d.	n.d.	n.d.
Epiafelchin-epiafelchin-epicatechina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Kaempferolo 3-rutinoside	1,15 ± 0,11	1,68 ± 0,07	n.d.	n.d.	0,45 ± 0,05	0,30 ± 0,01	0,66 ± 0,10
Epiafelchin-epicatechina dimetil gallato	0,06 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,37 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,18 ± 0,05	0,16 ± 0,02	0,50 ± 0,14
Epicatechina dimetil gallato	0,29 ± 0,06	0,31 ± 0,22	0,91 ± 0,01	0,32 ± 0,03	n.d.	n.d.	n.d.
Epiafelchin-epiafelchin-epicatechina dimetilgallato	n.d.	n.d.	0,22 ± 0,03	0,04 ± 0,04	n.d.	n.d.	n.d.

Tabella 34. Quantificazione dei polifenoli nei campioni svolta con DAD a 280 nm

CATEGORIA	CAMPIONE	mg/g
Artigianali	AT	2,45 ± 0,41
	AS	1,85 ± 0,07
Italiani	MF	3,74 ± 0,10
	MG	1,78 ± 0,30
Commercioli	CA	1,74 ± 0,08
	CB	0,82 ± 0,06
	CR	1,67 ± 0,31

Tabella 35. Contenuto totale di polifenoli per campione espresso in mg/g con relativa deviazione standard

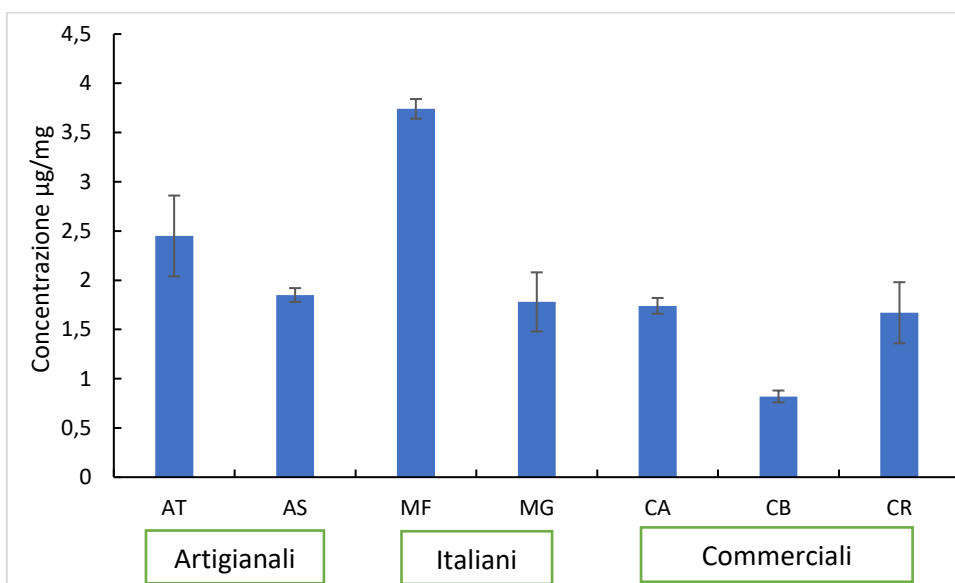


Grafico 20. Contenuto totale di polifenoli espresso in µg/mg

POLIFENOLI DAD 220 nm CAMPIONE AS

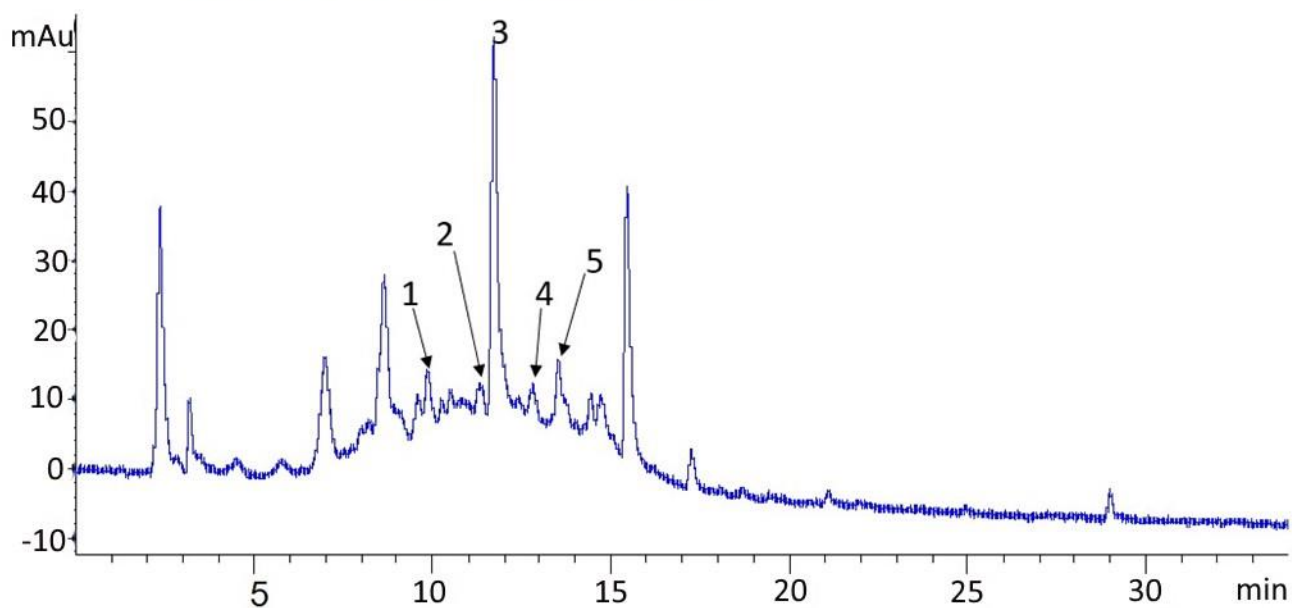


Grafico 21. Cromatogramma del campione AS analizzato con DAD (a 280 nm) usato per la quantificazione dei polifenoli con indicati i principali picchi identificati: 1) Rutina, 2) Epiafzelchin-epiafzelchin-epicatechina, 3) Kaempferolo 3-rutinoside, 4) Epiafzelchin-epicatechina dimetil gallato, 5) Epicatechina dimetil gallato

CATEGORIA	$\mu\text{g}/\text{mg}$
Artigianali	$2,15 \pm 0,42$
Italiani	$2,76 \pm 1,39$
Commerciali	$1,41 \pm 0,51$

Tabella 36. Contenuto medio totale di polifenoli nelle diverse categorie espresso in $\mu\text{g}/\text{mg}$

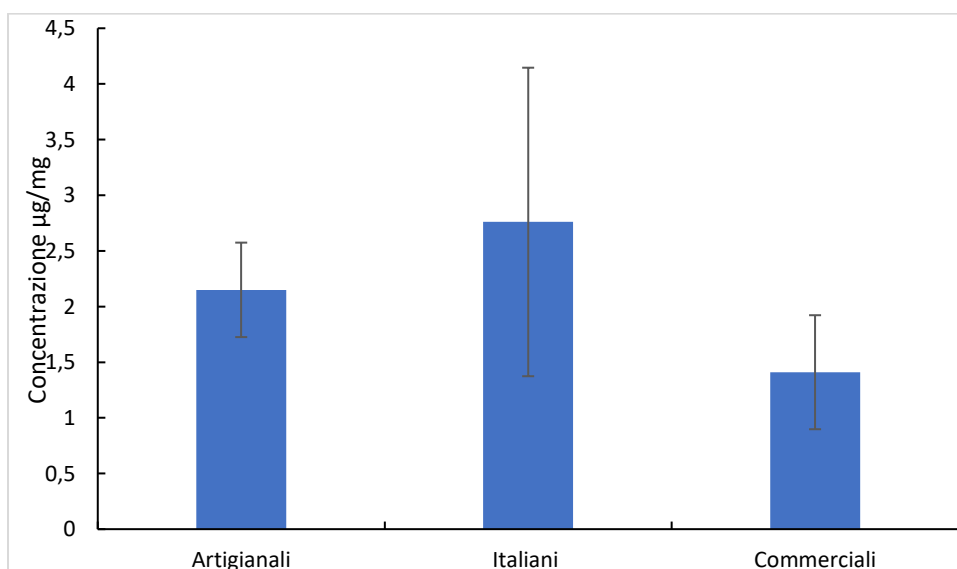


Grafico 22. Contenuto medio totale di polifenoli nelle diverse categorie espresso in $\mu\text{g}/\text{mg}$

Analisi dei lipidi

Per analizzare il contenuto totale di lipidi dei campioni si è sfruttato un soxhlet per l'estrazione in continuo. Per l'estrazione sono stati usati circa 150 mL di esano, poi portati a secco in rotavapor e quindi quantificati per via gravimetrica.

CATEGORIA	CAMPIONE	% m/m
Artigianali	AT	2,81 ± 0,42
	AS	2,44 ± 0,35
Italiani	MF	1,29 ± 0,14
	MG	2,08 ± 0,01
Commerciale	CA	2,13 ± 0,05
	CB	1,65 ± 0,65
	CR	2,45 ± 0,10

Tabella 37. Contenuto totale in grassi dei campioni espresso in % m/m (g/100g) e relativa deviazione standard.

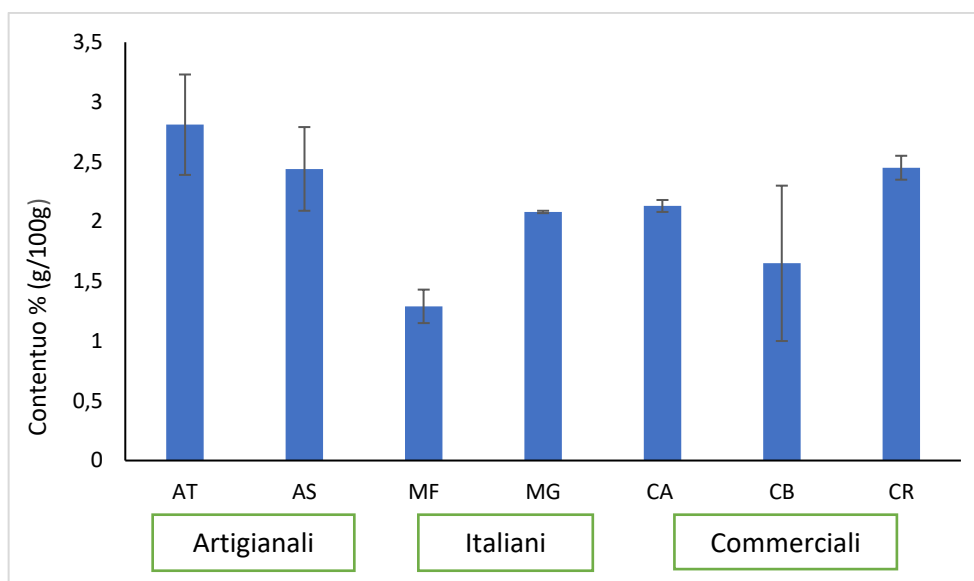


Grafico 23. Risultati ottenuti con l'estrazione in soxhlet espressi in % m/m (g/100g)

CATEGORIA	% m/m
Artigianali	2,63 ± 0,26
Italiani	2,07 ± 0,40
Commerci	1,69 ± 0,56

Tabella 38. Contenuto medio di lipidi per categoria espresso in % m/m (g/100g)

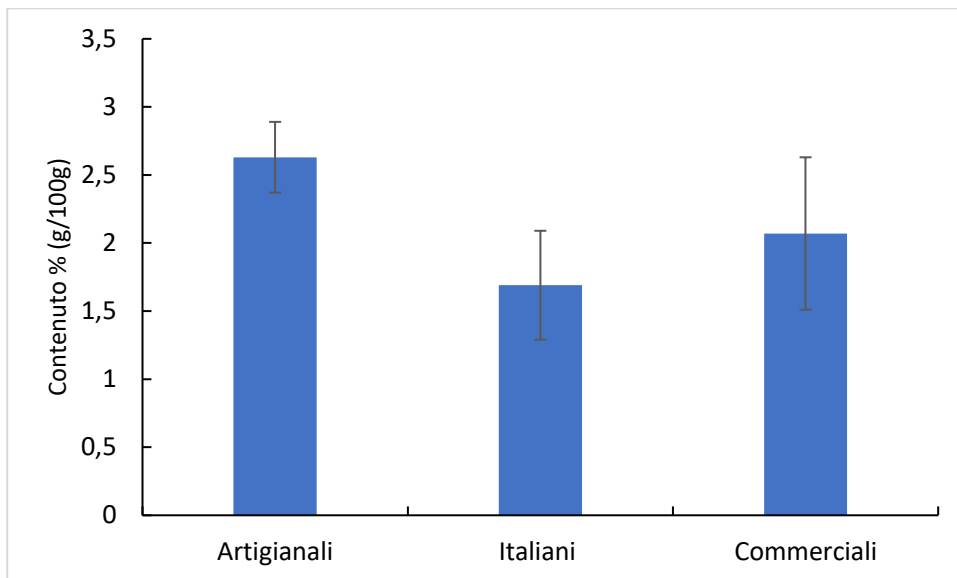


Grafico 24. Contenuto medio di lipidi per categoria espresso in % m/m (g/100g)

Per l'analisi in GC-MS gli acidi grassi sono stati trasformati nei rispettivi esteri metilici. La reazione di esterificazione (reazione di Fisher) degli acidi grassi a lunga catena avviene in presenza di un eccesso di alcol (metanolo) con catalizzatori acidi, come l'acido solforico. La reazione di esterificazione viene eseguita allo scopo di aumentarne la volatilità e diminuirne la polarità permettendo così di eseguire un'analisi gas-cromatografica.

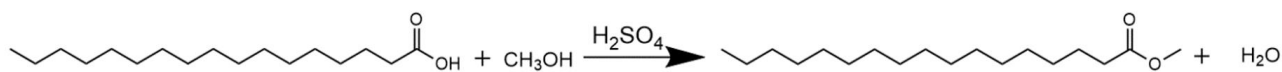


Figura 9. Schema esemplificativo della reazione di esterificazione di Fisher

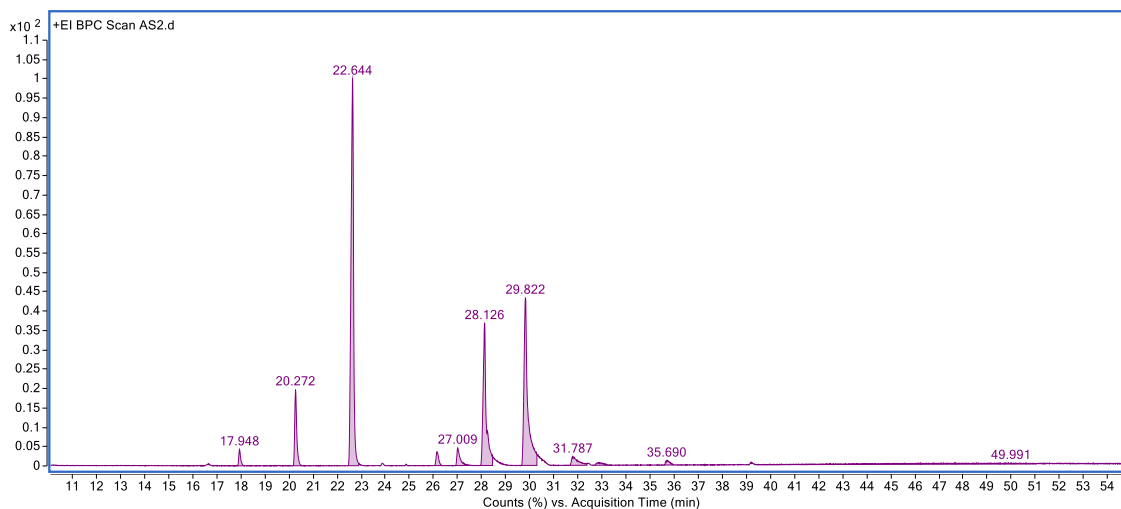


Grafico 25. Cromatogramma GC-MS di un campione: in ascissa è riportato il tempo (min) e in ordinata l'intensità (Counts).

Mediante l'utilizzo di un detector di massa è possibile ottenere il pattern di frammentazione caratteristico dell'analita. Le identificazioni degli acidi grassi sono state condotte sulla base dei pattern di frammentazione, in accordo con i composti della libreria NIST e con i tempi di ritenzione.

T. RIT.(min)	PESO MOLECOLARE	ID	NOME
18.1	242	C 14:0	Acido miristico
22.7	270	C 16:0	Acido palmitico
27.1	398	C 18:0	Acido stearico
28.1	296	C 18:1	Acido oleico (cis 9)
29.8	294	C 18:2	Acido linoleico
31.8	292	C 18:3	Acido linolenico (α - γ)
32.8	326	C 20:0	Acido arachico
35.7	366	C 22:1	Acido erucico (cis 13)
36.5	354	C 22:0	Acido beenico
40.2	382	C 24:0	Acido lignocerico

Tabella 39. Tempo di ritenzione, peso molecolare e rispettivo acido grasso identificato nel campione.

Ai fini della comparazione tra i diversi campioni gli acidi grassi sono stati divisi in base alla presenza o meno di doppi legami, e quindi al loro grado di insaturazione. Sono state quindi separati in tre categorie:

- saturi che comprendono l'acido miristico, l'acido palmitico, l'acido stearico, l'acido arachico, l'acido beenico e l'acido lignocerico, con l'acido stearico che ne rappresenta la maggior parte
- monoinsaturi che comprendono l'acido oleico, il più rappresentativo e l'acido erucico
- polinsaturi che comprendono l'acido linoleico, presente in quantità maggiore e l'acido linolenico

Per la quantificazione degli acidi grassi è stato utilizzato uno standard interno di metil-pentadecanoato (C 15:0), inserito in quantità nota, che ha permesso di eliminare l'errore in fase di ripartizione liquido-liquido e vaporizzazione del campione per l'analisi GC.

CATEGORIA	CAMPIONE	SATURI	MONOINSATURI	POLINSATURI	TOTALE
Artigianali	AT	9,15 ± 0,28	12,78 ± 0,65	11,78 ± 0,40	33,71 ± 0,76
	AS	9,34 ± 0,40	12,17 ± 0,30	10,63 ± 0,49	32,13 ± 0,39
Italiani	MF	10,46 ± 0,48	14,03 ± 0,09	15,61 ± 0,26	40,09 ± 0,65
	MG	9,41 ± 0,52	11,55 ± 0,41	11,74 ± 0,15	32,70 ± 0,04
Commercials	CA	10,57 ± 0,21	6,04 ± 0,14	6,32 ± 0,28	22,93 ± 0,21
	CB	9,57 ± 0,20	4,67 ± 0,44	3,93 ± 0,19	18,17 ± 0,93
	CR	11,27 ± 0,41	6,06 ± 0,16	6,40 ± 0,39	23,72 ± 0,18

Tabella 40. Quantità di acidi grassi saturi, monoinsaturi, polinsaturi e totali espresso in % m/m (g/100g) con relativa deviazione standard

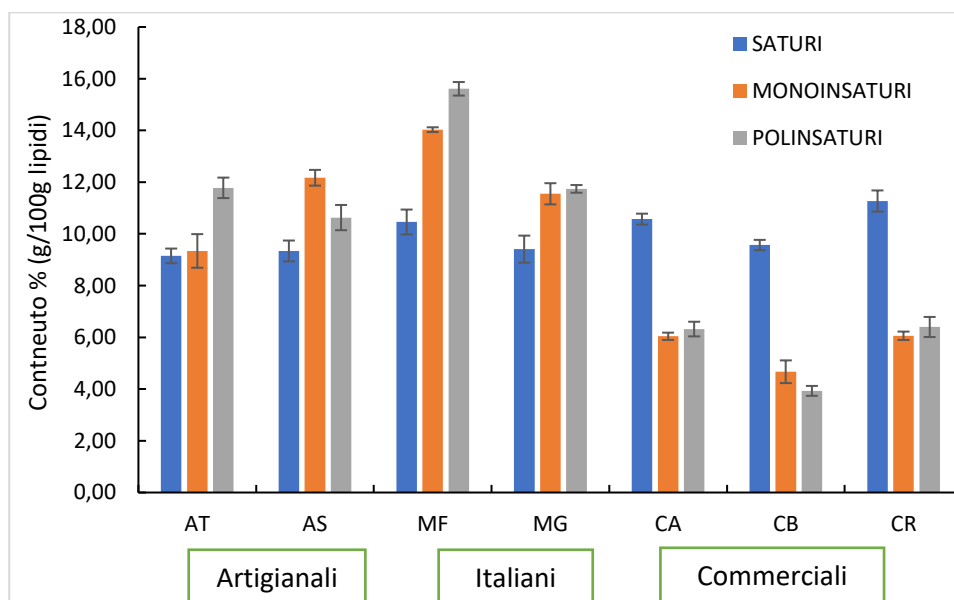


Grafico 26. Concentrazione in g/100g degli acidi grassi saturi, monoinsaturi, e poli insaturi nei campioni. Da sottolineare la notevole differenza tra i campioni Artigianali e Italiani da quelli Commerciali

Analisi degli zuccheri liberi

Per l'analisi degli zuccheri è stata utilizzata la cromatografia liquida a scambio ionico accoppiata a detector ELSD poiché questi composti non presentano gruppi cromofori in grado di assorbire nello spettro UV-Vis. Per l'analisi cromatografica è stata utilizzata una colonna a scambio ionico Hi-Plex Ca, ideale per l'analisi degli zuccheri monosaccaridi come glucosio e fruttosio, disaccaridi come il saccarosio e zuccheri alcolici come mannitolo e sorbitolo.

Gli zuccheri sono stati identificati mediante il confronto con lo standard di riferimento e i dati di letteratura disponibili. Si riportano le curve di calibrazione che sono state ottenute per glucosio, arabinosio e maltosio.

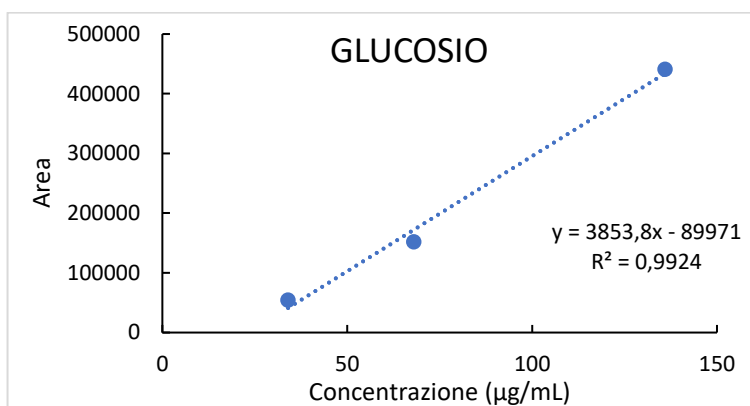


Grafico 27. Curva di calibrazione dello standard di glucosio, concentrazione compresa tra 34 e 136 $\mu\text{g/mL}$

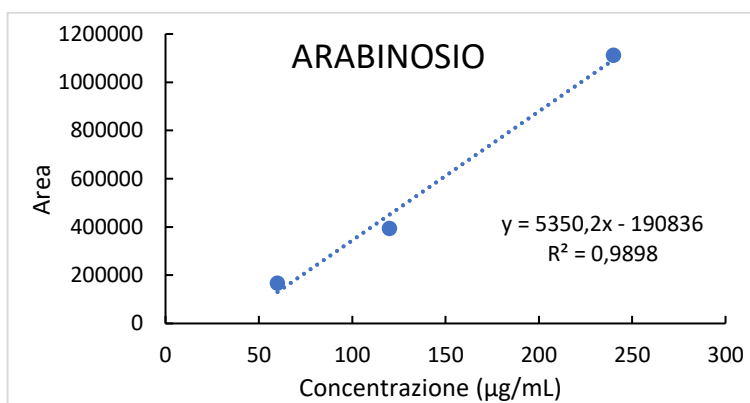


Grafico 28. Curva di calibrazione dello standard di arabinosio, concentrazione compresa tra 60 e 240 $\mu\text{g/mL}$

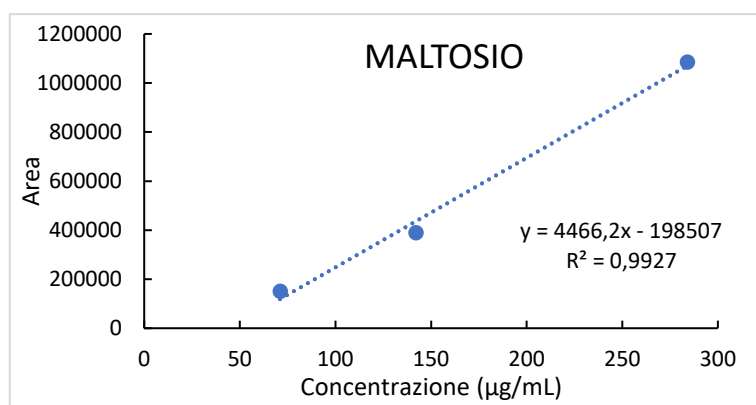


Grafico 29. Curva di calibrazione dello standard di maltosio, concentrazione compresa tra 71 e 284 µg/mL

I campioni sono stati riscaldati a 100 °C per 15 minuti al fine di eliminare l'attività enzimatica. Infatti, questa avrebbe potuto portare errori nella misurazione degli zuccheri liberi in seguito all'idrolisi dell'amido nei suoi monomeri.

GRUPPO	CAMPIONE	% m/m
Artigianali	AT	1,20 ± 0,17
	AS	1,53 ± 0,11
Italiani	MF	1,47 ± 0,11
	MG	0,98 ± 0,13
Commercials	CA	1,21 ± 0,17
	CB	1,04 ± 0,20
	CR	1,00 ± 0,08

Tabella 41. Contenuto totale di zuccheri liberi espresso in % m/m (g/100g) con relativa deviazione standard

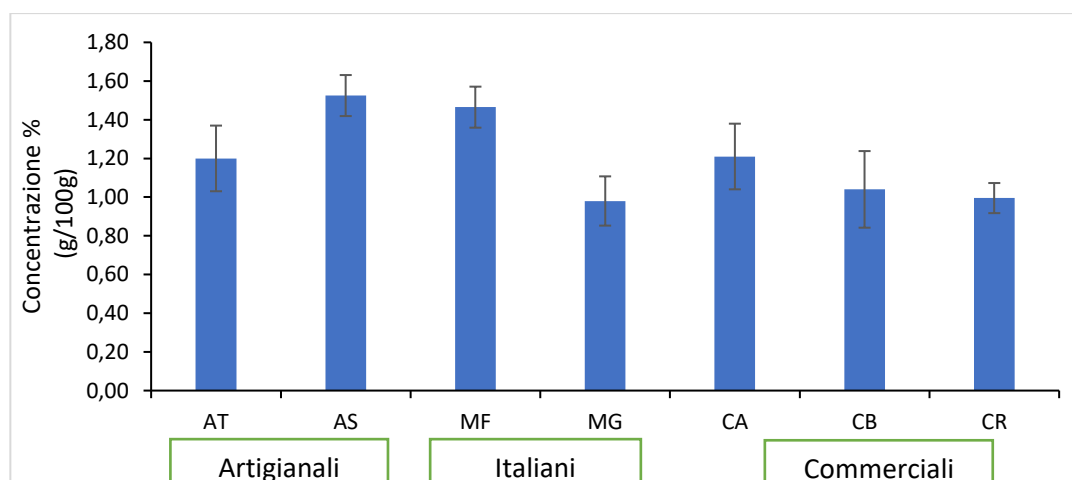


Grafico 30. Contenuto totale di zuccheri espresso in % m/m (g/100g)

CATEGORIA	CAMPIONE	ZUCCHERI	% m/m
Artigianali	AT	MALTOSIO	1,20 ± 0,17
		GLUCOSIO	n.d
		ARABINOSIO	n.d
	AS	MALTOSIO	0,84 ± 0,24
		GLUCOSIO	0,16 ± 0,05
		ARABINOSIO	0,52 ± 0,39
Italiani	MF	MALTOSIO	1,47 ± 0,10
		GLUCOSIO	n.d
		ARABINOSIO	n.d
	MG	MALTOSIO	0,98 ± 0,13
		GLUCOSIO	n.d
		ARABINOSIO	n.d
Commerciali	CA	MALTOSIO	1,21 ± 0,18
		GLUCOSIO	n.d
		ARABINOSIO	n.d
	CB	MALTOSIO	0,58 ± 0,33
		GLUCOSIO	0,19 ± 0,02
		ARABINOSIO	0,27 ± 0,09
	CR	MALTOSIO	0,75 ± 0,02
		GLUCOSIO	n.d
		ARABINOSIO	0,25 ± 0,06

Tabella 42. Contenuto per singolo zucchero nei campioni espresso in % m/m (g/100g) con relativa deviazione standard

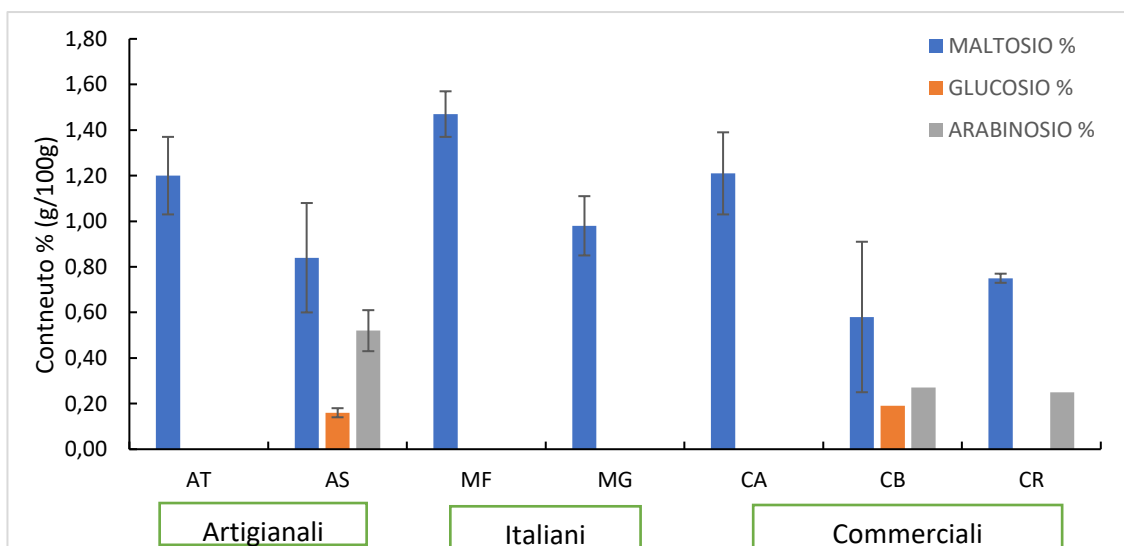


Grafico 31. Contenuto di ogni zucchero rilevato nei campioni espresso in % m/m (g/100g)

Analisi dell'umidità

Per l'analisi dell'umidità viene utilizzato un forno termoregolato e preriscaldato alla temperatura di 130°-135°C all'interno del quale vengono posti i campioni precedentemente preparati. I campioni vengono lasciati una prima volta nel forno per 60 minuti e vengono poi pesati. Vengono reinseriti nel forno per 30 minuti e vengono poi ripesati. Quest'ultima operazione è ripetuta fino ad ottenere due pesate a peso costante.

Dopo aver ottenuto due pesate uguali si può procedere con il calcolo dell'umidità con la formula:

$$\% \text{ umidità} = \frac{P_{iniziale} (g) - P_{finale} (g)}{P_{iniziale} (g)} \times 100$$

CATEGORIA	CAMPIONE	% m/m
Artigianali	AT	12,61 ± 0,15
	AS	13,36 ± 0,12
Italiani	MF	12,56 ± 0,07
	MG	10,73 ± 0,16
Commerciali	CA	9,62 ± 0,13
	CB	12,85 ± 0,08
	CR	12,63 ± 0,04

Tabella 43. Contenuto di umidità espresso in % m/m (g/100g)

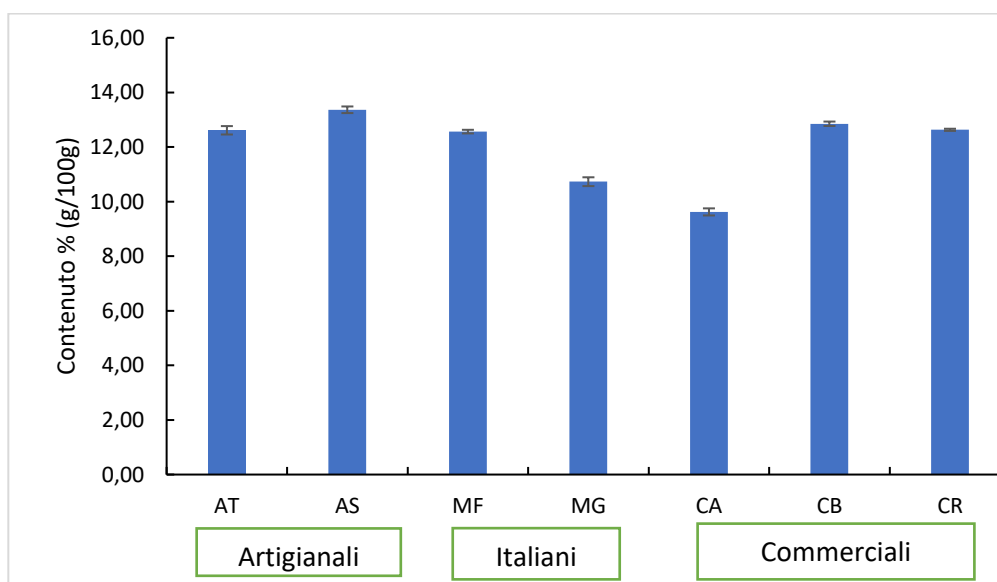


Grafico 32. Contenuto di umidità espresso in % m/m (g/100g)

Discussione

Dall'analisi elementare risulta un contenuto medio di carbonio di circa il 40%, di idrogeno di circa il 6% e di azoto che si aggira tra 1,2 e 3%. Dalla percentuale di azoto è stato possibile ottenere il contenuto proteico totale che presenta leggere variazioni in base alla tipologia di grano considerata. Dai dati emerge che i campioni italiani e quelli artigianali presentano un contenuto di azoto pressoché simile, pari rispettivamente al 13 % e 12 %. I campioni Commerciali, invece, presentano il valore di proteina più basso tra i campioni analizzati pari al 9,4%, valore significativamente minore dagli altri. Si può quindi affermare che le farine di grano saraceno ottenute con prodotto italiano hanno un tenore proteico maggiore di quelle provenienti da paesi UE o extra-UE.

Dall'analisi precedentemente svolte sulle vitamine B risulta che il grano saraceno risulta esserne particolarmente ricco. Nello specifico, ha un buon contenuto di vitamina B3 (niacina) con valori di circa 1,5 mg/100g, di B5 (acido pantotenico) con circa 2 mg/100g e anche di B1 (tiamina) e B6 (piridossina) con circa 0,4 mg/100g ciascuna (Bonafaccia et al., 2003).

Tra le diverse categorie di campioni analizzate è possibile osservare che i grani italiani presentano il tenore di vitamina maggiore con circa 6,2 mg/100g, seguita dai campioni artigianali con 5,5 mg/100g e infine i commerciali con il valore più basso di 4,8 mg/100mg. Il campione che mediamente ne contiene di più è il campione italiano "MF" di Traviso con 6,2 mg/100g mentre quello con valore più basso è il campione commerciale "CB" di origine UE con 4,5 mg/100g.

I valori ottenuti con le analisi svolte sono molto simili a quelli riscontrati in letteratura anche se sono leggermente più bassi. Questo può essere dovuto a una estrazione non completa durante la preparazione del campione legata probabilmente al fatto che le vitamine B nel grano saraceno si trovano in parte legate a complessi proteici che possono ridurre l'estrazione. In particolare, la tiamina (B1) è particolarmente difficile da estrarre perché si trova per la maggior parte legata alle proteine TBP.

In generale dai dati ottenuti è possibile sostenere che le farine provenienti dal territorio italiano abbiano un maggiore contenuto di vitamine rispetto alle farine provenienti da altri Paesi. Per questo aspetto qualitativo il miglior grano saraceno risulta essere quello coltivato in Veneto.

Nel grano saraceno sono stati identificati polifenoli appartenenti a due diverse classi, i flavanoli e i flavonoli. Per i flavanoli, che sono derivati della catechina, i composti identificati attraverso la loro frammentazione in spettrometro di massa sono: epiafzelchin-epicatechina isomero D, epicatechina-epigallocatechina dimetil gallato, epiafzelchin-epicatechina-epicatechina, epiafzelchin-epiafzelchin-

epicatechina, epiafzelchin-epicatechina dimetil gallato, epicatechina dimetil gallato, epiafzelchin-epiafzelchin-epicatechina dimetilgallato. Per i flavonoli sono stati identificati solamente due composti, la rutina e il kaempferolo 3-rutinoside. I campioni con più composti identificati sono i grani di origine italiana seguiti da quelli artigianali, mentre le farine commerciali sono quelle con il minor numero di composti identificati.

Per la quantificazione dei diversi polifenoli sono stati utilizzati due standard, la rutina per quantificare i flavonoli e la catechina per i flavanoli. Il polifenolo presente in tutti i campioni e in quantità rilevante è la rutina che rappresenta circa, in base al campione considerato, il 30% dei polifenoli totali identificati e quantificati. La rutina ha una potente capacità antiossidante e risulta utile nel contrastare i radicali liberi, capacità che dipende però dalla concentrazione del composto nell'alimento assunto. Alcuni autori hanno dimostrato che la rutina riduce significativamente il danno della mucosa gastrica prodotto dall'instillazione intragastrica dell'agente necrotizzante e aumenta l'attività di GSHPx (Casa et al., 2000). Altri autori hanno analizzato l'azione sinergica della rutina con altri antiossidanti osservando una protezione sinergica delle LDL contro l'ossidazione della parte lipidica e della parte proteica (Milde et al., 2004). Questi risultati potrebbero essere correlati alla forte attività antiossidante della rutina, ma sono necessarie ulteriori ricerche poiché l'assorbimento della rutina intatta è molto scarso e si manifesta il metabolismo di questa in una varietà di composti che possono essere assorbiti, portando ad una riduzione degli effetti benefici di questo composto.

Inoltre, nei campioni artigianali e commerciali è rilevante la presenza di kaempferolo 3-rutinoside, che invece non è stato trovato nei campioni italiani. In questi ultimi sono stati invece identificati molti più composti derivati della catechina.

In generale la categoria più ricca di polifenoli risulta essere quella dei grani italiani con 2,8 µg/mg, seguita da quelli artigianali con 2.2 µg/mg e infine da quelli commerciali con 1.4 µg/mg. I grani di origine italiana e coltivati in Veneto ne possiedono un quantitativo significativamente superiore rispetto alle altre due categorie. Il campione con il contenuto maggiore è "MF" di Treviso con 3,7 µg/mg, mentre il campione con il contenuto più scarso è "CB" di origine UE con 0,8 µg/mg.

Il basso contenuto di "CB" è legato al fatto che è l'unico campione di farina ottenuto dalla macinazione del seme senza la crusca, che è la parte più ricca di polifenoli.

Dall'analisi del contenuto dei lipidi totali nella farina di grano saraceno si osserva che il contenuto totale rappresenta circa lo 2,1% della matrice analizzata. Per quanto riguarda il contenuto totale di lipidi viene registrato per i campioni artigianali con un valore di 2,6%, seguiti dai campioni commerciali con 2,1% e infine i campioni italiani con 1,7%.

Per quanto riguarda la qualità dei lipidi contenuti questi si possono dividere in 3 categorie SFA (acidi grassi saturi), MUFA (acidi grassi monoinsaturi), PUFA (acidi grassi polinsaturi). Il rapporto SFA:MUFA:PUFA è di circa 34:33:33, dato confermato dai dati in letteratura, anche se è molto variabile tra i vari campioni. Infatti, i campioni della serie commerciale presentano un contenuto relativo di SFA maggiore rispetto alle altre serie di campioni, mentre i campioni italiani pur avendo un basso contenuto totale di lipidi questi sono per la maggior parte insaturi. Infatti, i PUFA rappresentano circa il 39.5% degli acidi grassi, i MUFA circa il 34% degli acidi grassi e solo il 26.5% sono SFA. Nei campioni commerciali invece abbiamo valori opposti, i PUFA rappresentano solo il 25% degli acidi grassi, i MUFA sempre circa il 25% e il 50% sono SFA. I campioni artigianali sono i più bilanciati perché presentano un elevato contenuto di lipidi e di buona qualità (PUFA circa 34.5%, MUFA circa 37.5% e SFA il 28%).

Gli zuccheri liberi sono la parte di carboidrati che risulta essere immediatamente disponibile durante la digestione e solitamente rappresentano una piccola parte nelle farine che sono composte per la maggior parte da amido e fibre. All'interno del grano saraceno troviamo come zucchero libero principalmente il maltosio e in alcuni casi tracce di glucosio e arabinosio. Il maltosio è l'unico zucchero semplice che è stato identificato in tutti i campioni ed è presente in quanto prodotto dalla degradazione enzimatica dell'amido da parte delle α -e β -amilasi.

In tutti i campioni analizzati è stato rilevato un contenuto di zuccheri liberi variabile tra 1 e 1,5%. La differenza tra i diversi campioni è legata principalmente alla presenza di enzimi endogeni nella farina. Degli zuccheri rilevati il maltosio ne rappresenta sempre almeno il 50% e in alcuni casi risulta essere l'unico zucchero rilevato durante le analisi.

L'analisi dell'umidità, svolta per verificare se il contenuto in acqua delle diverse farine fosse inferiore a quanto stabilito dalla legge DPR 9 febbraio 2001, n. 187, che indica come valore limite il 15,5% di umidità massima per la commercializzazione. L'analisi è stata svolta con metodo ufficiale UNI-EN-ISO 712-2009 e dai risultati ottenuti si nota che nessuna delle farine supera questo valore. Infatti, la media tra i vari campioni si attesta circa sul 12% con un valore massimo nel campione artigianale "AS" Sarnonico Val di Non, 13,4% e un valore minimo nel campione commerciale "CA" di origine UE 9.6%.

Conclusione

Il presente studio ha rilevato la presenza di differenze significative a livello qualitativo tra le diverse farine di grano saraceno coltivate in luoghi differenti. In particolare, dalle analisi svolte emerge che il grano saraceno con la migliore qualità nutrizionale è quello coltivato e trasformato in Veneto. Questo presenta un maggior contenuto di tutti i principali nutrienti presi in considerazione con l'esclusione dei lipidi totali, i quali però presentano un maggior contenuto acidi grassi insaturi come acido linoleico e acido oleico rispetto agli altri campioni.

Le farine artigianali presentano valori spesso molto simili a quelli delle altre farine italiane e possono essere quindi ritenuti prodotti di buona qualità soprattutto per quanto riguarda i lipidi e i polifenoli. Infatti, presentano il contenuto totale più alto di lipidi con un buon bilanciamento tra SFA, MUFA, PUFA e sono i campioni con il contenuto più alto di rutina, il principale tra i polifenoli del grano saraceno, a cui sono attribuite diverse funzioni, tra cui principalmente quella di antiossidante.

Le farine che hanno dimostrato avere un profilo chimico nutrizionale inferiore sono quelle provenienti da paesi UE (Polonia) e da paesi extra UE in quanto caratterizzate da valori più bassi su quasi tutti i valori nutrizionali presi in considerazione. Tra le farine commerciali quella con qualità maggiore è CA, farina biologica di provenienza UE.

Si può dunque sostenere che il luogo di produzione e le pratiche agronomiche effettuate sul grano saraceno ne impattino la qualità nutrizionale. In particolare, i fattori che maggiormente influenzano gli aspetti nutrizionali valutati sono la cultivar scelta al momento della semina che in base alla sua genetica influenzerà la quantità di nutrienti prodotti dalla pianta. Altro fattore importante è il terreno sul quale viene coltivata la pianta. Se il terreno presenta le caratteristiche più vicine a quelle ottimali per la coltura quindi, terreni leggeri ma che si mantengono umidi durante la stagione, anche con irrigazioni se necessario localizzati in ambienti preferibilmente collinari o montuosi compresi nella fascia tra 500 e 2500 m.s.l.m.. Inoltre, i terreni non devono essere troppo fertili e ricchi perché potrebbero causare l'allettamento della pianta. Anche l'apporto di minerali e sostanza organica tramite concimi e ammendanti deve essere curata per evitare eccessi o carenze di macro e microelementi. Infine, l'andamento climatico stagionale può influenzare la qualità del grano saraceno. Questo studio pilota ha permesso di confermare che il grano saraceno è una farina con un basso indice glicemico, con un buon contenuto di vitamine B e di polifenoli, utile nella dieta grazie alle sue

interessanti proprietà. In generale si è osservato come i grani “Italiani” e quelli “artigianali” della Val di Non, abbiano un profilo chimico nutrizionale migliore per tutti gli analiti che sono stati considerati.

Bibliografia

- Aubrecht, E., & Biacs, P. Á. (2005). Immunochemical analysis of buckwheat proteins, prolamins and their allergenic character. *Acta Alimentaria*, 28(3), 261–268. <https://doi.org/10.1556/AALIM.28.1999.3.5>
- Bharali, S., & Chrungoo, N. K. (n.d.). *Amino acid sequence of the 26 kDa subunit of legumin-type seed storage protein of common buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench): molecular characterization and phylogenetic analysis*. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00755-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00755-0)
- Bonafaccia, G., Marocchini, M., & Kreft, I. (2003). Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chemistry*, 80(1), 9–15. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00228-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00228-5)
- Borghi, B. (1995). *Buckwheat in Italy, State of the Art and Preliminary Results*. 65–70.
- Brunori, A., Sándor, G., Baviello, G., Zannettino, C., Corsini, G., & Végvári, G. (2009). The Use of Tartary Buckwheat Whole Flour To Introduce Rutin in Preventive Amounts in Bread Typical of the Region of Tuscany (Central Italy). *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI -- Food Technology*, 3(33), 45–48. <https://widgets.ebscohost.com/prod/customerspecific/ns000545/customproxy.php?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edb&AN=59309266&lang=pt-pt&site=eds-live&scope=site>
- Buckwheat: Fagopyrum Esculentum Moench - Clayton Garnet Campbell - Google Libri*. (n.d.). Retrieved June 19, 2023, from https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=YidolKsl3NsC&oi=fnd&pg=PA4&dq=campbell+1997+buckwheat+&ots=34NXNiLB6T&sig=filpUA0dUjHm4astnh1TX0o4lx4&redir_esc=y#v=onepage&q=campbell%201997%20buckwheat&f=false.
- Chen, Q. F. (1999). A study of resources of *Fagopyrum* (Polygonaceae) native to China. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 130(1), 53–64. <https://doi.org/10.1006/BOJL.1998.0236>
- Cho, Y. J., Bae, I. Y., Inglett, G. E., & Lee, S. (2014). Utilization of tartary buckwheat bran as a source of rutin and its effect on the rheological and antioxidant properties of wheat-based products. *Industrial Crops and Products*, 61, 211–216. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.003>
- Christa, K., & Soral-Śmietana, M. (n.d.). Buckwheat Grains and Buckwheat Products-Nutritional and Prophylactic Value of their Components-a Review. *Czech J. Food Sci*, 26(3), 153–162.
- Derek, J., & Bradford, K. J. (n.d.). *E05_978-1-4614-4692-7_01*.
- Dietary Fish Oil Reduces O6-Methylguanine DNA Adduct Levels in Rat Colon in Part by Increasing Apoptosis during Tumor Initiation1 | Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention | American Association for Cancer Research*. (n.d.). Retrieved June 20, 2023, from <https://aacrjournals.org/cebpa/article/9/8/819/179865/Dietary-Fish-Oil-Reduces-O6-Methylguanine-DNA>.
- Dietrych-Szostak, D., & Oleszek, W. (1999). *Effect of Processing on the Flavonoid Content in Buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) Grain*. <https://doi.org/10.1021/jf990121m>
- Dorrell, D. G. (1971). Fatty acid composition of buckwheat seed. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 48(11), 693–696. <https://doi.org/10.1007/BF02638522>

- Eggum, B. O., Kreft, I., & Javornik, B. (n.d.). *Chemical composition and protein quality of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench)*.
- Elpidina, E. N., Voskoboynikova, N. E., Belozersky, M. A., Dunaevsky, Y. E., & Belozersky, A. N. (1991). Localization of a metalloproteinase and its inhibitor in the protein bodies of buckwheat seeds. *Planta*, *185*, 46–52.
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, *46 Suppl 2(SUPPL. 2)*, S33-50. <https://europepmc.org/article/med/1330528>
- Ferguson, L. R. (2001). Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, *475(1–2)*, 89–111. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(01\)00073-2](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(01)00073-2)
- Flora rossica: sive, Enumeratio plantarum in totius imperii Rossici ... - Carl Friedrich von Ledebour - Google Libri*. (n.d.). Retrieved July 6, 2023, from https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=jv1NAAAACAAJ&oi=fnd&pg=PA1&ots=a37OtzF5mN&sig=Gnrm01naZrTwD5Pv-eWYRSYZW4M&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false.
- Fornal, L. (1999). Chemizm nasion gryki i kierunki spozywczego wykorzystania. *Biuletyn Naukowy. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie*, *04*, 7–17.
- GÜNEŞ BAYIR, A., AKSOY, A. N., & KOÇYİĞİT, A. (2019). The Importance of Polyphenols as Functional Food in Health. *Bezmialem Science*, *7(2)*, 157–163. <https://doi.org/10.14235/BAS.GALENOS.2018.2486>
- Handoyo, T., Maeda, T., Urisu, A., Adachi, T., & Morita, N. (2006). Hypoallergenic buckwheat Xour preparation by *Rhizopus oligosporus* and its application to soba noodle. *Food Research International*, *39*, 598–605. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.12.003>
- Huber, A., & Praznik, W. (1996). Molecular Characteristics of Glucans: High-Amylose Cornstarch. *ACS Symposium Series*, *635*, 351–365. <https://doi.org/10.1021/BK-1996-0635.CH019>
- Ikeda 1991.pdf*. (n.d.).
- Ikeda, K., & Kusano, T. (1983). Purification and Properties of the Trypsin Inhibitors from Buckwheat Seed. *Agricultural and Biological Chemistry*, *47(7)*, 1481–1486. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.47.1481>
- Ikeda, S., & Yamashita, Y. (1994). Buckwheat as a dietary source of zinc, copper and manganese. *Fagopyrum*, *14*, 29–34.
- Ikeda, S., Yamashita, Y., Tomurai, K., & Kreff2, I. (2006). Nutritional comparison in mineral characteristics between buckwheat and cereals. *Fagopyrum*, *23*, 61–65.
- Insel, P., Ross, D., McMahon, K., & Bernstein, M. (2011). *Nutrition*, Jones and Bartlett Publishers. Sudbury, MA.
- Jahaniaval, F., Kakuda, Y., & Marcone, M. F. (2000). Fatty acid and triacylglycerol compositions of seed oils of five *Amaranthus* accessions and their comparison to other oils. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *77(8)*, 847–852. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0135-0>
- Jenkins, D. J. A., Wolever, T. M. S., Taylor, R. H., Barker, H., Jenkins, A. L., Goff, D. V., & Biol, M. (1981). *Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange 3*.
- Kim, S.-L., Kim, S.-K., & Park, C.-H. (n.d.). *Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.12.008>

- Konishi, T., Yasui, Y., & Ohnishi, O. (1957). Transmittance of cultivated plants through Sino-Himalayan route. *Peoples of Nepal Himalaya*, 80(2), 113–119. <https://doi.org/10.1266/GGS.80.113>
- Kreft, I., Fabjan, N., & Yasumoto, K. (n.d.). *Rutin content in buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) food materials and products*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.081>
- Kreft, I., Javornik, B., Oddelek, A., & Fakulteta, B. (2014). *Characterization of buckwheat protein Fagopyrwn (1984) 4 CHARACTERIZATION OF BUCKWHEAT PROTEINS*. <https://www.researchgate.net/publication/239570875>
- Krkošková, B., & Mrázová, Z. (n.d.). *Prophylactic components of buckwheat*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.11.009>
- Krotov, A. S. (1963). Buckwheat. *Buckwheat*.
- Li, S. Q., & Howard Zhang, Q. (2001). Advances in the development of functional foods from buckwheat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(6), 451–464. <https://doi.org/10.1080/20014091091887>
- Lintschinger, J., Fuchs, N., Moser, H., Jager, R., Hlebeina, T., Markolin, G., & Gossler, W. (1997). Uptake of various trace elements during germination of wheat, buckwheat and quinoa. *Plant Foods for Human Nutrition*, 50, 223–237.
- M I OHNISHI Ohnishi, O. H. (1998a). SEARCH FOR THE WILD ANCESTOR OF BUCKWHEAT III. THE WILD ANCESTOR or CULTIVATED COMMON BUCKWHEAT~ AND OF TATARY BUCKWHEAT 1'2. *Economic Botany*, 52(2), 123–133.
- M I OHNISHI Ohnishi, O. H. (1998b). SEARCH FOR THE WILD ANCESTOR OF BUCKWHEAT III. THE WILD ANCESTOR or CULTIVATED COMMON BUCKWHEAT~ AND OF TATARY BUCKWHEAT 1'2. *Economic Botany*, 52(2), 123–133.
- Mazza, G. (1988). Lipid content and fatty acid composition of buckwheat seed. *Cereal Chem.*, 65, 122–126.
- Milde, J., Elstner, E. F., & Graßmann, J. (2004). Synergistic inhibition of low-density lipoprotein oxidation by rutin, γ -terpinene, and ascorbic acid. *Phytomedicine*, 11(2–3), 105–113. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00380>
- Mitsunaga, T., Matsuda, M., Shimizu, M., & Iwashima, A. (1996). Isolation_and_properties_of_a_thiamine_binding_Protein_from_buckwheat_seed. *Cereal Chemistry*, 63(4), 332–335.
- Motta, C., Delgado, I., Matos, A. S., Gonzales, G. B., Torres, D., Santos, M., Chandra-Hioe, M. V., Arcot, J., & Castanheira, I. (2017). Foliates in quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus* sp.) and buckwheat (*Fagopyrum esculentum*): Influence of cooking and malting. *Journal of Food Composition and Analysis*, 64, 181–187. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2017.09.003>
- Noda, T., Takahata, Y., Sato, T., Suda, I., Morishita, T., Ishiguro, K., & Yamakawa, O. (n.d.). *Relationships between chain length distribution of amylopectin and gelatinization properties within the same botanical origin for sweet potato and buckwheat*.
- NorEs OF BUCKWHEAT AT TWO SOIL MOISTURE REGIMES. (n.d.).
- Origine des plantes cultivées - Alphonse de Candolle - Google Libri. (n.d.). Retrieved July 6, 2023, from https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=vO8HAAAAIAAJ&oi=fnd&pg=PA1&ots=YP_84L7Biv&sig=qy9sBd1zzT2ghX2OZYGxeekl8KM&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false.

- Oxidative Stress and Hormesis in Evolutionary Ecology and Physiology: A ...* - David Costantini - Google Libri. (n.d.). Retrieved June 20, 2023, from https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=rTe8BAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR9&dq=Costantini+et+al.,+2014&ots=f23GSJZgXw&sig=IYzIH_yTDM7t1bcDwmlGa_fNor4&redir_esc=y#v=onepage&q=Costantini%20et%20al.%2C%202014&f=false.
- Physical Properties of Buckwheat Starches from Various Origins.* (n.d.). Retrieved June 19, 2023, from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/%28SICI%291521-379X%28199903%2951%3A2%3C81%3A%3AAID-STAR81%3E3.0.CO%3B2-I>.
- Pomeranz, Y., & Robbins, G. S. (1972). Amino Acid Composition of Buckwheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20(2), 270–274. <https://doi.org/10.1021/jf60180a029>
- Przybylski, R., Lee, Y. C., & Eskin, N. A. M. (1998). Antioxidant and radical-scavenging activities of buckwheat seed components. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(11), 1595–1601. <https://doi.org/10.1007/S11746-998-0099-3>
- Qian, J., Rayas-Duarte, P., & Grant, L. (1998). Partial characterization of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) starch. *Cereal Chemistry*, 75(3), 365–373. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1998.75.3.365>
- Rapala-Kozik, M., Chernikevich, I. P., & Kozik, A. (1999). Ligand-Protein Interaction in Plant Seed Thiamine-Binding Proteins. Binding of Various Thiamine Analogues to the Sepharose-Immobilized Buckwheat-Seed Protein. *Journal of Protein Chemistry*, 18(6).
- Roberfroid, M., Gibson, G. R., & Delzenne, N. (1993). The Biochemistry of Oligofructose, a Nondigestible Fiber: An Approach to Calculate Its Caloric Value. *Nutrition Reviews*, 51(5), 137–146. <https://doi.org/10.1111/J.1753-4887.1993.TB03090.X>
- Skrabanja, V., & Kreft, I. (1998). *Resistant Starch Formation Following Autoclaving of Buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) Groats. An In Vitro Study.* <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Skrabanja, V., Kreft, I., Golob, T., Modic, M., Ikeda, S., Ikeda, K., Kreft, S., Bonafaccia, G., Knapp, M., & Kosmelj, K. (2004). Nutrient Content in Buckwheat Milling Fractions. *Cereal Chemistry*, 81(2), 172–176. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2004.81.2.172>
- Skrabanja, V., Liljeberg, H. G. M., Hl, E., Kreft, I., & Björck, I. M. E. (2001). *Nutritional Properties of Starch in Buckwheat Products: Studies in Vitro and in Vivo.* <https://doi.org/10.1021/jf000779w>
- Steadman, K. J., Burgoon, M. S., Lewis, B. A., Edwardson, S. E., & Obendorf, R. L. (2001). Buckwheat Seed Milling Fractions: Description, Macronutrient Composition and Dietary Fibre. *Journal of Cereal Science*, 33, 271–278. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0366>
- Steward, A. N. (1930). The Polygoneac of eastern Asia. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*, 88.
- Taira, H., & Chang, W. L. (1986). Lipid Content and Fatty Acid Composition of Indica and Japonica Types of Nonglutinous Brown Rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(3), 542–545. <https://doi.org/10.1021/jf00069a043>
- Tsuzuki, E., Yamamoto, Y., & Shimizu, T. (1987). Fatty acids in buckwheat are growth inhibitors. *Annals of Botany*, 60(1), 69–70. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087423>
- Verardo, V., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Marconi, E., Fernández-Gutiérrez, A., & Caboni, M. F. (2010). Identification of buckwheat phenolic compounds by reverse phase high performance liquid

chromatography–electrospray ionization–time of flight–mass spectrometry (RP-HPLC–ESI-TOF-MS). *Journal of Cereal Science*, 52(2), 170–176. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2010.04.009>

Wijngaard, H. H., & Arendt, E. K. (2006). Buckwheat. *Cereal Chemistry*, 83(4), 391–401. <https://doi.org/10.1094/CC-83-0391>

Yoshimoto, Y., Egashira, T., Hanashiro, I., Ohinata, H., Takase, Y., & Takeda, Y. (2004). *Molecular Structure and Some Physicochemical Properties of Buckwheat Starches; Molecular Structure and Some Physicochemical Properties of Buckwheat Starches*. 81(4), 515. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2004.81.4.515>

Zhang, W., Zhu, Y., Liu, Q., Bao, J., & Liu, Q. (2017). Identification and quantification of polyphenols in hull, bran and endosperm of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) seeds. *Journal of Functional Foods*, 38, 363–369. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.09.024>

Zhou, Y., Zheng, J., Li, Y., Xu, D. P., Li, S., Chen, Y. M., & Li, H. bin. (2016). Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Cancer. *Nutrients*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/NU8080515>

Zielinski, H., Kozłowska, H., & Lewczuk, B. (2001). Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2(3), 159–169. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(01\)00040-6](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(01)00040-6)