

## Valorizzazione della qualità della farina di castagne dell'Alta Maremma: indagine dei principali profili nutraceutici in comparazione con il contenuto di aflatossine in due anni di raccolto

Valentina Conti<sup>1</sup>, Roberto Berni<sup>1</sup>, Marco Romi<sup>1</sup>, Chiara Piccini<sup>1</sup>, Lavinia Mareri<sup>1</sup>, Giampiero Cai<sup>1</sup>, Claudio Cantini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze della vita, Università di Siena

<sup>2</sup> CNR-IVALSA, Follonica (GR)

L'Associazione Valorizzazione Castagna Alta Maremma, nasce nel 2003, con lo scopo di ripristinare e valorizzare la coltivazione del castagno; oggi oltre alla tutela ed al recupero dei castagneti l'obiettivo è quello di valorizzare la qualità di un frutto che racconta la storia di questo territorio.

Da alcuni anni l'associazione si sta dedicando sia al ripristino dell'essiccazione in modo tradizionale, all'interno dei così detti metati, sia all'utilizzo di moderni forni ad aria calda, sia allo sviluppo di nuove tecnologie innovative e sostenibili attraverso l'utilizzo dell'energia geotermica propria di queste zone, ponendo in essere una peculiare essiccazione a vapore. Queste tecniche hanno il fine ultimo di produrre alimenti di eccellenza con caratteristiche leggermente diverse tra loro.

Il presente lavoro ha voluto indagare la qualità delle tre tipologie di essiccazione poste in essere dall'Associazione sul prodotto fresco. I risultati ottenuti hanno riguardato sia l'andamento dei principali profili nutraceutici, sia la salubrità del prodotto attraverso l'indagine sulla presenza di aflatossine rilevata all'interno di ogni farina e l'umidità della stessa.

Le castagne rappresentano una buona risorsa di antiossidanti, calcio e importanti risorse di composti fenolici (Barreira *et al.*, 2008). Composti come questi sono oggi al centro di studi biomedici atti a definirne i meccanismi d'azione a livello molecolare e cellulare e dovrebbero svolgere un ruolo importante nella prevenzione delle più importanti malattie croniche (Henriquez *et al.*, 2010).

Le aflatossine sono molecole altamente tossiche e ritenute tra le sostanze più cancerogene esistenti, classificate come un gruppo di mutageni, teratogeni e micotossine immunosoppressive (Khlanguis *et al.*, 2011). Esse sono principalmente prodotte da ascomiceti o altre muffe come *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, che rilasciano aflatossine sia

nella fase di pre- e post-raccolta dei frutti. Esistono vari tipi di aflatossine: B1, B2, G1 e G2. La B1 è la più diffusa e la più tossica, classificata come cancerogeno di classe 1 dalla IARC (International Agency for Research on Cancer).

Il lavoro è quindi iniziato campionando le castagne, nell'anno 2016 e nell'anno 2018, così da attuare in due anni un principale e basilare screening sui metodi di essiccazione. Le zone delle provincie di Grosseto e Siena, in particolare l'areale delle Colline Metallifere è stato preso come riferimento per la raccolta del prodotto.

Le operazioni di essiccazione sono avvenute quindi seguendo i tre metodi:

- Tradizionale: in antichi seccatoi detti canicci o metati (strutture su due piani, in pietra o mattoni). L'essiccazione avviene ad una temperatura media di circa 37°C.
- Aria calda: in forni elettrici con temperatura e flusso d'aria costante (a 40°C e a 70°C).
- Vapore: in forni moderni che prevedono l'utilizzo dell'energia geotermica mantenendo una temperatura costante di 42°C.

Ad oggi un problema significativo per la produzione di castagne ed i suoi derivati resta quello della presenza di alcuni parassiti, primo fra tutti il *Curculio elephas* (balanino della castagna) che allo stadio di larva parassita il frutto alterandone le qualità. Per questo motivo le castagne una volta sottoposte ai vari processi di essiccazione, sono state cernite manualmente, per separare quelle difettose o alterate (parassitate) da quelle sane. Non è stato possibile eseguire tale cernita per le castagne essiccate a vapore.

I campioni di castagne una volta essiccati sono stati ridotti in farina utilizzando un mulino elettrico, modello Jumbo, in grado di macinare diversi prodotti vegetali con una finezza di macinazione al di sotto dello 0,3 mm.

Le tipologie di farine ottenute sono state caratterizzate sia dal punto di vista nutraceutico andando ad analizzare il potere antiossidante, il contenuto in polifenoli, sia dal punto di vista della salubrità del prodotto indagando la presenza di aflatossine e l'umidità relativa.

In questo studio sono stati quindi esaminati 14 campioni di farine. Ogni campione è stato catalogato in base alla temperatura usata ( $\sim 37^\circ\text{C}$ ,  $40^\circ\text{C}$ ,  $70^\circ\text{C}$  e  $42^\circ\text{C}$ ), alla tipologia di essiccazione (tradizionale, aria, vapore), all'anno di raccolta (2016 e 2018) ed alla suddivisione del prodotto di partenza (sano o parassitato).

Il potere antiossidante e il contenuto di polifenoli sono stati determinati tramite metodi colorimetrici ritenuti maggiormente affidabili nel garantire un dato rilevante e significativo. Rispettivamente per le due analisi è stato utilizzato il metodo F.R.A.P. (Ferric Reduction Antioxidant Power) (Benzie and Strain, 1996) e il Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965). Attraverso l'indagine della capacità antiossidante è possibile individuare alcune delle principali proprietà nutraceutiche di un alimento. Molti cibi, soprattutto vegetali, posseggono un alto contenuto di sostanze bioattive con attività antiossidante; tra queste sono presenti flavonoidi, acidi fenoli e vitamine che hanno un notevole effetto protettivo contro i danni dei radicali liberi nelle cellule. Dai risultati (fig. 1) è possibile notare che, prendendo in riferimento le farine ottenute esclusivamente da castagne sane la capacità antiossidante va da  $23,671 \mu\text{mol/g}$  per la farina essiccata tradizionalmente nel 2018 fino a  $55,890 \mu\text{mol/g}$  per quella essiccata ad aria a  $40^\circ\text{C}$  nel 2016. Attraverso l'analisi dei risultati, appare chiaro sin da subito che esiste una marcata differenza in relazione

al metodo di essiccazione utilizzato. In questo caso i valori maggiori relativi alla capacità antiossidante vengono riscontrati per le farine essiccate ad aria sia a  $70^\circ\text{C}$  sia a  $40^\circ\text{C}$  e per entrambe le annate abbiamo valori che sia aggirano intorno a  $50 \mu\text{mol/g}$ . Per quanto riguarda le farine prodotte utilizzando castagne visivamente parassitate i valori della capacità antiossidante aumentano notevolmente comprendendo un range che va da  $35,710 \mu\text{mol/g}$  per la tradizionale del 2016 fino a  $153,508 \mu\text{mol/g}$  per quella essiccata ad aria a  $70^\circ\text{C}$  nel 2018.

I polifenoli sono le molecole antiossidanti maggiormente rappresentate nel regno vegetale, attraverso la tecnica Folin-Ciocalteu è possibile individuarne il contenuto totale, ottenendo così un risultato comparabile espresso in  $\text{mg/g}$  (fig. 2).

Prendendo in considerazione solo le farine provenienti da castagne sane i valori variano da un minimo di  $0,904 \text{ mg/g}$  per la farina del 2018 essiccata tradizionalmente, ad un massimo di  $2,720 \text{ mg/g}$  per quella essiccata ad aria a  $70^\circ\text{C}$  del 2018. Come per gli antiossidanti esaminando l'andamento dei polifenoli è possibile evincere che i valori sono più elevati per le farine derivate da castagne essiccate ad aria e che gli stessi variano a seconda del tipo di essiccazione.

Per quanto riguarda il contenuto in polifenoli rilevato sulle farine provenienti da castagne attaccate da parassiti, risultano valori tra  $1,857 \text{ mg/g}$  per quella essiccata tradizionalmente del 2018 fino a un valore di  $7,380 \text{ mg/g}$  per la farina di castagne essiccate ad aria a  $40^\circ\text{C}$  nel 2016. Complessivamente anche in questo caso i valori risultano maggiori per le farine derivate da castagne parassitate rispetto alle farine derivate da castagne sane.

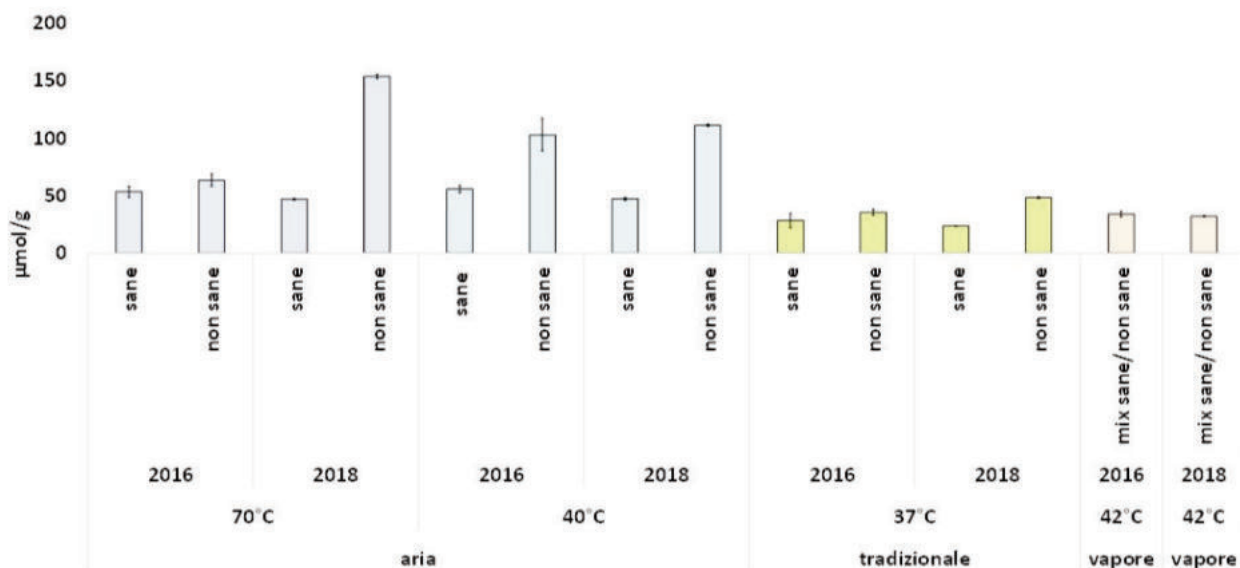


Fig. 1 - Diagramma riportante la capacità antiossidante in  $\mu\text{mol/g}$  di ogni farina con rispettiva deviazione standard.

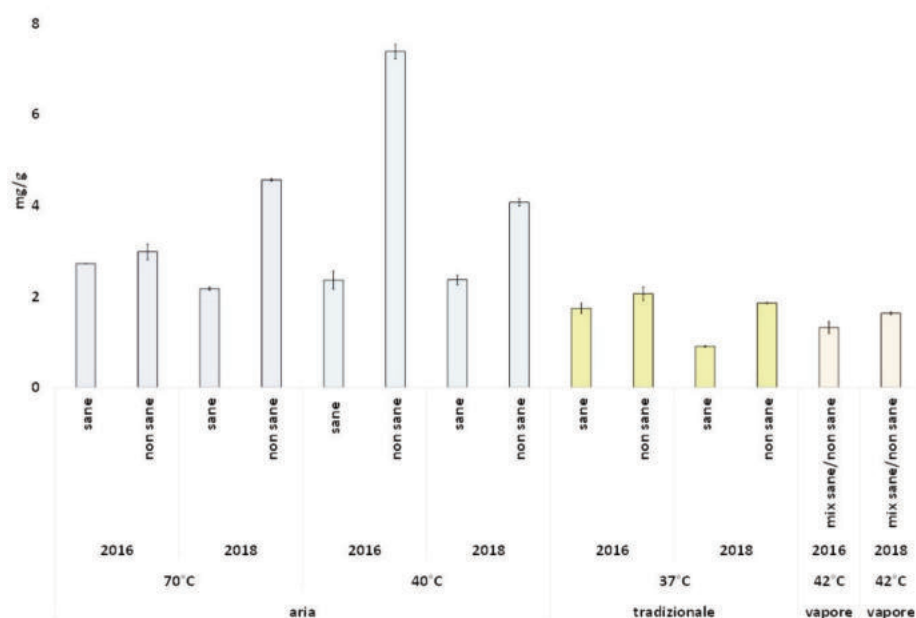


Fig. 2 - Diagramma riportante la quantità di polifenoli totali in mg/g di ogni farina con rispettiva deviazione standard.

La conoscenza della composizione del prodotto, e quindi dei valori energetici e nutrizionali, così come degli aspetti benefici, offre nuove opportunità per il mercato della castagna, e quindi anche delle sue lavorazioni.

Ciò che è importante valutare per avere un quadro abbastanza generale sulla qualità di un prodotto è anche il contenuto di tossine. In questo studio è stato preso in considerazione il gruppo delle aflatoossine che possono risultare dannose per l'organismo umano se ingerite in determinate quantità. La Commissione Europea ha posto dei limiti per le aflatoossine in ogni tipologia di cibo. Per quanto riguarda il consumo di

castagne essiccate e farina di castagne, il limite è stato fissato a 2 µg/kg e 4 µg/kg rispettivamente per aflatoossina B1 e aflatoossine totali, così come riportato dal "Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale". Il contenuto di aflatoossine B1, B2, G1 e G2 è stato analizzato per ogni farina oggetto dello studio tramite HPLC (High Performance Liquid Chromatography). I risultati (tab. 1) delle aflatoossine totali rientrano largamente nei valori consentiti per tutte le farine, in quanto sono addirittura inferiori rispetto al valore di rilevanza (LQ, Limite di quantificazione) per i tre tipi di aflatoossine (B2, G1 e G2), che è di 0,5 µg/kg. Anche per quanto riguarda l'aflatoossina B1, tutte le farine

Tab. 1 - Valori ottenuti nel contenuto di aflatoossine.

METODO	T(°C)	ANNO	STATO CASTAGNE	AFLATOSSINE (µg/kg)			
				B1	B2	G1	G2
aria	70°C	2016	sane	1,2	< 0,5	< 0,5	< 0,5
			non sane	1,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
		2018	sane	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
			non sane	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
	40°C	2016	sane	1,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
			non sane	1,2	< 0,5	< 0,5	< 0,5
		2018	sane	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
			non sane	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
tradizionale	37°C	2016	sane	1,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
			non sane	0,8	< 0,5	< 0,5	< 0,5
		2018	sane	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
			non sane	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
vapore	42°C	2016	mix sane/non sane	0,7	< 0,5	< 0,5	< 0,5
vapore	42°C	2018	mix sane/non sane	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5

analizzate rientrano nei limiti consentiti, indicando che non esiste correlazione diretta tra il deterioramento delle castagne parassitate e la tossicità del prodotto. Inoltre, è stata valutata l'umidità, parametro molto importante sia per la qualità che per la lavorabilità del prodotto. I valori ottenuti (fig. 3) dai 14 campioni rientrano all'interno del valore di umidità massima pari al 10,5%, precedentemente fissato e ottenuto dalla media fra i due parametri riportati nei disciplinari di produzione di due farine D.O.P. presenti sul mercato (farina di Neccio della Garfagnana DOP e farina della Lunigiana DOP).

Concentrandosi sia sul contenuto in polifenoli che sul potere antiossidante si evince che le farine provenienti dall'essiccazione tradizionale, dove la temperatura è soggetta a numerose e marcate oscillazioni, riportano tendenzialmente una concentrazione minore rispetto alle farine prodotte da castagne essiccate ad aria a temperatura costante. Questo è probabilmente dovuto all'azione degli enzimi che promuovono l'ossidazione dei polifenoli, come ad esempio la POD (Perossidasi) e la PPO (Polifenolossidasi), che a seconda della temperatura a cui sono sottoposte hanno maggiore o minore attività. L'attività della PPO durante la disidratazione di alcuni frutti rimane elevata per lunghi periodi a temperature intorno ai 55°C, mentre è modesta a temperature superiori a 75°C e tale andamento è confermato anche da Piga, *et al.*, (2003). Alcuni studi dimostrano, infatti, che la temperatura di essiccazione influisce sulle proprietà morfologiche e chimiche delle castagne; ciò è una prova che le proprietà della farina possono essere interessate diversamente dalle condizioni di essiccazione (Correia *et al.*, 2009).

In generale emerge quindi che ad una temperatura alta

e costante, come avviene per l'essiccazione ad aria, si mantengono valori di polifenoli e antiossidanti più alti.

Infine, ciò che si evince è un maggiore contenuto in polifenoli e una più alta capacità antiossidante per le farine prodotte da castagne visivamente parassitate. Fenoli, polifenoli e in generale gli antiossidanti sono metaboliti secondari prodotti dalle piante o dai frutti, che vengono sintetizzati per soddisfare varie necessità fisiologiche della pianta e in particolar modo per la difesa contro i parassiti, insetti ed erbivori che possono attaccare e danneggiare la pianta. Quindi i valori nettamente più alti riscontrati nelle farine provenienti da castagne parassitate possono essere attribuiti al fatto che la pianta o in questo caso il frutto, quando attaccato è stimolato ad una maggiore produzione di polifenoli e antiossidanti come molecole di difesa, poiché intervengono contro parassiti e microbi (Bennett e Wallsgrove, 1994).

In ultima analisi, per verificare la salubrità del prodotto è stato valutato il contenuto in aflatoxine e in particolar modo della B1. Da questi risultati emerge che non esiste una correlazione evidente tra il contenuto di aflatoxine presenti nelle farine e la presenza di parassiti nel frutto. Quindi i valori di maggior contenuto sia in polifenoli che in antiossidanti ottenuti con le farine prodotte da castagne visivamente parassitate non presentano a loro volta anche concentrazioni elevate di aflatoxine.

Da prendere in considerazione sono anche i parametri di umidità, importanti per la qualità dei prodotti, che risultano più bassi per le farine derivate da castagne essiccate tradizionalmente, anche se si mantengono ottimi per tutte le tipologie.

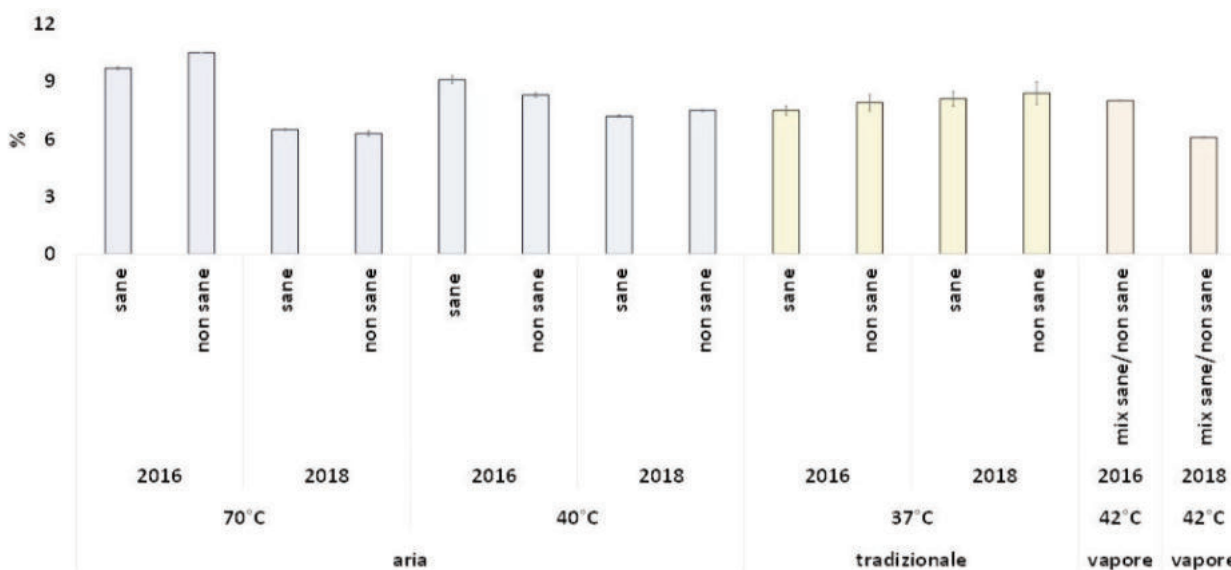


Fig. 3 - Grafico dei valori di umidità espressi in percentuale

Attraverso l'utilizzo di metodi di indagine analitici è stato quindi possibile fornire delle indicazioni aggiuntive al fine di valorizzare sia il prodotto che la zona di origine, dando la possibilità ad un'associazione locale di poter recuperare in modo ancora più efficace una coltivazione che rappresenta nel territorio un'importante risorsa economica.

### Bibliografia

- BARREIRA, J.C.M., FERREIRA, I.C.F.R., BEATRIZ, M., OLIVEIRA, P.P., PEREIRA, A., 2008. *Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit*.
- BENNETT, R.N., WALLSGROVE, R.M., 1994. *Secondary metabolites in plant defence mechanisms*. *New Phytol.* 127, 617–633.
- BENZIE, I.F.F., STRAIN, J.J., 1996. *The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay*. *Anal. Biochem.* 239, 70–76.
- CORREIA, P., LEITÃO, A., BEIRÃO-DA-COSTA, M.L., 2009. *The effect of drying temperatures on morphological and chemical properties of dried chestnuts flours*. *J. Food Eng.* 90, 325–332.
- HENRÍQUEZ C., ALMONACID S., CHIFFELLE I., VALENZUELA T., ARAYA M., CABEZAS L., SIMPSON R., SPEISKY H., 2010. *Determination of Antioxidant Capacity, Total Phenolic Content and Mineral Composition of Different Fruit Tissue of Five Apple Cultivars Grown in Chile*. *Chil. J. Agric. Res.* 70, 523–536.
- KHLANGWISET P., SHEPHARD G.S., WU F., 2011. *Aflatoxins and growth impairment: A review*. *Crit. Rev. Toxicol.* 41, 740–755.
- PIGA A., DEL CARO A., CORDA G., 2003. *From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(12), 3675-3681.
- SINGLETON V.L., ROSSI J.A., 1965. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. *American journal of Enology and Viticulure*, 16(3), 144-158