

# Ricerche di Qualità e Sviluppo Rurale

n° 3\_2016 - Rintracciabilità geografica dell'  
AGLIONE DELLA VALDICHIANA



**Team R&S di QSR**

# Indice

Introduzione .....	3
Rintracciabilità.....	8
I marker.....	13
<i>Il selenio</i> .....	13
<i>I fenoli e i polifenoli</i> .....	19
Conclusioni .....	26
Bibliografia.....	29

## Qualità e Sviluppo Rurale srl

Team R&S di QSR  
Piazza Grande,7  
53045 Montepulciano (Siena)  
[www.qualitaesvilupporurale.it](http://www.qualitaesvilupporurale.it)

Riproduzione autorizzata citando la fonte.

Finito di editare 22/12/2016

Progetto "Ricerche di Qualità e Sviluppo Rurale"  
realizzato con il contributo di :

### **Banca di Credito Cooperativo di Montepulciano soc. coop.**

Via Mario Mencattelli, 48 - 53045 Montepulciano (SI)  
Tel. 0578 7111 (centralino) - Fax 0578 711901 - C.F. e P.IVA 00045810520  
[www.bccmp.com](http://www.bccmp.com)

Responsabile della ricerca:

**Dott. Stefano Biagiotti**

Coordinatrice della ricerca:

**Dott.ssa Chim. Francesca Sordi**

Ricercatrice:

**Dott.ssa Roberta Ripoli**

## Introduzione

Il genere *Allium* è noto in tutto il mondo per le sue innumerevoli caratteristiche <sup>(1)</sup>. Esse spaziano in vari campi: nella tradizione popolare di tutto il mondo hanno sempre avuto una certa rilevanza le sue proprietà disinfettanti e antimicrobiche o quelle di tonico naturale; ancora più vasto è il suo utilizzo culinario, nella cucina di tutto il mondo, fino ad arrivare alle specie ornamentali, di cui è facile vedere qualche esemplare.

CLASSIFICAZIONE SCIENTIFICA	
REGNO	Plantae
(NC)	Angiosperme
(NC)	Monocotiledoni
ORDINE	Asparagales
FAMIGLIA	Amaryllidaceae
SubFAMIGLIA	Allioideae
GENERE	Allium
SPECIE	A. Ampeloprasum
SubSPECIE	Var. HOLMENSE

**Fig. n.1** Classificazione scientifica dell'Aglione della Valdichiana

Nome scientifico: *Allium Ampeloprasum var. Holmense*

Il genere *Allium* è ricchissimo di specie (oltre 800), largamente diffuse nel nostro emisfero e dall'elevata biodiversità. Tuttavia, in queste pagine, si ha in essere la volontà di trattare di una specie in particolare di *Allium*, ovvero l'*Allium ampeloprasum var. Holmense*, conosciuto anche come *Elephant garlic* o *Aglione*. Questa peculiare specie ha avuto origine da una mutazione spontanea del comune *porraccio*. Si ipotizza che queste piantine siano i derivati di una lunga selezione massale <sup>(2; 4)</sup>, ovvero effettuata dall'uomo, su base fenotipica ed empirica (cioè scegliendo empiricamente i prodotti migliori per l'aspetto e meno soggetti ad infezioni e parassitosi). Le cellule intatte di tutti gli *Allium* contengono *alliina*, un amminoacido inodore che per azione dell'enzima *alliinasi*, liberantesi con la rottura del bulbo, si trasforma in allicina, composto fortemente odoroso e caratteristico. La scarsa quantità di *alliina* presente nell'*Aglione*, rispetto agli altri *Allium*, rappresenta una delle differenze caratterizzanti, di questa pianta.

L'*Aglione* è una geofita bulbosa, perennante. Le radici sono fascicolate, codiformi. Il fusto è ridotto ad un dischetto di diametro di qualche centimetro. Dalla zona sottostante il girello si originano radici fascicolate, mentre sulla parte superiore si originano i bulbilli che formano il bulbo. Le foglie

alla base abbracciano il fusto, mentre distalmente sono lineari-nastriformi, acuminate, di colore verde, lunghe fino a 50 cm. Le foglie più interne sono avvolte tra loro, per lunghezze sempre crescenti, a formare un “falso stelo”, di altezza variabile. Lo scapo florale è cilindrico, pieno, ricurvo in età giovanile. In piena fioritura è eretto e può raggiungere un'altezza di 60-80 cm. Apicalmente è presente un'infiorescenza ad ombrella avvolta da una brattea appuntita (foglia modificata a funzione protettiva). Una volta schiusa, l'ombrella porta 150-200 piccoli fiori ermafroditi. Il perigonio di questi fiori, sostenuti da un peduncolo, presenta 3 petali sterili, definiti, tepali, lanceolati (ellittico con entrambe le punte acuminate), saldati alla base e che ritroviamo nel frutto. L'androceo presenta 6 stami, disposti su due verticilli; il gineceo è costituito da un ovario supero, triloculare, sincarpico con un solo stilo dritto, filiforme, terminante con uno stigma intero. Il frutto è una capsula loculicida trivalve che a maturità emette, per ogni loggia, uno o due semi triangolati, racchiusi da un tegumento nero.

La maggior parte dei semi si mantengono verdi fino all'autunno e poi disseccano il resto dell'ombrella; solo pochi riescono a maturare regolarmente.

Il bulbo è di colore bianco-avorio, con un diametro che varia tra i 10 e i 15 cm circa; ogni bulbo è composto da 3-6 bulbilli, ed è rivestito da foglie interne ed esterne. Queste sono sterili, hanno funzione protettiva e a tale scopo hanno subito una mutazione che le rende simili al papiro. Le foglie interne, invece, sono fertili e disposte concentricamente a creare la “culla” in cui dalla gemma si originerà il bulbillo. Anche i singoli bulbilli presentano una foglia protettiva, sempre di colore bianco, coriacea.

Per quanto riguarda la coltivazione e il suo ciclo di sviluppo, l'Aglicione ha una tempistica di 240-270 giorni, articolata nelle seguenti fasi: germogliamento, emergenza, accrescimento vegetativo, ingrossamento bulbo, emissione scapo florale, maturazione.

La semina avviene ai primi di ottobre. La temperatura ottimale di crescita per questa pianta è compresa tra i 15° e i 20° C, anche se il processo germinativo inizia già a temperature più basse.

I bulbilli appena raccolti sono incapaci di germogliare, in quanto entrano in uno stato di dormienza, favorito dalla presenza di un ormone, l'acido abscissico. Il periodo di quiescenza termina con la scomparsa di questo ormone e l'aumento concomitante dell'acido indolacetico, nelle scaglie esterne. Anche la temperatura, influisce sullo stato di dormienza della pianta<sup>(45)</sup>.



**Fig. n.2** Bulbo di Aglione della Valdichiana.

Da questa prospettiva è possibile apprezzare i bulbilli al suo interno.

Fenotipicamente, l'*Aglione*, è caratterizzato da grandi bulbilli e di conseguenza, da bulbi di notevoli dimensioni, soprattutto se paragonato all'aglio comune <sup>(1)</sup>. Allo stesso modo l'ombrello floreale che lo compone è di dimensioni notevoli, del tutto simile a quello tipico dell'aglio comune, ma, a differenza di quest'ultimo è per lo più sterile. La forma principale di propagazione è infatti quella vegetativa, ovvero una forma di riproduzione asessuata, che permette a queste piante di originare cloni di se stessi, attraverso la trasformazione e lo sviluppo di una struttura/organo preesistente in modo spontaneo <sup>(3)</sup>. Nel caso specifico in analisi, questa struttura è il *rizoma*, un organo la cui funzione è principalmente quella di riserva. Questa modificazione del fusto <sup>(3)</sup>, ingrossato e sotterraneo, ha principalmente funzione di riserva; contiene amido e tessuti parenchimatici, ovvero riempitivi, specializzabili, con alte attività metaboliche. La selezione massale a cui sono state sottoposte le piantine dell'*Elephant garlic*, ha determinato questa evoluzione riproduttiva e le dimensioni delle relative piantine sono principalmente/direttamente collegabili alla poliploidia, la presenza, cioè, di più assetti cromosomici completi. Sempre alla propagazione vegetativa è collegabile la scarsa resa produttiva, che ha portato alla quasi estinzione delle piante. Esse sono infatti tipici prodotti della tradizione orto-culturale della Valdichiana e della Val d'Orcia, che si estendono tra le provincie di Siena, Arezzo e Perugia; ragion per cui ci si riferirà alla specifica cultivar *Aglione della Valdichiana*, d'ora in poi, con l'appellativo di "Aglione"

L'Aglione deve la scarsa resa produttiva alla sua modalità replicativa, ma non solo. La coltivazione scarsamente meccanizzata, l'esigua superficie coltivata, gli alti costi di produzione, la manodopera e il reperimento delle sementi, oltre alle difficoltà contingenti di raccolta e semina, sono tutti aspetti che concorrono a rendere questo un prodotto di nicchia, sempre meno conosciuto e apprezzato, col rischio sempre più cocente di un progressivo e penoso abbandono di questa cultivar <sup>(4)</sup>.

\*\*\*

Il terreno per la coltivazione dell'Aglione deve essere sciolto, sabbioso, di medio impasto, senza ristagni di acqua ma umido nel sottosuolo. Prima della semina il terreno deve essere rovesciato per interrare ogni residuo colturale. La messa a dimora del bulbillo si effettua dagli inizi di ottobre fino a dicembre; le distanze adottate per la messa a dimora sono molto variabili da 30/35 cm sulla fila e 40/45 cm tra le file con una densità di circa 7.000 bulbilli/ha; tale sesto consente una ventilazione naturale ed evita l'insorgere di malattie fungine, quali la botrite nell'apparato fogliare. La profondità di semina è di 5/10 cm, variabile secondo la tessitura del terreno. La coltura richiede apporti di azoto (60-65 kg/anno), di fosforo e di potassio (35-60 kg/anno) in misura variabile a seconda dei livelli residui nel terreno di tali sostanze nutritive. Durante la crescita vanno eliminate le erbe infestanti. Quando la pianta inizia a germogliare deve essere recisa l'infiorescenza.

La raccolta dell'Aglione avviene tra giugno e luglio, non appena le foglie cominciano ad ingiallire affinché il bulbo (capo) non si rompa o marcisca. Una volta raccolto il prodotto va conservato in un luogo asciutto, ben ventilato e in ombra al riparo dai raggi solari diretti <sup>(43)</sup>.

Alcune aziende della Valdichiana hanno mantenuto la produzione di questa coltura, tramandata da generazioni, tradizione che risale all'epoca degli Etruschi proprio nelle campagne adiacenti all'odierna Montepulciano e con tecniche di produzione che si sono mantenute nel tempo.

L'Aglione della Valdichiana è presente anche sull'Isola del Giglio perché nel 1544 il pirata Khayr al-Din, detto il Barbarossa, saccheggiò l'isola, uccise chiunque si opponeva e deportò, come schiavi, oltre 700 gigliesi; in seguito, la famiglia dei Medici, ripopolò l'isola con genti provenienti da famiglie della Valdichiana, come quella di Giudici Francesco e, nel 1686, la famiglia Stefani, proveniente da Arezzo, sempre in Valdichiana. In occasione del ripopolamento voluto dal Granduca di Toscana le famiglie della Valdichiana portarono, tra le loro cose al seguito, i bulbilli dell'Aglione della Valdichiana <sup>(2;43)</sup>.

Con l'industrializzazione degli anni '60 la coltivazione dell'Aglione della Valdichiana è quasi sparita, se non per una piccola produzione in pochi nuclei familiari che annualmente ne producono meno di 100 quintali. A fini commerciali la produzione è drasticamente calata, tanto che oggi è quasi limitata all'autoconsumo, pur avendo ulteriore potenzialità di crescita anche per le specifiche proprietà organolettiche e le sue dimensioni, eccezionali rispetto ad altri agli <sup>(43, 44)</sup>.

Al momento, al fine di proteggere e tutelare la tradizione, *l'Aglione della Valdichiana* è stato inserito tra i P.A.T., ovvero tra i prodotti agroalimentari tradizionali, nazionali e toscani, tramite, rispettivamente, il decreto del MIPAAF, Ministero delle politiche agricole, alimentari e forestali, del 23 maggio 2016 (inserito nella gazzetta ufficiale, sezione generale, n°143, del 21 giugno 2016), e dal Decreto dirigenziale della regione Toscana n° 1569 del 04 aprile 2016 <sup>(6)</sup>.

Tassello fondamentale, nel processo di valorizzazione dell'autenticità e la caratterizzazione di questo prodotto, risulta quindi essere la *tracciabilità geografica* <sup>(7)</sup>.



**Fig. n.3** Bulbo di Aglione della Valdichiana.

## Rintracciabilità

In un'ottica di mercato sempre più esigente, l'applicazione della rintracciabilità è materia cogente. Essa può diventare lo strumento fondamentale atto a supportare la competitività dei prodotti italiani sui mercati internazionali e non solo; essa può diventare lo strumento per la valorizzazione dei prodotti agroalimentari di qualità, strada che sta venendo intrapresa già ora per le produzioni vitivinicole e olearie le quali sono state oggetto, insieme ad altri prodotti agroalimentari italiani, di frodi e illeciti <sup>(42)</sup>.

Per tutelare, quindi, non solo i consumatori e produttori, ma la credibilità del sistema produttivo è necessario una trasparenza del mercato, la quale si ricollega, per propria natura, al concetto di *rintracciabilità*.

Un sistema di rintracciabilità diventa, dunque, un utile dispositivo per aiutare un'organizzazione che opera in una filiera agroalimentare <sup>(8)</sup> a concorrere a garantire e concretizzare il concetto di *sicurezza alimentare*. A questo proposito gli enti normativi e legislativi faticano a tenere il passo con le necessità del settore in continua evoluzione <sup>(27)</sup>.

In materia di sicurezza alimentare, la legislazione cogente si è espressa tramite l'emanazione e il recepimento del cosiddetto *Pacchetto Igiene*, entrato in vigore nel gennaio 2006. Esso è l'insieme di quattro testi legislativi, interconnessi tra loro, emanati dall'Unione Europea, al fine di creare una normativa di riferimento in materia di igiene degli alimenti, della produzione e del controllo degli stessi <sup>(9)</sup>. Precedente al Pacchetto igiene, il Regolamento CE n.178/2002 stabilisce i principi ed i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare, compresi i criteri per i processi decisionali ("Valutazione del rischio", "Gestione del rischio", etc) <sup>(10)</sup>.

In particolare, per ricollegarsi ad uno dei capisaldi che vorrebbero essere di questo elaborato, l'articolo 18 del Reg. CE n.178/2002, in materia di rintracciabilità si esprime come segue:

*"E' disposta in tutte le fasi della produzione, della trasformazione e della distribuzione degli alimenti, dei mangimi, degli animali destinati e di qualsiasi altra sostanza destinata o atta ad entrare a far parte di un alimento o un mangime [...]. Gli operatori del settore alimentare e dei mangimi devono essere in grado di individuare chi abbia fornito loro un alimento [...]. Gli operatori del settore alimentare e dei mangimi devono disporre di sistemi e procedure per individuare le imprese alle quali hanno fornito i propri prodotti [...]"* <sup>(10)</sup>.

Al fine di rispondere e adempiere a quella che è la richiesta della normativa cogente, è possibile inoltre affidarsi alle linee guida proposte dalla norma ISO 22005:2008, che si è espressa anch'essa

in materia di rintracciabilità e che amplia, se vogliamo, il concetto già preso in esame dal Reg. CE n.178/2002. I vantaggi di introdurre questa normazione volontaria sono molteplici. Esso è uno strumento accessorio per la sicurezza alimentare, infatti solitamente si trova applicato insieme ad altre normative di sistemi di gestione, come la ISO 22000:2005. Tuttavia esso integra fortemente la gestione nel sistema aziendale in qualità <sup>(41)</sup>; ecco elencati alcuni esempi di vantaggi che si possono ottenere dall'applicazione:

- migliorare e facilitare il controllo puntuale su tutte le fasi di produzione, avendo quindi una maggior consapevolezza delle criticità;
- avere a propria disposizione maggiori strumenti di dialogo con le autorità pubbliche di controllo, in materia di igiene e sicurezza alimentare;
- supportare l'applicazione di altre normative e/o standard volontari;
- tutelare cliente e consumatore finale;
- supportare con garanzie maggiori le specifiche caratteristiche di un prodotto;
- facilitare le eventuali operazioni di ritiro/richiamo di un prodotto;
- azioni atte al miglioramento continuo (non inteso solamente come aggiornamento tecnologico).

Nella ISO 22005:2008, è introdotto il concetto di *sistema di rintracciabilità*.

Se, per definizione, la normativa enuncia *la rintracciabilità* come

*“Capacità di seguire il movimento di un mangime o alimento, attraverso una fase/i specifico/che di produzione, lavorazione e distribuzione”* <sup>(11)</sup>.

Un *sistema di rintracciabilità* diventa quindi uno strumento d'aiuto imprescindibile per l'azienda o per l'organizzazione che punti al raggiungimento di obiettivi definiti.

La norma lo definisce come *“Totalità dei dati e delle operazioni che consentono di mantenere le informazioni desiderate su un prodotto e i suoi componenti, attraverso tutto o una parte della sua filiera di produzione e utilizzo”* <sup>(12)</sup>.

Un sistema di rintracciabilità dovrebbe, quindi, documentare la storia del prodotto e/o collocarlo all'interno della filiera agroalimentare <sup>(13)</sup>. Esso dovrebbe contenere determinati principi, espressi almeno in linea teorica, all'interno della norma. Essi sono i seguenti:

- verificabilità;
- applicazione coerente ed equa;
- orientamento al risultato;
- economicità;
- praticità;

- conformità ai regolamenti o alle politiche applicabili e ai requisiti di accuratezza definiti <sup>(14)</sup>.

In virtù di questi principi, va quindi progettato un sistema di rintracciabilità in cui ogni elemento di cui esso si compone <sup>(15)</sup> deve essere considerato e giustificato, tenendo conto degli obiettivi che si vogliono raggiungere. Questi obiettivi vanno valutati in base alle specifiche del caso in esame; i più pertinenti, nel caso specifico dell’Aglione della Valdichiana, enunciati tra gli esempi nella già citata normativa ISO 22005:2008, sono:

- determinare la storia e l’origine del prodotto;
- sostenere gli obiettivi di sicurezza e /o qualità degli alimenti;
- facilitare la verifica di informazioni specifiche sul prodotto;
- comunicare le informazioni ai soggetti pertinenti e ai consumatori;
- rispettare i regolamenti, le politiche locali, regionali, nazionali e internazionali, come e dove applicabile <sup>(16)</sup>.

A seguito dell’individuazione di questi obiettivi, diventa mandatario, individuare le metodiche più adatte e più consone al nostro caso specifico.

In un’ottica di conferimento di credibilità a tutto il sistema produttivo, conservare la storia e l’origine del prodotto può essere la chiave di volta in questo sistema, stabilendo, in particolare, un legame tra il suolo e il prodotto stesso <sup>(17)</sup>.

Al variare delle caratteristiche fisiche, chimiche, climatiche, geologiche e morfologiche del terreno, infatti variano i rapporti con ciò che vi cresce. Piante identiche (della stessa specie), cresciute su suoli diversi, saranno anch’esse differenti tra loro. Relativamente alla *tracciabilità delle cultivar*, è possibile individuare il luogo di provenienza in maniera univoca <sup>(17)</sup>. E’ quindi un tassello fondamentale nella caratterizzazione e tipizzazione di un qualsiasi prodotto agroalimentare, e in particolare dell’Aglione della Valdichiana, una definizione qualitativa e quantitativa della materia organica e inorganica connessa al suo substrato di crescita/coltivazione, per legare il prodotto al suo territorio d’origine.

Questa tecnica è già ampiamente utilizzata, per esempio, nella caratterizzazione del vino <sup>(7,18)</sup> e dell’olio.

Infatti, laddove una caratterizzazione genetico-molecolare non fosse sufficientemente discriminativa, in materia di rintracciabilità e/o frodi, è possibile cercare conforto nella già citata *caratterizzazione geografica* <sup>(19)</sup>.

\*\*\*

Il sistema molto complesso del suolo (composto da materia organica e inorganica) che accoglie le radici delle piante, instaura con esse un mutuo equilibrio e ne influenza tutti i processi vitali <sup>(17,22)</sup>.

Si sta quindi intraprendendo una strada che ha l'obiettivo di correlare un determinato prodotto ad una specifica area geografica <sup>(19)</sup>. Questo è possibile grazie alla stretta connessione che esiste tra gli isotopi stabili nei vegetali, non solo rispetto all'origine botanica della pianta stessa, anche con le caratteristiche geografiche, geologiche e climatiche della zona di coltivazione <sup>(20)</sup> e ai parametri biochimici e fisici <sup>(21)</sup>. Come si accennava in precedenza, queste metodologie vengono già utilizzate in unione alle certificazioni documentali, sia nell'industria vitivinicola sia in quella olearia.

Ad esempio, tramite la diffrazione da neutroni, l'Istituto di Biometereologia di Firenze, ha individuato la presenza di discriminati specie atomiche appartenenti alla famiglia dei lantanidi nei vigneti e, le stesse, nei rispettivi suoli, utilizzando come campione di ricerca/studio alcune aziende agricole vitivinicole, facenti parte del territorio delle provincie di Siena e Firenze <sup>(19)</sup>.

Per quanto riguarda la caratterizzazione d'origine dell'olio d'oliva, il Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali dell'Università di Perugia, tramite la tecnica GC/IRMS (Gas-Cromatografia Accoppiata Con La Spettrometria Di Massa Isotopica), ha studiato la composizione in acidi grassi e l'influenza, sia della cultivar sia dello stato di maturazione, sui parametri isotopici di carbonio ed ossigeno (relativamente alla campagna olearia 2012/2013), dimostrando e avvalorando la tesi secondo la quale, tecniche analoghe a quelle citate, possono individuare la cultivar d'origine, attraverso un'opportuna modellizzazione dei parametri <sup>(20;21)</sup>.

Per entrare più nel dettaglio, è, dunque, prioritario individuare un *marcatore d'origine* o più marcatori, che ci permetta o permettano di individuare in maniera inoppugnabile la provenienza geografica di un dato prodotto agroalimentare.

Questo marcatore deve, quindi, avere delle caratteristiche fondamentali, elencate di seguito:

- deve essere in grado di discriminare diverse aree geografiche, ed in particolare diversi contesti geopedologici (cioè la composizione del suolo);
- deve essere un vero e proprio marker di filiera (dal territorio al prodotto finale);
- deve essere presente in tracce.

In una visione utopica, questo marcatore ideale non dovrebbe essere influenzato dal clima, dalla gestione agronomica, dalle tecniche di trasformazione e dallo stesso inquinamento ambientale. Per questi motivi, una delle analisi isotopiche proposte tra le varie alternative, è quella degli elementi pesanti, spesso presenti in tracce e caratteristici della zona geografica. Diventa, quindi, necessario capire se questo marcatore subisce delle mutazioni importanti, se è soggetto a fenomeni di frazionamento e/o se lo ritroviamo in maniera proporzionale nel suolo e/o nella cultivar. Uno studio dell'Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo di Napoli ha presentato, il 27 maggio 2015 all'Expo di Milano, uno studio sulla tracciabilità vitivinicola basato proprio su questi principi, i quali trovano la loro massima espressione nel rapporto tra alcuni isotopi specifici dello stronzio e

il vino, relazione che risulta inalterata dal suolo al prodotto finale, arrivando addirittura a discriminare piante di punti differenti di uno stesso vitigno, a suffragio della specificità di questa tipologia di modello analitico <sup>(22)</sup>.

## I marker

Alla luce di quanto espresso nel paragrafo precedente, è palese la necessità di trovare dei marcatori del suolo locale che fungano da indicatori specifici. Sono stati individuati, a questo scopo, due possibili marker, che possiedono intrinsecamente il potenziale discriminante che ci è necessario.

### *Il selenio*

Approfondite ricerche sul contenuto di selenio nei vegetali sono state condotte negli anni '30 e agli inizi degli anni '40 dal Dipartimento di Agricoltura degli Stati Uniti e da diversi laboratori universitari.

Questi studi misero subito in evidenza che differenti specie di piante raccolte sullo stesso suolo, nonostante crescessero in stretta vicinanza, mostravano considerevoli variazioni nel contenuto di selenio <sup>(23)</sup>. Questo possiamo riscontrarlo anche negli alimenti; infatti le concentrazioni di selenio all'interno di un dato prodotto agroalimentare, variano in base alla disponibilità del selenio stesso nel terreno di crescita/di provenienza <sup>(24:25)</sup>.

Osservando la tavola periodica si nota che il selenio, con simbolo Se e numero atomico 34, è posto nel sesto gruppo e nel quarto periodo tra lo zolfo e il tellurio, elementi con cui condivide diverse caratteristiche. Il selenio è un semimetallo, ossia un elemento capace di agire sia come metallo sia come un non metallo ed è probabilmente il più utile dal punto di vista metallurgico.

In natura esiste in varie forme allotropiche: si trova sotto forma di polvere rosso mattone o come massa amorfa e vetrosa marrone scuro, detta in genere selenio vetroso o sotto forma di cristalli grigi e lucidi, noti come selenio grigio. Quest'ultima è la forma termodinamicamente stabile ottenuta dall'elemento fuso, nella quale tendono a trasformarsi tutte le altre. E' di color grigio ed ha aspetto metallico, possiede reticolo cristallino esagonale e ha struttura costituita da catene a spirale di atomi di selenio legate fra loro da deboli interazioni di natura metallica.

E' un semiconduttore e la sua importanza pratica è dovuta anche a questa sua proprietà <sup>(33)</sup>.

È invece abbastanza diffuso come seleniuro associato con lo zolfo e con diversi solfuri. Alcune piante, dette selenifere, emettono composti volatili del selenio e perciò possiedono un odore agliaceo caratteristico, la cui intensità varia con il contenuto dell'elemento nella pianta.

Allo stato fuso reagisce con la maggior parte dei metalli formando seleniuri <sup>(34)</sup>. Il selenio, possiede 28 isotopi di cui 6 stabili, e, in natura, si trova sia sotto forma di materia inorganica, come selenati e seleniti, sia sotto forma di composti organici, legato ad amminoacidi e proteine, che prendono il nome di selenoamminoacidi e selenoproteine.

zolfo		selenio	
16	1000	34	941
<b>S</b>	2,58	<b>Se</b>	2,55
	2,09		4,81
32,07		78,96	
- 2 + 4 + 6		- 2 + 4 + 6	
[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>4</sup>		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>4</sup>	

**Fig. n.4** Comparazione tra gli elementi zolfo (S) e selenio (Se).

La sua struttura chimica è simile a quella dello zolfo, con il quale si differenzia, tra l'altro, per punto di ebollizione e fusione e differente potenziale di ossidazione: questo permette la loro separazione nell'ambiente.

Il percorso biochimico del selenio, come si accennava poche righe sopra, ha una stretta connessione con il suolo di provenienza. Infatti esso può diventare immobile o biologicamente non disponibile, in funzione del pH del terreno, dell'interazione con gli altri ioni presenti nello stesso e a reazioni di ossidoriduzione.

Ambienti alcalini e ben ossidati, favoriscono l'ossidazione del  $\text{SeO}_3^{2-}$  in  $\text{SeO}_4^{2-}$ , e questo ha come conseguenza l'aumento della mobilità del selenio e un incremento nell'assimilazione di questo elemento da parte delle piante. L'aggiunta di fosforo a terreni fosforo-carenti provoca un aumento nell'accumulo di selenio nelle piante coltivate. Questo ha due spiegazioni:

- fosfati e ioni di selenio competono per gli stessi siti di fissazione; i fosfati prendono quindi il posto del selenio in questi siti e quest'ultimo rimane come ione nel suolo, libero di essere assorbito dalle piante.
- l'aumento radicale dovuto alla fertilizzazione con fosfati precetta un aumento del volume di contatto della pianta con il terreno, con la conseguente migliore capacità della pianta di assorbire ioni  $\text{Se}^{4+}$  liberi.

Moderate concentrazioni di cloruro di sodio (NaCl) (1-10 mM) riducono l'assorbimento del selenio, da parte delle piante <sup>(26)</sup>. La presenza di carbonato di calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) influisce sull'assimilazione del selenio, in quanto esso è in grado di assorbire il metalloide instaurando con esso forze di Van der Waals <sup>(28)</sup>. Anche la presenza di zolfo nel sottosuolo si esplica in un effetto riduttivo dell'assorbimento del selenio. Infatti, le similitudini tra i due elementi fanno in modo che essi si

comportino da antagonisti. Il selenio, in diversi composti organici, spesso sostituisce lo zolfo in quanto, i composti organici del selenio sono più reattivi rispetto agli analoghi composti dello zolfo. La competizione tra solfato e selenato può dipendere anche dalla concentrazione dei due ioni. Quando i livelli di solfato sono bassi, ci può essere un effetto sinergico piuttosto che competitivo; mentre aumentando la sua concentrazione, il contenuto di zolfo nelle foglie aumenta. In assenza di solfato, il selenio tende ad accumularsi nelle radici, mentre in sua presenza una maggiore quantità di selenio viene traslocata verso l'apparato aereo. A tal proposito è stato condotto un lavoro di ricerca per determinare l'influenza del genotipo e della presenza di solfato sull'assorbimento e la distribuzione del selenio in piante di pomodoro. Una volta che il selenato è entrato nella pianta, viene quasi certamente metabolizzato dagli enzimi della via di assimilazione dello zolfo, perché possiede la capacità di imitarlo <sup>(26)</sup>.

Le piante, infatti, non usano il selenio ma lo metabolizzano come zolfo, assorbendo il selenato, che compete col solfato, e va quindi ad incorporarsi nelle seleno-metionine e seleno-cisteine, senza ruolo funzionale. Per evitare l'accumulo e l'eccesso delle proteine, con conseguente danno funzionale:

- le piante "accumulatrici" trasformano in composti non tossici quali gli amminoacidi non proteici, metil-Se-cisteina e metil- Se-Metionine.
- le piante "non accumulatrici" lo trasformano nel composto volatile dimetil-selenuro disperso nell'aria.

La forma in cui si trova maggiormente presente nelle piante del genere *Allium* è la *metil-Se-Cisteina* <sup>(29)</sup>.

\*\*\*

Questa forma del Selenio è stata riscontrata anche da uno studio condotto nell'aprile del 1996, presso i dipartimenti di chimica dell'University at Albany, presso lo stato di New York, insieme all'University of Massachussets, Amherst <sup>(30)</sup>.

Lo scopo della ricerca era quello di quantificare le forme e le modalità in cui il selenio contribuisce alla formazione delle molecole odorose dell'aglio, dell'aglione, della cipolla e altre piante correlate, anche nell'alito umano.

A questo scopo, sono stati analizzati i *flavorants* ("aromatizzatori") e i loro precursori nelle piante dell'*Allium spp*: questi elementi si formano dal taglio o dallo spezzettamento della pianta, azione che permette il rilascio di enzimi e precursori. I *flavorants* si possono trovare in diverse forme isomeriche, non termostabili e non idroliticamente stabili; la loro (facile) decomposizione dà origine a composti secondari, anch'essi termolabili. Questi composti selenitici hanno proprietà fisiche

molto simile ai loro omologhi composti dello zolfo. In particolare, nell'aglio, sono presenti 0.85 µg/g di Selenio (considerando il peso "fresco" del prodotto) e 3.3 mg/g di Zolfo<sup>(31)</sup>.

Nello studio citato è stata utilizzata la metodica della Gas-cromatografia ad emissione atomica (GC-AED), basata sull'emissione ottica di atomi formati in un plasma di elio a microonde, scelta per la sua elevata sensibilità, specificità e soprattutto per la sua capacità di fornire un'analisi multicanale su più elementi, vantaggiosa per le miscele complesse, in quanto può indicare anche piccole tracce di elementi (anche se eluite con altri).

Per la captazione del selenio è stata usata la linea di emissione a 196 nm, mentre per monitorare lo zolfo e il carbonio, rispettivamente, sono state utilizzate le linee di emissione a 181 nm e a 193 nm. Queste assegnazioni sono state poi confermate dalla HS-GC-MS, ovvero dalla gas-cromatografia con spazio di testa con rivelatore a spettrometria di massa. Per questa metodica i campioni di aglio, cipolla, aglione e altri simili, sono stati omogeneizzati; a causa della scarsa specificità e della bassa sensibilità del processo, i campioni sono stati addizionati con Se-amminoacidi o sono stati utilizzati campioni prelevati da terreni fertilizzati con Selenio.

Successivamente, le analisi con gas-cromatografia ad emissione atomica con spazio di testa (HS-GC-AED) non hanno mostrato picchi osservabili di selenio, nei canali del carbonio e dello zolfo, in quanto il segnale era troppo piccolo e veniva perso nel rumore di fondo. Nel canale del selenio sono stati individuati sette picchi. Nell'analisi specifica dei componenti del selenio, effettuata tramite GC-AED, è stato utilizzato aglio normale liofilizzato, moderatamente arricchito di selenio e maggiormente arricchiti di selenio, rispettivamente con 0,02 ppm, 68 ppm e 1355 ppm di selenio, trattato con etil-cloroformio, per vaporizzare i seleno-amminoacidi. Nel campione di aglio liofilizzato con 1355 ppm di Selenio, il se-metil-selenocisteina è stato il maggior selenoamminoacido riscontrato, a seguire dalla seleno-cisteina e dalla seleno-metionina in tracce. Risultati analoghi sono stati riscontrati anche in altri campioni appartenenti al genere *Allium spp* (cipolla e broccolo).

Tuttavia come emerge da questo sunto, la metodica presenta delle criticità. Infatti questo rappresenta uno dei primi studi di identificazione dei composti organici del selenio formati dall'*Allium spp*.

Dal momento che questa metodica può essere utilizzata solo per i composti volatili, è come se un numero di interessanti ed importanti naturali selenoamminoacidi e selenopeptidi non potesse essere studiato: per la ricerca di questi composti sono risultate più appropriate, da vari studi in corso<sup>(30)</sup>, la cromatografia liquida con rivelatore a emissione atomica e la cromatografia liquida al plasma induttivamente accoppiato (LC-AED e LC-ICP).

In un altro studio di ricerca è stato studiato l'assorbimento del selenio nelle piante. L'obiettivo generale del lavoro sperimentale della tesi specialistica in Difesa e Produzione dei Vegetali, avente come titolo "ASSORBIMENTO DI SELENIO APPLICATO IN VIVO PER VIA AEREA SU PIANTE ARBOREE DA FRUTTO", è stato quello di analizzare e comparare la risposta di diverse colture arboree da frutto a somministrazioni di selenio, sotto forma di selenato di sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) per mezzo di applicazioni aeree (nell'ottica di ottenere frutti arricchiti in selenio da inserire nel regime dietetico). Le prove sono state condotte nel biennio 2008-2009, ricorrendo a specie, con approcci sperimentali diversi, al fine di ottenere indicazioni sul comportamento del selenio nelle piante perenni ed in particolare nei frutti.

I trattamenti alle piante sono stati eseguiti presso l'Azienda Sperimentale di Colignola del Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G.Scaramuzzi" dell'Università di Pisa.

Nel primo anno, il lavoro è stato condotto sulla *cultivar* di pesco, in un suolo a composizione nota con le seguenti caratteristiche chimico-fisiche: pH 8,2; sabbia 96,06%; limo 2,05%; argilla 1,45%.

Al momento della raccolta, sono stati prelevati tutti i frutti e 20 foglie per ciascun trattamento con  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , in modo da avere un numero di campioni significativi.

Nel secondo anno le prove sono state condotte non solo sulle pesche, ma anche su diverse specie quali susino, melo e pero, di qualità definita.

Il selenio, anche in questo caso, è stato aggiunto sotto forma di selenato di sodio per mezzo di due applicazioni fogliari nelle seguenti concentrazioni: 0 (controllo) ed 1 mg/L (ppm) Se.

Al momento della raccolta, avvenuta nei tempi congeniali per ciascuna *cultivar*, sono stati prelevati frutti e foglie. Si è quindi provveduto alla determinazione della biomassa secca e fresca dei frutti, delle foglie e dei rami, ad un'analisi fisiologica della maturazione (consistenza e contenuto in solidi solubili) presso l'Università di Pisa ed infine, si è provveduto alla determinazione del contenuto in selenio dei campioni raccolti.

Per tale determinazione è stato utilizzato uno spettrofotometro ad assorbimento atomico con generatore di idruri (AAS-HG). Questo metodo prevede la determinazione del selenio previa formazione del corrispondente idruro.

Gli steps previsti per questa procedura sono elencati di seguito; in un primo momento è stata effettuata la mineralizzazione dei campioni (denocciolati, essiccati, macinati). Tale processo è stato coadiuvato da una fonte energetica rappresentata da un fornello microonde.

Durante la mineralizzazione tramite microonde ogni vessel è stato avvolto da una "camicia" e munito di due tipologie di tappi per poter essere montato nel rotore che è stato posto all'interno del microonde. Dopo la mineralizzazione i vessel sono stati tenuti a bagnomaria e fatti raffreddare, in

seguito, sono stati aperti ed il loro contenuto è stato trasferito in tubi da digestione utilizzando imbuti e carta da filtro. I campioni sono stati quindi trattati per ridurre tutto il selenio presente al loro interno in selenito, in modo da avere una certa uniformità di risultato nella conta del selenio totale. La riduzione è stata effettuata aggiungendo ai tubi di digestione 3 ml di acido cloridrico 6N e riscaldando il campione a 160°C per 7 minuti nel *block digester*, dopodiché i campioni sono stati portati a volume (50 ml) con acido cloridrico 4N<sup>(32)</sup>.

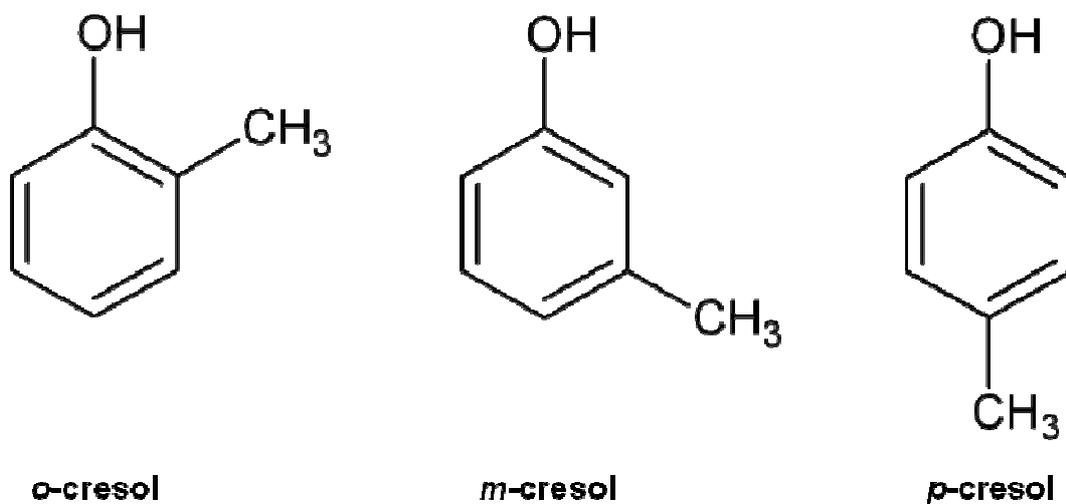
I risultati ottenuti hanno dimostrato l'efficacia dell'applicazione del selenio per via aerea ai fini di un incremento della concentrazione di Se nelle piante, in tutte le specie arboree considerate.

Le foglie hanno accumulato una quantità di Se maggiore rispetto ai frutti, risultando gli organi di accumulo preferenziali. Infatti, nei frutti, l'assorbimento del selenio è risultato essere in funzione delle caratteristiche anatomiche e fisiologiche dell'epicarpo. Le analisi effettuate per valutare gli aspetti qualitativi e fisiologici dei frutti hanno rilevato che il selenio, in virtù delle sue proprietà antiossidanti, è in grado di influenzare la maturazione, ritardando la senescenza e prolungando la *shelf life*. Tale comportamento è imputabile, molto probabilmente, alla capacità del microelemento di interferire con la biosintesi dell'etilene ormone vegetale responsabile, tra l'altro, della maturazione del frutto<sup>(46)</sup>.

## I fenoli e i polifenoli

Il termine fenoli o polifenoli descrive una famiglia di composti aromatici derivanti dal benzene e da altri idrocarburi aromatici. Essi sono, quindi, formati da un anello aromatico legato ad un gruppo ossidrilico (-OH). Il nome è dato da quello che è il composto più semplice, il *fenolo* o *acido fenico*, e si considera come un benzene in cui un atomo di idrogeno è sostituito con l'ossidrile (-OH). La loro reattività è dovuta all'acidità caratteristica della funzione fenolica ed alla nucleofilità dell'anello benzenico. In base alla loro struttura, i polifenoli vengono classificati in composti non flavonoidi e flavonoidi <sup>(35,39,40)</sup>.

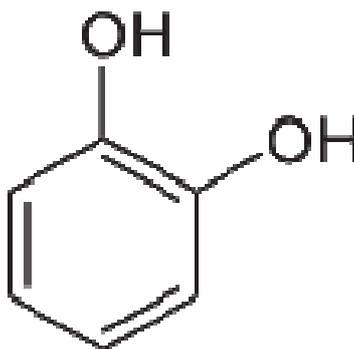
Mentre al benzene corrisponde un solo fenolo, dai suoi omologhi si possono derivare più fenoli, secondo la posizione che assume l'ossidrile rispetto agli altri gruppi sostituenti. Per esempio, dal metilbenzolo ( $C_6H_5CH_3$ ), per introduzione di un ossidrile, si possono avere tre fenoli isomeri, che assumono una nomenclatura differente, orto-, meta- e para- a seconda della posizione del metile e che prendono il nome di cresoli.



**Fig. n.5** Esempi di isomeri di

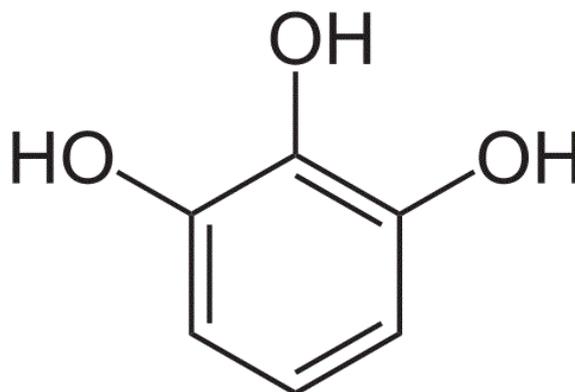
cresoli, con nomenclatura differente (orto, meta, para) in funzione della posizione del gruppo metilico (-CH<sub>3</sub>)

A seconda del numero dei gruppi ossidrilici, si distinguono fenoli monovalenti, bivalenti, trivalenti, etc. Anche in questo caso, la posizione degli ossidrilici va a conferire una nomenclatura differente ai fenoli (orto-, meta-, para-); Ecco alcuni esempi di fenoli bivalenti ( $C_6H_4(OH)_2$ ):



**Fig n.6** Esempio figurativo di fenolo bivalente (Pirocatechina).

e trivalenti ( $C_6H_4(OH)_3$ ):



**Fig n.7** Esempio figurativo di fenolo trivalente (Pirogallolo).

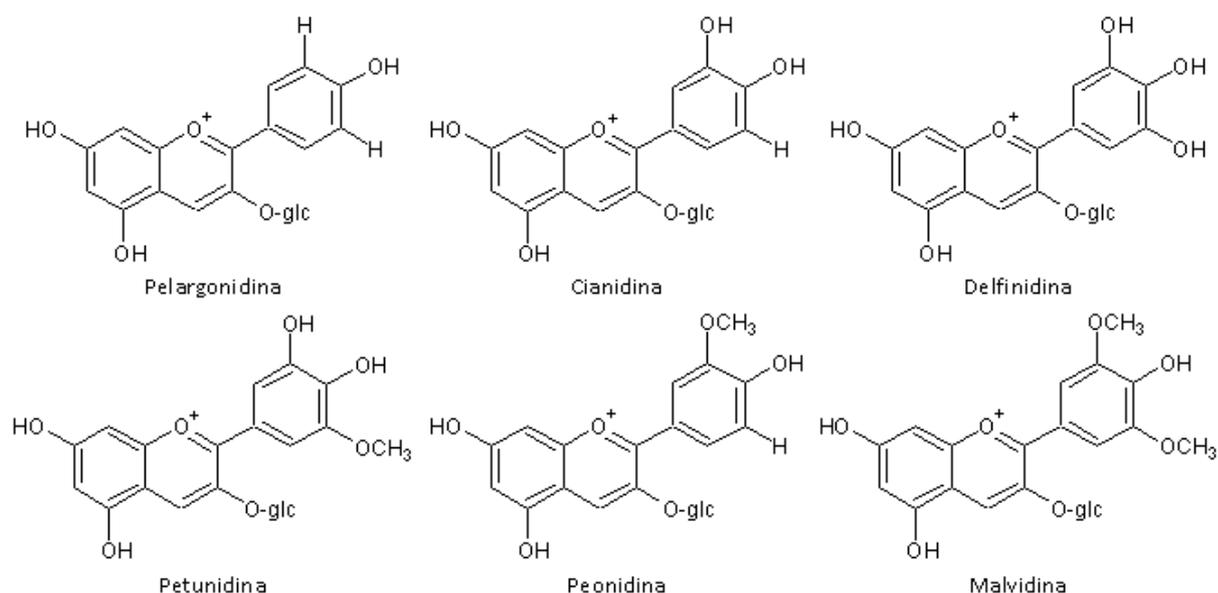
I fenoli si formano spesso nei processi di decomposizione di sostanze organiche ossigenate per azione del calore, ed alcuni, come il fenolo e i cresoli, sono contenuti nel catrame di carbon fossile. Di notevole importanza pratica, è la formazione dei fenoli per fusione degli acidi solfonici, sotto forma di sali.

I fenoli hanno un odore caratteristico e sono spesso dotati di proprietà antisettiche. I composti fenolici sono ampiamente diffusi in natura e rappresentano un'importante classe di metaboliti secondari. La diffusione dei fenoli è comune in tutto il regno vivente ma la maggior distribuzione appartiene al regno vegetale ed in particolare nei tessuti vegetali. In questi sono responsabili di

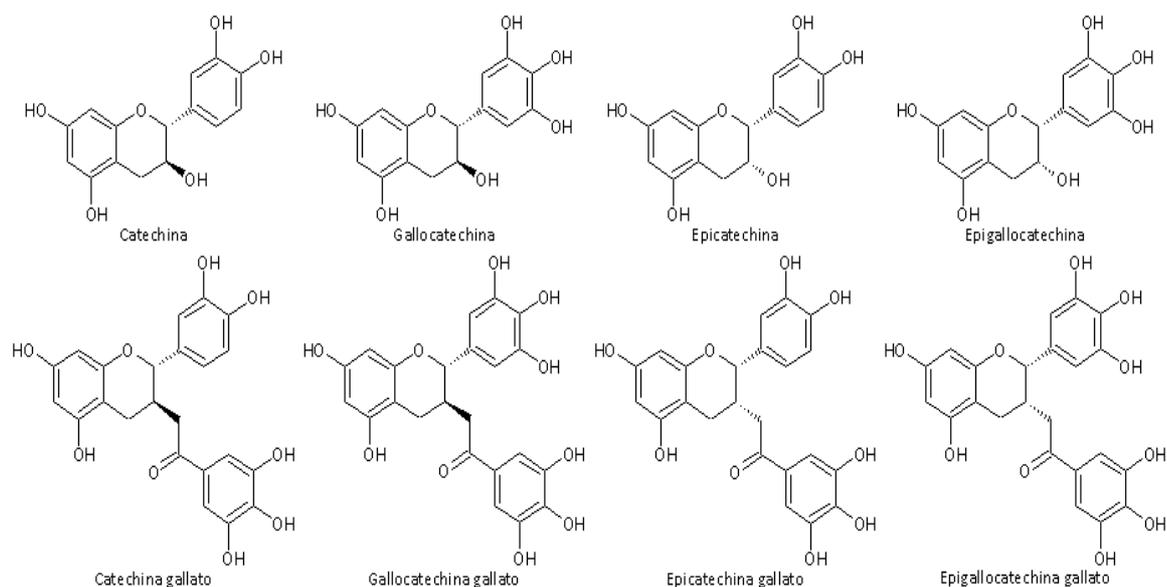
molte caratteristiche organolettiche, fitoterapiche e cromatiche; ad esempio dobbiamo agli acidi fenolici il sapore acidulo e ad alcuni flavonoidi il sapore amaro <sup>(36, 37, 38)</sup>. Essi sono chiamati polifenoli. Essi costituiscono una famiglia di circa 5000 molecole organiche naturali largamente presenti nel regno vegetale, semi-naturali o sintetiche. Sono caratterizzati, come indica il nome, dalla presenza di molteplici gruppi fenolici associati in strutture più o meno complesse generalmente di alto peso molecolare. Il numero e le caratteristiche di tali strutture fenoliche sottolineano l'unicità delle proprietà fisiche, chimiche, e biologiche (metaboliche, tossiche, terapeutiche, etc) di membri particolari della classe di polifenoli. Questi composti sono spesso il prodotto del metabolismo secondario delle piante.

I polifenoli hanno anche una spiccata azione antiossidante naturale; sono presenti nelle piante molecole polifenoliche tipo bioflavonoidi, le quali possono risultare utili nella prevenzione dell'ossidazione delle lipoproteine e nel reagire con i radicali liberi, eliminandoli. Sono accertati inoltre effetti biomedici positivi a livello cardiovascolare, di malattie legate alla senescenza e di arresto della crescita tumorale.

Un problema associato all'assunzione dei polifenoli con la dieta è la loro bassa biodisponibilità. In particolare essi sono presenti nei fluidi corporei non in forma nativa, ma sotto forma di metaboliti (solfati, metilati, etc) a seguito di estensiva metabolizzazione nell'intestino e nel fegato. Nel circolo sanguigno si trovano, infatti, concentrazioni di polifenoli non superiori al micromolare, concentrazioni alle quali le loro capacità biomediche devono essere in parte ridimensionate. Le differenze tra gli anelli aromatici primari, lo stato di ossidazione e i gruppi funzionali delineano il singolo polifenolo. Essi si possono dividere in quattro classi che comprendono la maggior parte dei polifenoli presenti negli alimenti: i flavonoidi, le lignine, gli acidi fenolici e gli stilbeni. Esistono altri polifenoli nei cibi e sono compresi in un'altra classe, detta "altri PP". Esempi di flavonoidi:



**Fig n.8** Esempio figurativo di antocianine, composti della classe dei flavonoidi.



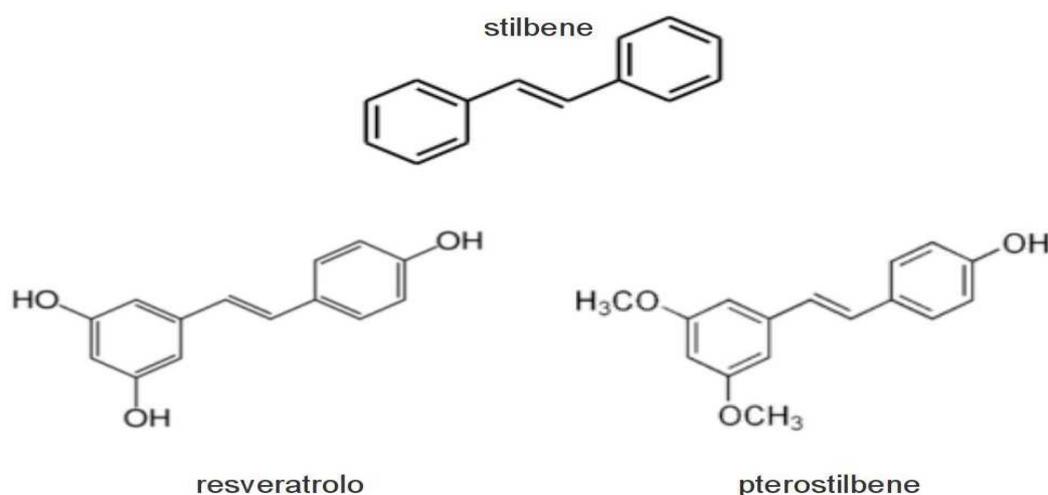
**Fig n.9** Esempi figurativi di gallocatechine, composti della classe dei flavonoidi.

L'alimento comunemente più associato a questi è il tea, verde o nero. I polifenoli nella classe delle antocianine consistono nelle antocianidine e nelle antocianine e sono prevalenti nei cibi di colori rosso o viola, come le bacche o il vino rosso.

Gli isoflavoni hanno una caratteristica particolare, ovvero assomigliano come struttura agli estrogeni, dunque sono classificati come fitoestrogeni; queste molecole si trovano nei prodotti derivati dalla soia come il tofu, i semi di soia arrostiti e il miso.

Un'altra classe di polifenoli sono le lignine; esse si trovano a maggiori concentrazioni in alcuni semi, come quelli del lino e del sesamo. Sono i principali polifenoli nella categoria degli acidi fenolici e si possono trovare in quantità rilevanti nel caffè, nelle noci, nelle prugne e nei mirtilli.

La classe degli stilbeni, che si trovano nel vino rosso e che si ritiene abbia proprietà antinfiammatorie. L'ultima classe dei polifenoli consiste nei composti che non si possono classificare in altre classi. Tra questi ultimi sono inclusi composti come il tirosolo e i curcuminoidi; i composti della sottoclasse del tirosolo, sono abbondanti nell'olio di oliva e si pensa che contribuiscano agli effetti benefici legati al consumo di questo sulla salute. I polifenoli sono metabolizzati dopo l'ingestione, nello stomaco, nell'intestino tenue e crasso e nel fegato.



**Fig n.10** Esempi figurativi dei composti della classe degli stilbeni.

Nella maggior parte dei casi, il contenuto di polifenoli viene determinato da una cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC) o altre metodologie, come il metodo Folin-Ciocalteu, per la determinazione dei polifenoli totali.

\*\*\*

Determinare il contenuto totale dei fenoli e l'attività antiossidante dell'aglio e dell'aglio, è stato oggetto di uno studio condotto dalla School of Food Science di Washington, dal dipartimento di Ingegneria Chimica e dei Materiali dell'Università di Washington, e dall'Università di Idaho, USA.

I fenoli e i composti organici dello zolfo sono riconosciuti per la loro attività antiossidante, nella specie *Allium*. L'attività antiossidante totale nei vegetali e nei frutti è stata ampiamente studiata attraverso varie metodiche, incluse la TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, misura la capacità antiossidante di una sostanza, rispetto ad uno standard, il Trolox), l'ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity, saggio in vitro), la FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power, misura la capacità riducente degli antiossidanti nei confronti degli ioni ferro). Queste metodiche hanno però bisogno di un ampio numero di campioni per la valutazione.

L'applicazione della spettroscopia ad infrarossi, per quantificare il contenuto in fenoli e l'attività antiossidante totale, rappresenta una nuova frontiera della ricerca in questo campo. Essa ha il vantaggio di necessitare una preparazione dei campioni semplice, e di riportare una soddisfacente specificità e sensibilità. Essa è stata ampiamente utilizzata, combinata con la chemiometria (ovvero branca della chimica che studia l'applicazione dei metodi matematici o statistici ai dati chimici), per la ricerca di adulterazioni chimiche e biologiche negli alimenti.

E' stata utilizzata insieme alla TPC (Total Phenolic Content), per quantificare i flavonoidi e l'attività antiossidante totale, nei chicchi di riso.

In questo studio la spettrofotometria infrarossa in Trasformata di Fourier FT-IR è stata affiancata a diverse metodologie di saggi del quantitativo fenolico negli alimenti, precedentemente citate (come la DPPH, TEAC e la FRAP). Di nostro interesse è tuttavia la sua correlazione con la TPC.

I campioni presi in esame sono stati cinque; aglione, proveniente dalla California, e aglio proveniente da 4 stati; Washington, Oregon, California e New York. I campioni facevano parte della campagna agricola del 2009 e nessuno di essi era stato raccolto da più di 4 mesi quando è stato utilizzato per questo esperimento. Dei campioni reperiti per l'esperimento, sono stati scelti, successivamente, per la preparazione dei campioni, i bulbi con un miglior stato di conservazione.

Sono stati quindi prelevati 2 grammi di aglio/aglione fresco, ai quali sono stati aggiunti 15 ml di metanolo al 70%. Questa miscela è stata quindi sottoposta ad agitazione magnetica per due ore a 22°C. Terminata questa operazione, la miscela è stata centrifugata a 4000 giri per 20 minuti. Il surnatante è stato filtrato con una membrana di policarbonato, con una porosità di 0.4 µm. Questa serie di operazioni è stata ripetuta per 3 volte per ogni campione e il raccolto è stato poi organizzato in diversi pools, i quali sono stati poi conservati ad una temperatura di 4°C, in camera oscura. Dopo l'estrazione si è passati ai saggi <sup>(47)</sup>.

Per la determinazione TPC ogni estratto è stato trattato con i reagenti *Folin-Ciocalteu*. Questa metodica, che prende il nome dai suoi sviluppatori iniziali (1927), nasce per la determinazione della tirosina. Oggi prevede l'utilizzo di una miscela (*reagente di F-C*) in soluzione acquosa di *fosfomolibdato* e *fosfotungstato*, utilizzato in particolare per la determinazione dei fenoli e

polifenoli. Tuttavia essa non è un reattivo specifico; reagisce anche con altri riducenti e per questo viene utilizzata anche per la determinazione di altri analiti, come le proteine e i composti contenenti azoto <sup>(48)</sup>.

Per questo trattamento il reagente di *Folin-Ciocalteu* è stato utilizzato diluito 1:10 con acqua deionizzata. A 0,1 mL di estratto di aglio al 70% di metanolo sono stati addizionati 0,75 mL di questo reattivo. Il composto è stato quindi incubato per 10 minuti a temperatura ambiente (22°C). Una volta terminata l'incubazione, alla soluzione è stato aggiunto del carbonato di sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) al 2% nella quantità di 0,75 ml. Il tutto è stato reincubato a 22°C, al buio, per 45 minuti.

A questo punto, è stata misurata l'assorbanza tramite spettrofotometro UV/Visibile, a 765 nm, utilizzando come *blank* un campione contenente acqua deionizzata al posto dell'estratto di aglio. La serie di valori che è stata quindi raccolta è stata comparata con una curva standard (0, 5, 10, 15, 20, 30, 40 mg/L), precedentemente misurata, di acido gallico (facente parte della categoria degli acidi fenolici, con attività ossidante).

I risultati sono stati poi espressi in mg di acido gallico equivalenti/g (aglio) peso fresco (mg GAE/g FW).

Per la misurazione spettrofotometrica FT-IR, i campioni sono stati analizzati, a temperatura ambiente (22°C), utilizzando uno spettrofotometro IR Nicolet Avatar 380, con un range di lettura compreso tra 4000 e 400 cm<sup>-1</sup>, e una risoluzione di 4 cm<sup>-1</sup>. Sono stati utilizzati 20 µL di estratto di aglio al metanolo per ciascun campione, testati in duplicato. Questi campioni sono stati essiccati, in modo da formare uno strato uniforme sulla superficie della cella per diminuire il più possibile le interferenze nella lettura dello spettro, (dovute all'acqua e al metanolo), e aumentare l'intensità delle bande. Gli spettri letti e raccolti sono stati poi analizzati con sistema matematico OMNIC 7.

E' stato quindi creato un modello PCA (Principal Component Analysis) attraverso il quale, ma limitando il numero di variabili ma preservando la variabilità, è stato possibile differenziare i diversi agli in base al luogo di crescita. Una differenza così netta dell'attività antiossidante tra gli agli, misurata in questo studio, fa pensare ad un'influenza non trascurabile del luogo di crescita e delle condizioni di coltivazione sull'attività biologica di questi vegetali <sup>(47)</sup>.

## Conclusioni

Alla luce di quanto esposto in questo elaborato, è di facile intuizione l'importanza che assume, per questa cultivar d'origine, l'Aglione della Valdichiana, la progettazione e l'attuazione di un sistema di rintracciabilità geografica.

Esso riuscirebbe, in parte, a concretizzare l'obiettivo legislativo cogente e non, di garantire la sicurezza alimentare la quale si esplica in un concetto di più ampio respiro che comprende, non solo la tutela del consumatore, ma anche la tutela della aziende produttrici e del prodotto, la cui tradizione rischia di scomparire.

Integrare le richieste della normativa cogente (Reg. CE n.178/2002, *Pacchetto igiene*, etc), è possibile tramite normative volontarie come la ISO 22000:2005 e, in particolare, la ISO 22005:2008, che in maggior dettaglio affronta l'argomento della rintracciabilità. Essa ci fornisce delle linee guida di grande effetto, che incrementano in qualità, tutto il sistema di gestione della filiera.

Una volta determinata la storia e l'origine di un prodotto, tuttavia, è necessario ottenere dei capisaldi che permettano di dare un valore inespugnabile alle nostre parole. Le nuove metodologie scientifiche possono venire in aiuto nel dare risposta a quelle che sono le richieste non solo della normativa, ma anche del consumatore, sempre più consapevole e avido di informazioni pertinenti alla qualità e alla bontà, nei loro significati più ampi, di ciò che compra e ciò che mangia.

Si arriva quindi a parlare di rintracciabilità geografica, laddove legislazione e metodo scientifico concorrono insieme a collegare un prodotto al suo effettivo territorio di origine e coltivazione.

Per l'Aglione della Valdichiana questa tipologia di caratterizzazione rappresenta un valido sostegno che facilita la verifica di informazioni specifiche sul prodotto.

Questo tipo di sinergia viene già ampiamente utilizzata nell'attività vitivinicola e olearia, a sostegno, non solo della rintracciabilità dei prodotti agroalimentari, ma anche della lotta alle frodi, che colpiscono pesantemente questi prodotti della tradizione italiana.

Laddove l'utilizzo di metodiche molecolari, non fosse abbastanza discriminante, come nel caso dell'Aglione della Valdichiana, si può ricorrere alla ricerca di isotopi e molecole caratteristiche che permettano di collegare il prodotto al territorio, trovando un riscontro sia nella composizione chimica del terreno, sia in quella dell'Aglione della Valdichiana, o la cui presenza in entrambe queste variabili sia proporzionale e/o legata all'influenza che uno ha sull'altro, nei processi bio-metabolici.

A questo scopo, sono stati individuati e proposti due marcatori, che possiedono il potenziale di creare questo collegamento, il selenio e i polifenoli.

Il selenio, per le sue caratteristiche, rappresenta un valido alleato in questa ricerca, Infatti, la sua presenza, all'interno dei vegetali è direttamente proporzionale alla presenza di questo elemento nel suolo di crescita; la sua affinità competitiva con lo zolfo, lo rende altresì adatto a questa ricerca, in quanto lo zolfo è uno degli elementi maggiormente caratterizzanti del genere *Allium*. Il loro rapporto di antagonismo, ci permette con una certa sicurezza di ipotizzare, sempre, una presenza di selenio nell'aglio, in quanto essi concorrono negli stessi percorsi biochimici.

Come si evince dalla descrizione precedente, riguardo gli esperimenti citati come esempi di determinazione del selenio, alcune metodiche (HS-GC-AED), hanno mostrato delle criticità nella captazione del selenio, in quanto esso si trova in quantità piuttosto piccole e, spesso, legato a proteine e/o amminoacidi, facendo sì che il suo segnale analitico si perda nel rumore di fondo. Queste caratteristiche, che rendono critiche la sua identificazione mediante, alcune tecniche analitiche, lo rendono altresì un ottimo candidato come marcatore geografico per la rintracciabilità.

Esso è infatti un semimetallo, presente in tracce nella pianta, direttamente collegabile al terreno, per quanto riguarda la sua concentrazione in essa. Di particolare rilevanza può risultare la quantificazione, ove possibile, del seleno-amminoacido, metil-se-cisteina, il quale è risultato essere quello maggiormente presente nel genere *Allium*.

Una presenza proporzionale (o un'assenza, ugualmente proporzionale) di questo elemento o dei suoi composti, può garantirci un filo conduttore tra l'Aglio della Valdichiana e il terreno d'origine. E' quindi di fondamentale importanza, dapprima, conoscere approfonditamente la composizione del suolo in cui nasce e cresce la pianta d'interesse, mediante una campagna di campionamenti della zona tipica di produzione. In tal modo è possibile stabilire, attraverso un numero di campioni statisticamente rilevante, la composizione chimico-fisica e pedologica del terreno, al fine di caratterizzare lo stesso.

L'altro marker individuato allo scopo, è rappresentato dai polifenoli, composti ampiamente presenti nel genere *Allium* e nell'aglio, come si evince dalla ricerca esposta in precedenza. Proprio questo studio dimostra la correlazione che intercorre tra i polifenoli e il suolo di origine della cultivar. Infatti la comparazione tra saggi chimici, come la TPC, (conta totale dei polifenoli) e l'analisi spettrofotometrica FT-IR, ha permesso di evidenziare le differenze tra le piante provenienti da luoghi differenti e di collocarle geograficamente, creando quel legame risolutivo di cui si parla. L'altro elemento che rende i polifenoli un ottimo candidato come marcatore geografico dell'Aglio della Valdichiana, è la comprovata presenza in quantità minori nell'aglio di questi composti, rispetto alle altre specie dello stesso genere.

Viene quindi da sé la necessità di valorizzare le potenzialità di studi comparativi, con varie metodologie laboratoristiche, che ci permettano di evidenziare e suffragare una rintracciabilità geografica di questa cultivar d'origine.

Questi studi comparativi necessitano una determinazione chiara dell'analisi del suolo locale, tenendo conto di specifici fattori come il pH, la tessitura, la composizione organica, la capacità di scambio cationico, la relazione tra quantità assorbita dell'elemento e quella presente nelle frazioni disponibili del suolo, come nel caso del selenio.

Queste informazioni potrebbero fornire uno strumento di tutela del prodotto tradizionale a rischio e di comunicare ai consumatori, tramite un'associazione di tutela un messaggio di conservazione della tradizione tipica locale. Quest'ultima si sposa con una nuova cultura della qualità, in cui le metodologie scientifiche lavorano eticamente a sostegno della tradizione, a supporto della trasparenza di mercato e alla conservazione di un prodotto d'origine: l'Aglione della Valdichiana.

## Bibliografia

1. Niccolò Terzaioli, Tesi di Laurea in Biotecnologie agrarie “Caratterizzazione genetica dell’Aglione della Val di Chiana” – Introduzione;
2. Graziano Tremori, Gianfranco Santiccioli – Aglione della Valdichiana, Cap. 1, pag. 11,12;
3. Riproduzione Vegetativa, Rizoma –Wikipedia, enciclopedia libera;
4. Graziano Tremori, Gianfranco Santiccioli – Aglione della Valdichiana, Cap. 3, pag. 17;
5. Sez. Studi – [www.Aglione.it](http://www.Aglione.it);
6. Sedicesima revisione prodotti agroalimentari, elenco nazionale, MIPAAF, [www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/serveBLOV.php/IT/IDPagina/10241](http://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/serveBLOV.php/IT/IDPagina/10241) ;
7. Tommasini, Mulinacci, Conticelli - Metodi di caratterizzazione e tipizzazione dei prodotti dell'agroalimentare: isotopi dello Sr e tracciabilità geologica dei vini tipici;
8. ISO 22005:2008, Introduzione, pag.4;
9. Sicurezza alimentare: il “Pacchetto igiene” – [www.itdeleddalecce.gov.it](http://www.itdeleddalecce.gov.it)
10. Regolamento CE 178/02 Art. 18
11. ISO 22005:2008, Capitolo 3.6, pag.6
12. ISO 22005:2008, Capitolo 3.12, pag.6
13. ISO 22005:2008, Capitolo 4.1, pag.6
14. ISO 22005:2008, Capitolo 4.2, pag.8
15. ISO 22005:2008, Capitolo 5.1, pag.8
16. ISO 22005:2008, Capitolo 4.3, pag.8
17. Redazione di [www.cnrexpolar.blogspot.it](http://www.cnrexpolar.blogspot.it) “Stabilire il legame suolo/vino attraverso analisi chimiche”;
18. Luigi Dagna – “La tracciabilità scientifica dei vini”;
19. Premio internazionale Brunello di Montalcino, Case Basse Soldera, Ed. 2014 Per giovani ricercatori, riassunto intervento E. Pusceddu – “Tracciabilità geografica del vino, mediante identificazione neutronica di atomi lantanidi”;
20. “Tracciabilità dell’olio d’oliva: isotopi stabili e lotta alle frodi” – [www.cnr.it/news/index/news/id/6390](http://www.cnr.it/news/index/news/id/6390) ;
21. “La tracciabilità dell’olio passa da cultivar e l’analisi degli isotopi stabili” – Articolo “Teatro Naturale” anno 14, 19 ott 16;
22. Lezione sui “Macro e Microelementi”, Facoltà di Agraria, Università degli studi Mediterranea, Reggio Calabria;

23. Marialetizia Gentile – Tesi di Laurea specialistica “Produzione e Difesa dei Vegetali” – Assorbimento di Selenio applicato in vivo per via aerea su piante arboree da frutto – Cap. 2.1, pag. 33-40;
24. Articolo “Il selenio negli alimenti” – Wikipedia, Enciclopedia Libera
25. Marialetizia Gentile – Tesi di Laurea specialistica “Produzione e Difesa dei Vegetali” – Assorbimento di Selenio applicato in vivo per via aerea su piante arboree da frutto – Cap. 1.7.2, pag. 29;
26. Marialetizia Gentile – Tesi di Laurea specialistica “Produzione e Difesa dei Vegetali” – Assorbimento di Selenio applicato in vivo per via aerea su piante arboree da frutto – Cap.1.8, pag. 29-33;
27. Convegno "Qualità nell'alimentazione - frodi e tutela dei consumatori" – Auditorium Santa Chiara Lab, 19 NOV 16, Siena;
28. Marialetizia Gentile – Tesi di Laurea specialistica “Produzione e Difesa dei Vegetali” – Assorbimento di Selenio applicato in vivo per via aerea su piante arboree da frutto – Cap. 2.2, pag. 40,41;
29. Prof.ssa L. Avigliano - Lezione “Biochimica del Selenio” – Scienze della nutrizione umana, anno 2011, Università Tor Vergata, Roma
30. E. Block, P.C. Uden – “Allium Chemistry: Natural Abundance of Organoselenium Compounds from Garlic, Onion and related plants and in human breath” - 1996
31. V.C Morris - J. Nutr 100 - 1970
32. Marialetizia Gentile – Tesi di Laurea specialistica “Produzione e Difesa dei Vegetali” – Assorbimento di Selenio applicato in vivo per via aerea su piante arboree da frutto – Cap. 1.2; 1.2.1; 1.3; 1.4
33. “La chimica del selenio” - <http://www.ing.unitn.it/~colombo/selenio/chimica.htm>
34. “Selenio” – Enciclopedia Treccani.it
35. “Fenoli” - [www.chimica-online.it/organica/fenoli](http://www.chimica-online.it/organica/fenoli)
36. “Fenoli” – Enciclopedia Treccani.it
37. “Fenoli” – Wikipedia, enciclopedia libera
38. “Polifenoli” – Wikipedia, enciclopedia libera
39. “Spirito di Vino – studio sui composti fenolici del vino” – Università di Torino, [www.lem.ch.unito.it/didattica/infochimica/2007\\_polifenoli\\_vino/home/html](http://www.lem.ch.unito.it/didattica/infochimica/2007_polifenoli_vino/home/html)
40. “Polifenoli e integratori” – [www.FarmacologiaOculare.wordpress.com](http://www.FarmacologiaOculare.wordpress.com)

41. Donato Ferrucci – “I sistemi di rintracciabilità secondo la norma UNI EN ISO 22005:2008”  
- <http://www.rivistadiagraria.org/articoli/anno-2014/i-sistemi-di-rintracciabilita-secondo-la-norma-uni-en-iso-220052008/> ;
42. Convegno "Qualità nell'alimentazione - frodi e tutela dei consumatori" – Auditorium Santa Chiara Lab, 19 novembre 2016, Siena;
43. Scheda identificativa del prodotto “Aglione della Chiana” - [www.prod.trad.arsia.toscana.it](http://www.prod.trad.arsia.toscana.it)
44. Comunità Aglione della Chiana - Fondazione Terra Madre – Slow Food
45. Graziano Tremori, Gianfranco Santiccioli – Aglione della Valdichiana, Cap. 3, pag. 18-23;
46. Marialetizia Gentile – Tesi di Laurea specialistica “Produzione e Difesa dei Vegetali” – Assorbimento di Selenio applicato in vivo per via aerea su piante arboree da frutto – Conclusioni;
47. X. Lu, C.F. Ross, J.R. Powers, D. E. Aston, B.A. Rasco – “Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Garlic (*Allium sativum*) and Elephant Garlic (*Allium Ampeloprasum*) by Attenuated Total Reflectance –Fourier Trasformed Infrared Spectroscopy” - 2011
48. “Reattivo di Folin-Ciocâteu” – Wikipedia, l’enciclopedia libera;

Filiale **MONTEPULCIANO SEDE**



Filiale **MONTEPULCIANO CENTRO STORICO**



Filiale **SANT'ALBINO**



Filiale **MONTEPULCIANO STAZIONE**



Filiale **TORRITA DI SIENA**



Filiale **BETTOLLE**



Filiale **PETROIO**



Filiale **FOIANO DELLA CHIANA (AR)**



Filiale **CESA (AR)**



Filiale **AREZZO**

