



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELLA TUSCIA
DI VITERBO**

Dipartimento di Produzione Vegetale

Dottorato di Ricerca in Ortoflorofrutticoltura A. A. 2005/2006 - Ciclo XIX

Tesi di Dottorato

Studio della qualità nella filiera produttiva di ortive di IV gamma allevate con float system. Caratterizzazione delle molecole antiossidanti e valorizzazione di mercato.

AGR/04

Coordinatore

Prof. Francesco Saccardo

Tutor

Dott.ssa Elvira Rea

Dottorando

Dott.ssa Anna Salerno

RINGRAZIAMENTI

Non è facile, nel porgere i miei ringraziamenti, dare una priorità a chi, contribuendo con la sua esperienza, mi ha supportato nello svolgimento del mio dottorato di ricerca. In Ciascuna di queste persone ho apprezzato il valore professionale oltre che umano.

Al coordinatore del mio dottorato in ortoflorofrutticoltura, il Prof. Francesco Saccardo rivolgo un doveroso ringraziamento per avermi dato l'opportunità, con questa esperienza, di entrare nel mondo della ricerca scientifica come parte attiva.

Al mio tutor, la Dott.ssa Elvira Rea va la mia sincera gratitudine per avermi guidato in questo lavoro di ricerca, un percorso non sempre facile di cui lei ha saputo indicarmi la giusta direzione. La ringrazio per il paziente lavoro di revisione di questa tesi e la comprensione espressa quando ne ho avuto bisogno.

Al Collaboratore Agrario Fernando Pierandrei che ha rivestito un ruolo fondamentale, va tutto il mio riconoscimento. Da lui mi sono giunte preziosi suggerimenti, fondamentali e decisivi per l'impostazione delle parti sperimentale e per il prosieguo del lavoro.

Ringrazio il Dr. Valentini e la sua collaboratrice Dott.ssa Alessandra Ciampa operanti presso il Centro strumentale del CRA-Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante presso cui sono state svolte tutte le analisi di risonanza magnetica NMR e MRI. La loro esperienza scientifica è stata un utile supporto per il conseguimento dei risultati analitici di una parte importante della ricerca.

Ringrazio i ricercatori del Dipartimento GEMINI Dell'Università Degli Studi della Tuscia di Viterbo. Dr. Giuseppe Colla, Dr. Joe Roupheal e collaboratori, per aver potuto disporre dei loro campi sperimentali presso cui ho realizzato la parte sperimentale delle prove di allevamento. A loro vanno i miei ringraziamenti anche per la collaborazione nel lavoro puntuale di revisione e correzione delle pubblicazioni scaturite dai risultati della ricerca sviluppata in questo triennio.

Ai miei colleghi, Monica Tullio, Federico Calviello, Simona Rinaldi, Carlos Mario Rivera, Cristina Mirabelli, Gianluca Fabrizio, Simone Fanasca, Claudio Beni, Rita Aromolo, Dr. Giampaolo Diana. Ringrazio anche loro per avermi supportato nell'attività di laboratorio, e direi anche sopportato i miei malumori nei

momenti di difficoltà nel lavoro. Con loro ho potuto trascorrere anche momenti di gioia e ilarità ricevendo non rare manifestazioni di amicizia.

Alla mia famiglia che silenziosamente mi ha sostenuto non mancando mai di incoraggiarmi nel condurre a termine il mio compito.

A chi fisicamente non c'è più, mia madre, la cui presenza è sempre viva nel mia mente e nel mio cuore. A lei, senza nulla togliere a chi ho qui citato, va il mio più immenso grazie. A lei e a mio padre devo il mio percorso formativo e la mia educazione. Il loro esempio di tenacia mi accompagnerà per tutta la vita.

Anna Salerno

INDICE

CAPITOLO 1. INTRODUZIONE	6
1.1. Qualità degli ortaggi e coltivazione senza suolo	7
1.2. Soluzione nutritiva nell'allevamento fuori suolo	9
1.3 Floating System e ortaggi di IV gamma.	10
1.4. Il Ravanello: botanica, qualità nutrizionale, sistemi di allevamento	12
1.5. La sperimentazione	16
2.1. <i>Materiali e Metodi</i>	18
Piano sperimentale e rilievi	18
Analisi statistica	19
2.2. <i>Risultati e Discussione</i>	22
Consumi di soluzione nutritiva ed esigenze idriche	22
Resa e produzione commerciale	22
Calibro degli ipocotili	28
Macro e microelementi nelle foglie e negli ipocotili	32
Attività antiossidante	35
2.3. <i>Conclusioni</i>	37
CAPITOLO 3. EFFETTI DELLA SOLUZIONE NUTRITIVA SULLA PRODUZIONE E QUALITA' DI RAVANELLO (RAPHANUS SATIVUS L.) ALLEVATO MEDIANTE FLOATING SYSTEM	38
<i>Introduzione</i>	38
3.1 <i>MATERIALI E METODI</i>	38
Piano Sperimentale e Rilievi	38
Analisi statistica	40
3.2. <i>Risultati e Discussione</i>	42
Consumi di soluzione nutritiva. Composizione delle soluzioni a fine e inizio ciclo.	42
Produzione	45
Calibri medi	51
Macro e microelementi nelle ipocotili e nelle foglie	53
Nitrati	54
Attività antiossidante totale	59
Polifenoli totali.	61
Antocianine totali	61
Glucosinolati	63
3.3 <i>Conclusioni</i>	70
Produzione	70
Caratteristiche qualitative	70
CAPITOLO 4. RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE AD ALTA RISOLUZIONE (NMR) E PER IMMAGINI DI RAVANELLO (RAPHANUS SATIVUS L.) ALLEVATO SU FLOAT SYSTEM E SU SUOLO.	73
4.1. <i>Caratterizzazione qualitativa del ravanello allevato su Floating System mediante Analisi di Risonanza Magnetica ad Alta Risoluzione (NMR)</i>	73
Materiali e Metodi	73
Risultati e Discussione	74
Conclusioni	82
4.2. <i>Studio dei cambiamenti morfologici e strutturali del ravanello allevato su suolo, mediante Analisi di Risonanza Magnetica per Immagini (MRI), durante il periodo di post-raccolta.</i>	83
Introduzione	83
Materiali e Metodi	85
Risultati e Discussione	85

Morfologia e struttura del ravanello	85
Effetto della disidratazione	88
Conclusioni	89
CAPITOLO 5. METODI ANALITICI	91
5.1 Macro e micro elementi	91
5.2 Azoto totale : metodo Kjeldahl.	91
5.3 Azoto totale: metodo della combustione	93
5.4 Nitrati	93
5.5 Attività antiossidante e polifenoli totali	94
5.5.1 Attività antiossidante	94
5.5.2 Polifenoli totali	95
5.6 Antocianine totali	95
5.7 Glucosinolati	97
CONCLUSIONI FINALI	99
BIBLIOGRAFIA	101

CAPITOLO 1. INTRODUZIONE

Le modificazioni socioeconomiche che negli ultimi decenni hanno interessato la società occidentale si sono accompagnate a nuovi stili di vita così come a rinnovate esigenze alimentari del consumatore moderno. Il concetto di qualità degli alimenti si è evoluto parallelamente a tali cambiamenti pur rimanendo ancorato a componenti anche soggettive. Secondo una definizione internazionale contenuta nella norma UNI EN ISO 8402:1995 la qualità è l'insieme delle caratteristiche di un prodotto o di un servizio che lo rendono capace di soddisfare esigenze dichiarate o implicite. La percezione di qualità si è andata arricchendo di nuovi elementi che oltre a coinvolgere le caratteristiche organolettiche e nutrizionali degli alimenti richiama l'attenzione anche sugli aspetti salutistici e di impatto ambientale del processo produttivo (produzione a basso input chimico, salvaguardia della naturalità del prodotto e suo legame con il territorio e la tradizione, e infine di correttezza deontologica del produttore (es. rispetto dei diritti e della sicurezza dei lavoratori, sfruttamento di lavoro minorile o di immigrati ecc.). La filiera produttiva in tutte le sue fasi deve infatti garantire elevati standard e superare la doppia sfida della sostenibilità e garanzia di qualità dei prodotti. Le soluzioni adottate in questo senso muovono da più direzioni una delle quali prevede lo sviluppo di nuove tecniche colturali alternative a quelle convenzionale sulla cui validità dal punto di vista agroambientale e del livello quali-quantitativo della produzione vanno approfonditi alcuni aspetti.

1.1. Qualità degli ortaggi e coltivazione senza suolo

Gli ortaggi sono una categoria di prodotti alimentari utilizzati soprattutto allo stato fresco e largamente consumati nei Paesi del Mediterraneo dove la coltivazione di piante da orto vanta antichissime tradizioni legate al clima caldo e alle proprietà depurative, dissetanti e digestive, ecc. di questi prodotti.

Il valore nutrizionale degli ortaggi risiede più che nel loro tenore energetico nell'abbondante apporto di acqua, sali minerali, vitamine, fibre, e vari elementi nutritivi fondamentali in quanto regolatori del metabolismo. Trovano pertanto ampio utilizzo in diete ipocaloriche o comunque in un regime alimentare equilibrato rappresentano una componente indispensabile.

Diverse ricerche indicano la presenza nei vegetali e nella fittispecie gli ortaggi, di molecole biotattive capaci di esplicare un'azione protettiva nella difesa da malattie degenerative in virtù del loro potere antiossidante di contrasto alla formazione durante il metabolismo ossidativo, di molecole di radicali liberi, tra cui il radicale ossidrilico ($\text{OH}^\cdot$), lo ione superossido ($\text{H}_2\text{O}_2^\cdot$). A questi gruppi chimici elettrofili, responsabili più o meno direttamente di danni al materiale genetico cellulare, del nucleo o mitocondriale, vanno imputate alterazioni metaboliche a cui si riconduce l'eziologia di diverse patologie da quelle cardiovascolari, tumorali, neurologiche (Basu, 1999; Ghiselli et al., 1997; Meyer et al., 1997; Tijburg et al., 1997; Vinson et al., 2001).

Molecole quali fenoli, flavonoidi, carotenoidi, acido ascorbico, alfa tocoferolo, contenuti in frutta e ortaggi sono apprezzati per le loro proprietà antiossidanti e quindi per il potenziale biologico ed effetto di promozione dello stato di salute del corpo umano. Il termine nutraceutico associato ai prodotti vegetali trova giustificazione nella loro dotazione di tali sostanze biotattive tanto da appellare alcuni di essi come alimenti funzionali particolarmente ricchi di alcune delle molecole sopra citate. Il contenuto di queste molecole bioattive, prodotte prevalentemente dal metabolismo secondario delle piante, nei vegetali può essere influenzato da fattori pre e post raccolta oltre che dal genotipo e da condizioni pedoclimatiche (Schreiner, 2005). Le tecniche culturali possono infatti costituire uno strumento con cui influenzare e/o modulare il valore nutrizionale degli ortaggi, entro certi limiti dettati dalla fisiologia e dalle caratteristiche genetiche di questi ultimi. E' infatti evidente quanto l'evoluzione in campo agrotecnico,

insieme alla selezione di nuovi genotipi, contribuisca a migliorare gli standard qualitativi di questi prodotti rispondendo alle nuove esigenze nutrizionali salutistiche e ambientali del consumatore. In questa ottica è stata rivolta l'attenzione anche alle tecniche colturali alternative a quelle tradizionali; tra queste si annovera la coltivazione in fuori suolo.

I sistemi di coltivazione senza suolo in quanto sistemi agrari antropizzati e controllati appaiono in contro tendenza alle rinnovate esigenze nutrizionali e salutistiche e ambientali che i consumatori della attuale società fanno convergere nel concetto globale di qualità di un alimento. Ad un'analisi più approfondita essi sembrano invece garantire elevati standard qualitativi. Il profilo qualitativo degli ortaggi ottenuti da sistemi di coltivazione senza suolo appare sostanzialmente sovrapponibile a quello dei corrispondenti prodotti provenienti da coltivazioni tradizionali su suolo. Le differenze, ove sperimentalmente accertate, sembrano a favore dei metodi senza suolo per i parametri inerenti alle caratteristiche nutrizionali, organolettiche e igienico sanitarie. Nella coltivazione senza suolo degli ortaggi, accanto a quelle determinate dai costituenti chimici dell'ortaggio, molte altre caratteristiche del prodotto, soprattutto esteriori possono risultare modificate, spesso in senso favorevole, a motivo del migliore controllo dei fattori ambientali e tecnici rispetto alla tradizionale coltivazione su terreno (Santamaria, 2001).

Grazie all'intenso assorbimento e all'attività metabolica delle radici, le foglie delle piante allevate senza suolo sembrano essere fisiologicamente più attive. Questo è dimostrato dalla più intensa sintesi clorofilliana e dall'incremento della fotosintesi netta (Mairapetyan, 1985).

Sono diversi i risultati sperimentali che orientano le possibilità applicative dei sistemi senza suolo verso la coltivazione ortaggi con valore aggiunto, con composizione chimica e valore nutritivo ben definiti e pertanto rispondenti a precisi requisiti dietetici (Santamaria, 2001). In tal senso appare fondamentale la gestione della soluzione nutritiva attraverso il controllo dei suoi parametri, conducibilità elettrica (CE), pH, temperatura e composizione.

1.2. Soluzione nutritiva nell'allevamento fuori suolo

Nei sistemi di allevamento senza suolo degli ortaggi, la soluzione nutritiva rappresenta un fattore chiave per un'ottimizzazione della produzione ai fini sia di un controllo che di un possibile miglioramento della qualità finale del prodotto. Attraverso la modifica della composizione o della gestione della soluzione nutritiva è infatti possibile migliorare la qualità dei prodotti (Santamaria e Valenzano 2001). I sistemi senza suolo presentano infatti un aspetto assai importante ai fini dei riflessi sulla qualità del prodotto; esso riguarda l'impiego di soluzioni nutritive a concentrazione e a composizione nota, e quindi in misura più o meno puntuale in rapporto al substrato, la possibilità di un controllo quantitativo e qualitativo del processo di alimentazione idrica e minerale della pianta (La Malfa 1996). La soluzione nutritiva deve provvedere a soddisfare le esigenze della pianta in termini sia di macro che di microelementi fornendo i giusti apporti in tutte le fasi del ciclo biologico. Il sistema senza suolo è dunque ideale per l'ottimizzazione dell'assorbimento radicale, mediante la regolazione della temperatura, aerazione e salinità della soluzione nutritiva (SN), e mediante aggiustamento del volume e della composizione della stessa, per una efficiente crescita e produzione della pianta (Adams, 1992, 1993; Mairrapetyan, 1985; Osvald e Petrovic, 1999). Inoltre, al fine di garantire un ottimale livello di assorbimento è indispensabile mantenere precisi rapporti ionici da cui dipendono le relazioni di antagonismo, sinergismo e/o di sostituzione che si instaurano a livello radicale (es. K^+ / Ca^{++} , Mg^{++} , NO_3^-/Cl^-). Non esiste un'unica soluzione nutritiva che può essere utilizzata universalmente per tutte le specie. Poiché i genotipi, i diversi sistemi senza suolo che possono essere utilizzati e gli ambienti di coltivazione interagiscono tra di loro, ai fini dell'ottimizzazione della soluzione nutritiva occorre considerare le seguenti variabili:

- specie e cultivar;
- fase del ciclo biologico;
- ciclo colturale e condizioni climatiche.

E' da sottolineare inoltre come nelle coltivazioni su senza suolo vengano utilizzate soluzioni le cui concentrazioni possono eccedere anche 3 o 4 ordini di grandezza le reali esigenze nutritive delle specie coltivate, creando consumi di lusso. L'uso di concentrazioni elevate non trae tuttavia motivazione in esigenze di

ordine fisiologico bensì da un'unica ragione pratica, di assicurare cioè alla pianta una sufficiente riserva nutrizionale nel caso non sia possibile provvedere ad un continuo controllo della soluzione che risulterebbe squilibrata nel lungo periodo.

Riguardo a tale aspetto ricerche sperimentali hanno evidenziato la possibilità di una riduzione complessiva del contenuto di elementi nutritivi della soluzione coerentemente agli effettivi tassi di assorbimento determinati sulla base di periodiche analisi di laboratorio (principio della rigenerazione proposto da Nielsen (1984). Concentrazione e rapporti ionici bilanciati verrebbero posti in relazione agli effettivi assorbimenti, variabili nelle diverse fasi fenologiche, considerando le condizioni culturali e ambientali, sempre entro i limiti imposti dalla selettività degli assorbimenti che rendono la pianta capace di selezionare gli ioni minerali assorbiti in rapporti adeguati alle proprie esigenze e di regolare così il proprio stato nutrizionale (Pardossi et al, 1994). La riduzione complessiva del contenuto di nutrienti non influenzerebbe il tasso di assorbimento e quindi i contenuti nelle piante nonché gli aspetti qualitativi e quantitativi finali. I risultati ottenuti permettono di definire una strategia di reintegro delle soluzioni con conseguente risparmio e quando possibile riduzione dei costi di gestione (. La modulazione della soluzione nutritiva, unitamente ad altri fattori, sia ambientali (es. temperatura, radiazione luminosa) che del sistema senza suolo adottato (presenza o meno di substrati) potrebbe, entro certi limiti dettati dalla selettività degli assorbimenti e dai meccanismi omeostatici della pianta, influenzare i livelli di assorbimento stesso con riflessi diretti sull'efficienza di crescita e sviluppo ovvero sul contenuto minerale degli ortaggi e in definitiva sulla loro qualità nutrizionale.

1.3 Floating System e ortaggi di IV gamma.

Tra i sistemi in fuori suolo, è necessario distinguere tra quelli realizzati in presenza o in assenza di un substrato. Il substrato è costituito da materiali di diversa natura e di origine organica (compost, fibra di cocco ecc) o inorganica (lana di roccia, perlite , pozzolana , ecc.) che assolve alle funzioni di ancoraggio della pianta e di veicolo della soluzione nutritiva concorrendo in una certa misura all'apporto degli elementi nutritivi. Tra i sistemi senza suolo realizzati in assenza

di substrato ed in presenza della sola soluzione nutritiva si distinguono l'aroponica e l'idroponica galleggiante o floating system. In entrambi i casi i sistemi di supporto delle piante sono costituiti da pannelli di polistirolo provvisti di fori entro i quali viene allocato il seme, nel caso in cui lo sviluppo vi si realizzi sin dalla fase della germinazione con un piccolo quantitativo di substrato inerte, costituito da perlite, vermiculite o lana di roccia, o se diversamente vi si trapiantano piantine già sviluppate. Nell'areoponica la soluzione nutritiva viene vaporizzata al livello delle radici con sistema di emissione automatico che funziona in continuo. Il floating system o sistema dei pannelli galleggianti consiste invece nella coltivazione di vegetali in vasche d'acqua in presenza delle soluzioni nutritive (Sambo et al., 2001). Il supporto delle piante è costituito da telai galleggianti, normalmente di polistirolo espanso, provvisti di fori o fessurati in modo da potervi predisporre modesti quantitativi di substrato inerte (vermiculite, perlite, lana di roccia, ecc.) per l'allocazione del seme (Dellacecca e Calegari, 2001). Il floating system appare di particolare interesse per la coltivazione in fuori suolo di ortaggi da foglia definiti di IV gamma e per i quali sono al vaglio diverse tecnologie per la preparazione e la sicurezza d'uso (Elia et al, 2001); si tratta essenzialmente di ortaggi lavorati, tagliati e confezionati pronti all'uso (Saccardo e Crinò, 2003) composti da insalate, mix di insalate e insalate integrate con altri ortaggi (Valenzano, 2003). I requisiti richiesti alla materia prima per la destinazione alla IV gamma sono quelle che soddisfano meglio le esigenze del consumo come il colore, l'alta resistenza ai processi ossidativi dopo l'operazione di taglio, l'assenza di terreno o altro materiale solido, l'eventuale presenza di residui di fitofarmaci e di nitrati entro i limiti di tolleranza, la limitata carica microbica, l'elevato contenuto di sostanza secca e la durata dello shelf life (Valenzano, 2003).

Per questa categoria di prodotti si rendono inoltre necessari sistemi di coltivazione che consentano rapidità dei cicli colturali, uniformità di crescita, produzioni costanti ed uniformi, elevati standard quali-quantitativi con particolare riguardo al contenuto di nitrati (Elia et al., 2001) di micronutrienti, di molecole antiossidanti, e agli aspetti igienico salutistici e ambientali del processo produttivo. Il floating system ha dimostrato di essere un sistema particolarmente versatile per la produzione di ortaggi da foglia a ciclo breve (es. tarassaco, crescione, erba

cipollina, borragine) da destinare alla quarta gamma rispondendo a molti dei requisiti richiesti per queste produzioni (Elia et al., 2001). Le prospettive emerse dagli studi di adattabilità a questo sistema di allevamento di diverse specie appaiono alquanto positive sia in termini di rese sia di qualità globale del prodotto che risulta migliorata sotto il profilo igienico per l'assenza di residui di terra che rende più blandi gli interventi di lavaggio post raccolta.

Diverse inoltre sono le indicazioni sperimentali sull'utilità del floating system per l'allevamento di piante (es. rucola e basilico) utilizzando acque a differente contenuto salino (Incrocci et al., 2001; D'Anna et al., 2003). Il principale vantaggio del float system è il grande volume di soluzione nutritiva che riesce a soddisfare in modo ottimale le esigenze nutritive e idriche delle piante per diversi cicli di coltivazione riducendo al minimo gli interventi di manodopera necessari per l'irrigazione e la gestione di un impianto idroponico. In ultimo ma non meno rilevanti sono la semplicità costruttiva e l'economicità gestionale di questa tecnica (Incrocci et al., 2001).

1.4. Il Ravanella: botanica, qualità nutrizionale, sistemi di allevamento.

Il ravanella (*Raphanus sativus* L.) è una specie ortiva erbacea dicotiledone appartenente alla famiglia delle Cruciferae o Brassicaceae originaria dei paesi asiatici. Conosciuta da oltre tremila anni in Cina, questa specie era già ampiamente coltivata all'epoca dei Greci e dei Romani. E' provvista di un corredo cromosomico diploide ($2n = 18$ cromosomi) anche se in natura possono esistere tetraploidi. E' una specie fortemente allogama in funzione del sistema di autoincompatibilità delle crucifere in cui il polline di un altro individuo è avvantaggiato sul polline dello stesso individuo poiché per quest'ultimo si forma una barriera alla penetrazione del tubo pollinico. Per effettuare autofecondazioni sulla pianta infatti si devono eseguire fecondazioni molto precoci allo stadio di bottone prima della apertura del fiore. Il miglioramento genetico del ravanella è iniziato con la costituzione di varietà fissate derivate da selezione genealogica (mancanti di elevato grado di omogeneità) ed in seguito, grazie all'introduzione della maschiosterilità, è proseguito con la costituzione di ibridi F1.

La porzione edule è costituita prevalentemente dall'ipocotile modificato per ingrossamento e la cui formazione è strettamente legata al fotoperiodo. Dal punto di vista anatomico esso consiste principalmente di tessuto parenchimatoso del floema e dello xilema secondari. L'abbondante presenza di parenchima di riserva è all'origine della caratteristica succulenza di questa radice modificata. Esistono parecchie selezioni che si distinguono per la forma della radice (tonda, oblunga o cilindrica), e per la colorazione dell'epidermide o periderma (cortex), che si può presentare da parzialmente a totalmente colorata di rosso; esistono varietà in cui l'epidermide risulta totalmente bianca. La colorazione può in alcune varietà essere distribuita anche a livello della polpa. Le varietà più diffuse in Italia sono quelle di tipo tondo con colorazione dell'epidermide variabile dal bianco al rosso carminio e con polpa bianca anche se nelle regioni del nord si è andata affermando la coltivazione di varietà di forma allungata dal colore rosso intenso dell'epidermide. Le varietà coltivate vengono classificate anche in base alla stagione di coltivazione.

Si tratta di una pianta erbacea annuale con ciclo colturale breve (30-50 giorni); ciò la rende molto interessante da un punto di vista agronomico perché permette di svolgere più cicli l'anno se la coltura è specializzata, o d'intercalarla ed associarla ad altri ortaggi considerati principali come pomodoro, insalate, cipolla e peperone (Tesi et al., 2005). Per la brevità del ciclo biologico, previa opportuna scelta dell'epoca di semina e della varietà, il ravanella può essere coltivato in ambienti diversi, anche se predilige quelli freschi e non troppo soleggiati, con terreni ricchi di humus e caratterizzati da elevata fertilità.

Il valore nutrizionale del ravanella è legato all'alto contenuto di vitamine B (vitamina B6, riboflavina o vitamina B2), vitamina C (acido ascorbico) e acido folico, e di minerali tra cui calcio magnesio, fosforo, ferro rame e in particolare potassio.

Il colore rosso del parenchima o della sola cortex, o periderma, è legato alla presenza di antocianine, molecole appartenenti alla famiglia dei flavonoidi, diffusi in natura, pigmenti idrosolubili responsabili del colore rosso, blu e porpora di molti tessuti vegetali. Le antocianine si presentano dal punto di vista strutturale come dei glucosidi o acilglicosidi dei loro rispettivi agliconi antocianidine (Mazza, G. and Miniati, E. 1993). Sono molecole importanti per la fisiologia della

pianta, nella difesa dagli insetti e per la riproduzione durante l'impollinazione e che oggi vengono considerate molecole interessanti sia nell'applicazione industriale come fonti di coloranti naturali sia per la salute umana (Stintzing and Carl, 2004; Prior, 2004). L'attenzione focalizzata recentemente sui possibili benefici di queste molecole sull'organismo umano, deriva dalle attività antiossidante, antinfiammatoria e protettiva sul sistema cardiovascolare e contro la perossidazione lipidica (Kahkonen and Heinonen, 2003; Wang et al., 1997; Kong et al. 2003; Hou, 2003; Rossi et al, 2003).

Il ravanello, insieme ad altri ortaggi quali il cavolo rosso e la patata rossa, rappresenta quello a più alto tenore in antocianine ed in particolare antocianine coniugate con zuccheri e gruppi acilati (Gusti and Wrolstad, 2003). Questi gruppi conferiscono ad esse una struttura chimica molto complicata ritenuta tuttavia importante nella industria alimentare in quanto all'origine della loro elevata stabilità come coloranti (Wu and Prior, 2005). Le antocianine caratterizzate nel ravanello rosso sono principalmente del gruppo delle pelargonidina 3 soforoside-5 glucoside nota anche come rafanusina mono o diacilata con acidi cinnamici (acidi ferulico, p-cumarico e caffeico) e acido malonico (Giusti et al. 1998; OtsuKi et al., 2002). Tra i polifenoli si annovera la presenza di rafanolo alla quale viene riconosciuta una buona attività antimutagenica. Il ravanello contiene inoltre diversi tipi di glucosinolati, ossia tioglucosidi derivati da amminoacidi che costituiscono un gruppo di composti solforati comuni costituenti delle Brassicacee (Matthäus and Luftmann, 2000) e a cui è legato il caratteristico aroma amaro e piccante; tra essi la glucorafanina, glucorafenina e 4-metiltio3-butenil glucosinolato o glucorafasatina. Quest'ultimo rappresenta il principale glucosinolato anche se presente in differenti concentrazioni nell'ambito delle diverse cultivar (Hedges and Lister, 2005; Visentin et al., 1992).

Ai glucosinolati vengono riconosciute proprietà anticancerogene nei confronti dei polmoni e dell'apparato digerente (Tesi et al., 2005). L'attività biologica di queste molecole è essenzialmente legata ai loro prodotti di idrolisi enzimatica, gli isotiocianati per opera di enzimi mirosinasi rilasciati dalle cellule vegetali durante la distruzione dei tessuti nel corso della raccolta, durante la conservazione e il trattamento post raccolta dei prodotti e anche durante la masticazione. Gli stessi enzimi sono inoltre prodotti dalla stessa flora batterica intestinale di alcune specie

animali inclusa quella umana. Il meccanismo di azione degli isotiocianati, come attestato da studi sperimentali sia in vivo che in vitro, sembra esplicarsi attraverso l'induzione degli enzimi della fase I (principalmente citocromi P450) e della fase II coinvolti nei processi di detossificazione dagli xenobiotici ivi compresi gli agenti cancerogeni (Srinibas et al., 2000; Rabot et al., 1993; Bogaards et al., 1994; Jao et al., 1996; Talalay and Fahey, 2001). Funzionano come antiossidanti diretti (Zhu et al., 2000; Zhu and Loft, 2001, 2003) o indiretti attraverso la induzione degli enzimi della fase II (es. glutatone transferasi, epossido idrolasi, NAD(P)H: chinone reduttasi e glucuronosiltransferasi), i quali sono direttamente implicati nei meccanismi di protezione contro i processi di carcinogenesi e mutagenesi, gruppi elettrofili tossici e forme molecolari reattive dell'ossigeno quali $\text{HO}^\cdot$, H_2O_2 ecc) (Fahey et al., 1997; Hayes and McLellan, 1999; Talalay and Fahey, 2001; Mc Walter et al., 2004). Agiscono anche modulando i segnali cellulari (Xu and Thornalley, 2001), o attraverso l'induzione dell'apoptosi (YU et al., 1998; Chiao et al., 2002,) il controllo del ciclo cellulare (Yu et al., 1998; Zhang et al., 2003b; Wang et al., 2002) e la riduzione delle infezioni da *Helicobacter* (Fahey et al., 2002). La concentrazione dei glucosinolati dipende da vari fattori quali varietà, condizioni di coltivazione, clima e pratiche agronomiche. La concentrazione in una pianta varia inoltre tra varie parti o organi della stessa (Srinibas et al., 2000).

Le caratteristiche salutistiche sopra enunciate possono essere ritenute un buona ragione per favorire lo sviluppo della coltura del ravanella, attualmente diffusa particolarmente nel Nord Europa e in Italia, con tecniche convenzionali su suolo.

Le principali caratteristiche qualitative quali, il colore, la forma, la consistenza e la spongiosità sono legate sia al genotipo che alle pratiche agronomiche. E' pertanto ragionevole considerare l'ottimizzazione di tali fattori, così come la valutazione delle condizioni ambientali, la chiave giusta per il miglioramento della qualità. In particolare il ravanella ha evidenziato differenti risposte in relazione al periodo e alla densità di semina (Kanwar, 1993).

Nella coltivazione in fuori suolo e su suolo risulta evidente che pratiche culturali quali la fertilizzazione e l'irrigazione possono influenzare il valore nutrizionale dei vegetali (Park e Fritz, 1984). Il float system potrebbe rappresentare un buon

sistema che consentendo la modificazione controllata della soluzione permette di ottenere un prodotto con precise caratteristiche nutrizionali.

Partendo da queste considerazioni è stata avviata a partire dal 2003 una ricerca per l'ottimizzazione della produzione di ravanello tondo rosso su float system.

Scopo della ricerca è stato quello di valutare gli effetti del sistema di allevamento senza suolo "float system", sulla produttività e sulla qualità di ravanello destinato alla IV gamma.

1.5. La sperimentazione

L'attività svolta il primo anno è consistita principalmente nella messa a punto del sistema di allevamento per la coltivazione di ravanello al fine di ottenere un prodotto fresco di qualità pronto per il consumo e con un buon valore nutrizionale da destinare alla IV gamma. La sperimentazione condotta ha visto essenzialmente l'allevamento del ravanello su pannelli galleggianti a due densità d'impianto, 720 e 1320 piante/m².

La fase successiva della ricerca, oggetto dell'attività del secondo anno di dottorato, è stata l'ottimizzazione della soluzione nutritiva al fine di ottenere un prodotto con un contenuto minerale modificato e/o con un profilo qualitativo rispondente ai parametri standard. Modulando la soluzione nutritiva a tre diversi livelli di concentrazione, ovvero 100%, 75% e 50% sono stati valutati gli effetti sulla produzione e sulla qualità.

Ulteriori aspetti della qualità del prodotto ottenuto sono stati oggetto di studio nel corso del III anno di dottorato durante il quale sono stati esaminati gli effetti della soluzione nutritiva sul corredo di macromolecole biotiche che concorrono all'attività antiossidante e legate a questa alle caratteristiche nutraceutiche del ravanello. È stato possibile delineare il profilo qualitativo esaustivo di questa specie quando allevata in fuori suolo mediante la tecnica del float system. Su campioni liofilizzati di ipocotili di ravanello coltivato con una soluzione nutritiva standard a tre diversi livelli di concentrazione, 100%, 75% e 50% è stato determinato il contenuto dei principali composti bioattivi, in particolare polifenoli totali, antocianine totali, glucosinolati. Alcuni di questi rappresentano degli indicatori di qualità del prodotto e vengono assunti come criterio di rispondenza

agli standard qualitativi: le antocianine responsabili del colore e della brillantezza e i glucosinolati della caratteristica piccantezza.

La caratterizzazione qualitativa è stata completata da uno studio della composizione chimica degli stessi campioni mediante analisi di risonanza magnetica nucleare ad alta risoluzione (NMR) su estratti acquosi e in cloroformio.

CAPITOLO 2. COLTIVAZIONE DEL RAVANELLO (*RAPHANUS SATIVUS* L.) SU FLOATING SYSTEM. MESSA A PUNTO DEL SISTEMA DI ALLEVAMENTO

2.1. Materiali e Metodi

Piano sperimentale e rilievi

La ricerca è stata condotta presso l'azienda sperimentale dell'Università degli Studi della Tuscia in una serra non riscaldata. Scopo dell'attività è stato la messa a punto del sistema di allevamento: tipologia del pannello e composizione della soluzione nutritiva. Sono state prese in considerazione due cultivar di ravanella (*Raphanus sativus* L.), Girox e Suprella, (Vilmorin e Nunhems), a ciclo primaverile- estivo. Sono stati effettuati due cicli di allevamento nei periodi 19 Maggio-8 Giugno e 11 Giugno-1 Luglio 2004. Per l'allevamento è stata utilizzata una soluzione nutritiva standard con la seguente composizione: (mg l⁻¹): Ca₂NO₃ (903), KH₂PO₄(205), K₂SO₄(274), Mg(NO₃)₂(384), NH₄NO₃ (40), FeEDTA (30) e mix microelementi 0,1ml/l. Sono state adottate due densità d'impianto di 720 e 1320 piante/m² rispettivamente, utilizzando due tipologie di pannelli di polistirolo con fori rettangolari (con numero totale di fori pari a 120 e 228). Nei pannelli è stato distribuito un piccolo quantitativo di substrato, costituito da una miscela di vermiculite e perlite (9:1 v/v), necessario alla germinazione dei semi. Lo schema sperimentale adottato per ogni ciclo di coltivazione è stato a blocchi randomizzati con 2 repliche per ogni tesi considerata (Foto 1, 2, 3 e 4). Durante il ciclo di coltivazione sono stati effettuati controlli regolari del pH, conducibilità elettrica (CE) temperatura e concentrazione dell'ossigeno disciolto nelle soluzioni nutritive utilizzate, mediante elettrodi di pH ed elettrodi misuratori di O₂. Durante entrambi i cicli di allevamento i valori di elettroconducibilità (EC) sono oscillati tra 1.9 e 0.9 mS/cm; il pH è variato tra 5.5 e 6.5; la concentrazione di ossigeno disciolto era compresa tra 5 e 6 mg/l. La temperatura dell'aria all'interno della serra e quella della soluzione nutritiva sono oscillate tra i 25 e 22°C rispettivamente, durante il primo ciclo, e 30°C e 25°C rispettivamente durante il secondo ciclo. A intervalli regolari si è proceduto al reintegro della soluzione nutritiva al fine di mantenerne costante la

composizione e bilanciare le perdite legate alla traspirazione e all'assorbimento di elementi nutritivi da parte delle piante. Il volume aggiunto è servito per il calcolo delle esigenze idriche. Ad ogni rilievo, prima del reintegro sono stati prelevati campioni di soluzione nutritiva sui quali si è proceduto all'analisi dei contenuti dei principali macro e microelementi mediante analisi spettrometrica di emissione atomica al plasma ICP. Sulla coltura, nel corso del ciclo vegetativo, sono stati effettuati rilievi relativi alla percentuale di semi germinati e alla percentuale di sopravvivenza delle plantule a metà e fine ciclo.

Sulla produzione ottenuta per ogni ciclo di allevamento sono stati valutati

-parametri produttivi :

1. Resa come numero di piante/m² e produzione di biomassa vendibile;
2. determinazione del calibro e divisione degli ipocotili in classi di calibro.

parametri qualitativi :

1. livelli di macro e microelementi delle foglie e degli ipocotili mediante analisi spettrometrica in emissione al plasma (ICP); contenuto di azoto totale mediante il metodo Kjeldahl.
2. attività antiossidante nell'ipocotile e nelle foglie mediante la determinazione della capacità di ridurre il radicale DPPH (α,α -difetil- β -picrilidrazile).

Analisi statistica

I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad elaborazione statistica mediante analisi ANOVA utilizzando il Multiplerange test e LSD test con P value <0,05 per la valutazione del livello di significatività dei valori medi ottenuti per ciascun parametro in esame.



Foto 1. Plantule da semi germinati di ravanella allevato su floating system a 120 ore dalla semina.

Foto 1. Seedling of radish grown in a floating system after 120 hours from sowing.



Foto 2. particolare delle vasche utilizzate per l' allevamento su pannelli galleggianti. Densità 1320 pp/m².

Foto 2. Tanks to grown radish plant in a floating system. Plant density of 1320 plants/m².



Foto 3. Allevamento di ravanello tondo rosso con float system. Piantine sviluppate a 12 giorni dalla semina. Investimento 1320 piante m^2 .

Foto 3. Float system cultivation of red round radish after 12 days from sowing. Plant density of 1320 plant/ m^2 .

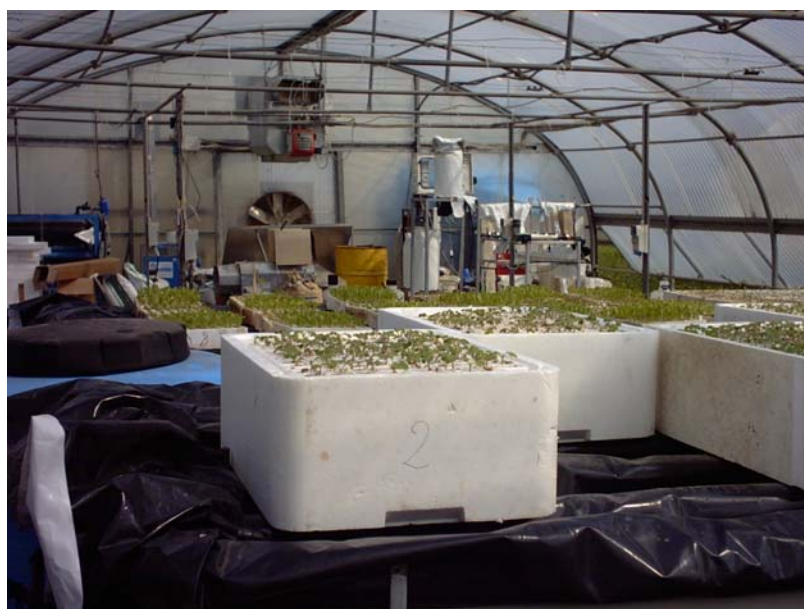


Foto 4. Vasca di allevamento di ravanello tondo rosso con float system . Piantine sviluppate a 12 giorni dalla semina. Densità 720 piante/ m^2 .

Foto 4. Image of a tank for floating system cultivation of red round radish. Plants after 12 days from sowing. Plant density of 720 plants/ m^2 .

2.2. Risultati e Discussione

Consumi di soluzione nutritiva ed esigenze idriche.

I due investimenti adottati, hanno prodotto delle significative differenze nel consumo di soluzione nutritiva, per entrambi i cicli. Il consumo è stato maggiore per l'investimento a 1320 piante/m² come era da aspettarsi in base più elevato numero di piante. Queste differenze si sono mantenute al secondo ciclo con un aumento significativo dei consumi della soluzione nutritiva per entrambi gli investimenti (tabella 1) di circa una volta e mezza, probabilmente a causa degli incrementi di temperatura ambientale che hanno accelerato i processi di evapotraspirazione.

Tabella 1. Consumi di soluzione nutritiva (litri/m²) di piante di ravanella allevate con float system nel corso dei due cicli di allevamento e per due investimenti adottati.

Table 1. Nutritive solution consumptions by radish plants grown on float system (L/m²).

<i>Densità</i>	<i>Ciclo</i>	
	19 Maggio- 8 Giugno	11 Giugno- 1 Luglio
720 pp/m ²	46.63	74.29
1320 pp/m ²	77.26	96.90

Resa e produzione commerciale

La percentuale di umidità determinata negli ipocotile e nelle foglie, per entrambe le cultivar in esame ed entrambi i cicli di allevamento realizzati, è risultata essere rispettivamente del 96% e 94% del peso fresco.

I dati di produzione riportati in tabella 2 evidenziano per entrambe le cultivar un aumento significativo di produzione/m² degli ipocotili tra il primo e secondo ciclo. Un aumento significativo di produzione di scarto si è avuto invece a 1320 pp/m², per entrambe le cultivar e a 720 pp/m² per la sola cv. Suprella. I dati relativi alle rese, ottenuti come valori medi per entrambe le cultivar ed entrambi i cicli di allevamento, hanno evidenziato risultati migliori a 720 piante/m². In particolare il numero totale di ipocotili commerciali/m² a 720 e 1320 pp/m² è stato

di 489 e 699 rispettivamente e quelli di scarto di 81 e 255 rispettivamente. Va sottolineato che lo scarto era costituito essenzialmente da ipocotili sottomisura e non spaccati o deformi. Inoltre molti di essi, soprattutto alla densità di 1320 pp/m² erano ipocotili distribuiti nella fascia centrale del pannello. E' stata infine calcolata la resa percentuale tra i due investimenti del 68% e 51% per 720 e 1320pp/m² rispettivamente (tabella 3).

Nelle foto 5 è riportata l'immagine delle piante di ravanella allevato su float system, e in foto 6 l'apparato radicale sviluppato, a fine ciclo di allevamento.

Il peso medio di un ipocotile commerciale a 720 pp/ m² è risultato essere di 10-11 g in linea con le misure standard. A 1320 pp/m² il valore si è abbassato a 8g (tabella 3) rientrando comunque nei valori stabiliti per i prodotti di IV gamma per i quali gli standard risultano molto più variabili rispetto a quelli definiti per la commercializzazione allo stato fresco.

Riassumendo, l'aumento della densità d'impianto si è tradotto nella produzione di ipocotili più piccoli.

E' verosimile considerare che l'investimento più elevato abbia posto le piante in condizioni di minore capacità di gestione dello spazio entro il pannello creando tra di esse uno stato di competizione nella captazione della luce nonché una difficoltosa circolazione dell'aria e un ristagno di umidità, nella zona centrale in particolare, tradottosi pertanto in una difficoltà di sviluppo dell'ipocotile. E' presumibile inoltre che la varietà Suprella, primaverile tardo primaverile abbia risentito anche degli effetti delle temperature elevate avutosi al secondo ciclo oltre che dell'effetto elevato investimento producendo uno scarto più elevato anche a 720pp/m².

Tabella 2. Produzione totale, commerciale e di scarto, di piante di ravanella allevato mediante float system, espresso come peso fresco, relativa ai due investimenti adottati e a entrambe le cv. e ad 1m² di superficie.

Table 2. Total, marketable and discharged production of 1 m² of radish plants (leaves and hypocotyls) grown on float system expressed as fresh weight . Results relative to both investments.

<i>Densità</i>	<i>Cultivar</i>	<i>Ciclo</i>	<i>Peso totale netto (g)</i>		<i>Peso netto foglie (g)</i>		<i>Peso totale netto ipocotili (g)</i>		<i>Ipocotili/m² (numero)</i>		<i>Peso medio/ipocotile (g)</i>	
			<i>Comm..</i>	<i>Sc.</i>	<i>Comm..</i>	<i>Sc.</i>	<i>Comm..</i>	<i>Sc.</i>	<i>Comm..</i>	<i>Sc.</i>	<i>Comm..</i>	<i>Sc.</i>
720 pp/m²	GIROX	1°	6630 a	828 a	2268 a	330 a	4362 a	498 a	450 a	102 b	10 a	5 a
		2°	8118 a	672 a	2214 a	252 a	5898 b	426 a	528 a	54 a	11 b	8 a
	SUPRELLA	1°	6816 a	372 a	2334 a	222 a	4482 a	150 a	510 a	48 a	9 a	3 a
		2°	7542 a	792 b	2100 a	408 b	5442 b	384 b	468 a	120 b	12 b	3 a
1320pp/m²	GIROX	1°	7698 a	1056°	3024 a	672 a	4680 a	384 a	636 a	156 a	7 a	3 a
		2°	9162 b	1698°	2916 a	864 b	6246 b	834 b	732 a	234 a	9 b	4 a
	SUPRELLA	1°	6906 a	1602°	2760 a	1134 a	4146 a	468 a	726 a	300 a	6 a	2 a
		2°	9354 b	2712b	3030 a	1356 b	6324 b	1344b	702 a	330 a	9 b	4 b

Le medie seguite da lettere differenti sono significativamente differenti per valori di P<0,05.)

Means followed by a different letter are significantly different for P value <0.05.

Tabella 3. Numero medio di ipocotili commerciali e di scarto/m² e peso medio/ipocotile commerciale per i due investimenti adottati.

Table 3 Total and unmarketable number of hypocotyls and average weight of hypocotyls at two plant densities. Values averaged on two cultivars.

<i>Piante/m²</i>	<i>Numero medio alla raccolta</i>		<i>Peso totale netto ipocotili (g)</i>		<i>Peso medio ipocotile commerciale</i>
	<i>Ipocotili/m²</i>	<i>Scarto/m²</i>	<i>Commerciale</i>	<i>Scarto</i>	
720	489	81	5046	364	10
1320	699	255	5349	757	8



Foto 5. Piante di ravanella tondo rosso allevato su floating system a fine ciclo di allevamento.

Foto 5. Red round radish plants grown in a floating system, at the end of growing cycle.



Foto 6. Sviluppo radicale di piante di ravanello tondo rosso allevato su floating system al termine del ciclo di allevamento.

Foto 6. Root system of red round radish plant grown in a floating system.

Calibro degli ipocotili

La determinazione del calibro degli ipocotili rappresentato in classi di calibro distinte, ha fornito i seguenti risultati: al primo ciclo di allevamento le misure si distribuivano per l'80% nelle due classi 1,5-2 cm e 2-2,5cm (Figura1). Al secondo ciclo la distribuzione delle misure si è estesa ad una terza classe, di 2,5-3 cm, con il 55% dei dati distribuiti entro l'intervallo di classe 2-2,5 cm (Figura 2). Nell'ambito di ogni classe, per entrambe le raccolte, sono emerse differenze significative tra le cultivar.

Nelle foto 7 e 8 vengono espone due immagini di ipotili completamente sviluppati, prima e subito dopo la raccolta.

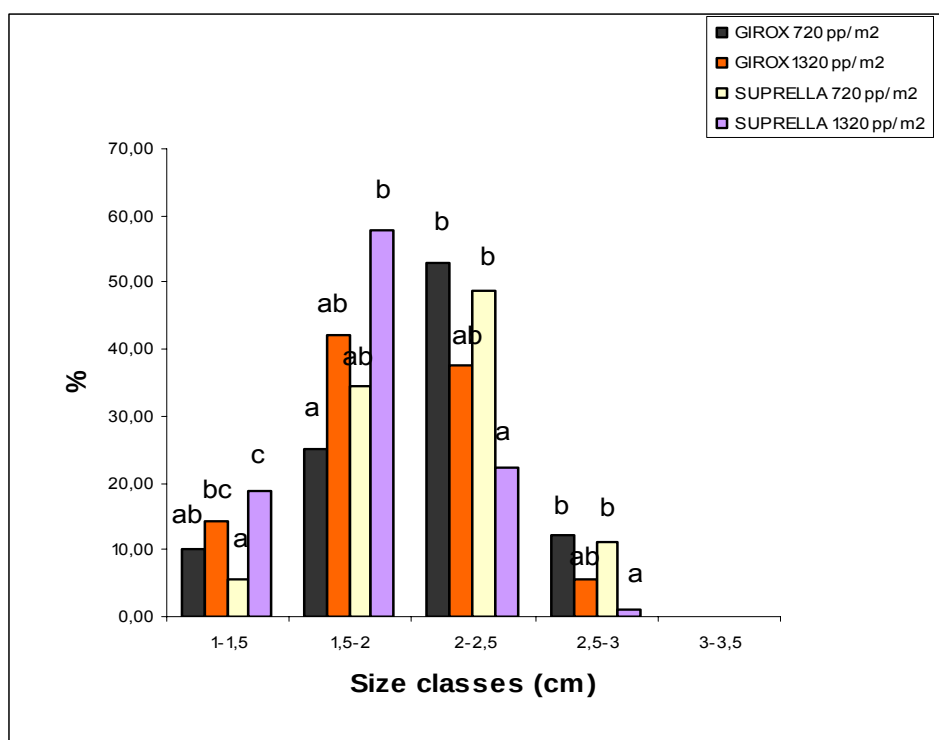


Figura 1. Percentuali e classi di calibro degli ipocotili Ciclo 19 Maggio- 8 Giugno 2004

Figure 1. Size classes percentage of radish plants at the first growing cycle (May 19 - June 8).

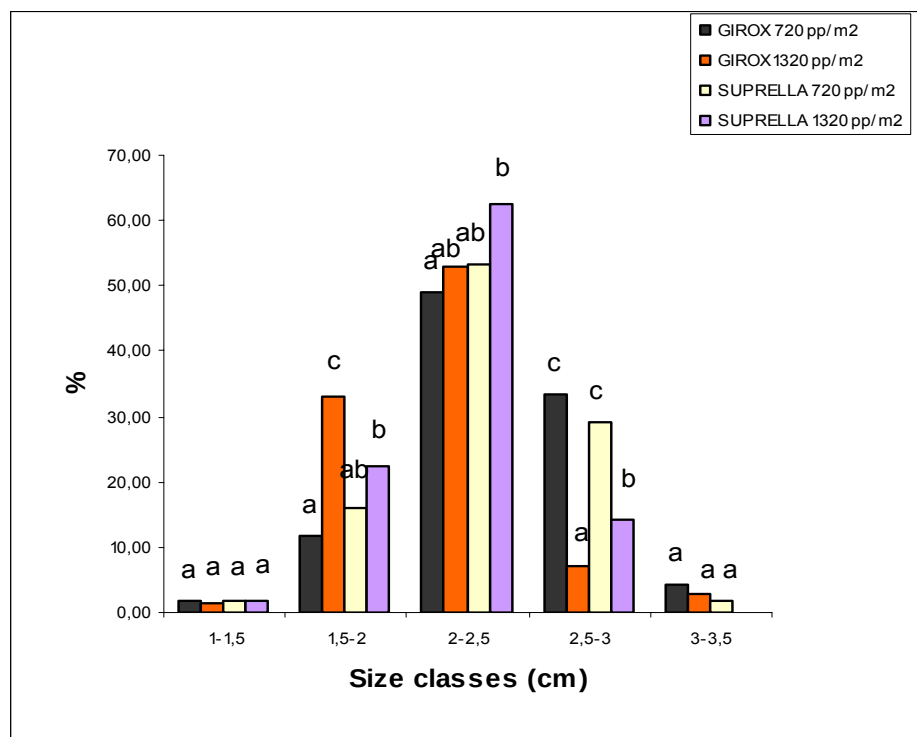


Figura 2. Percentuali e classi di calibro degli ipocotili Ciclo 11 Giugno - 1 Luglio 2004

Figure 2. Size classes percentage of radish plants at the second growing cycle (June 11- July 1).



Foto 7. Pianta di ravanella allevata su floating system con ipocotile ingrossato maturo.

Foto 7. Radish plant grown in a floating system. See ripeness hypocotyls.



Foto 8. Ipocotili ingrossati di ravanella alla raccolta dopo allevamento su floating system.

Foto 8. Bunch of ripe hypocotyls of radish grown in a floating sytem.

Macro e microelementi nelle foglie e negli ipocotili.

Il contenuto minerale nelle foglie e negli ipocotili non ha evidenziato differenze statisticamente significative tra le due cultivar a confronto e per entrambi i cicli di allevamento (dati non riportati). Risultati interessanti sono invece emersi a livello di entrambi gli investimenti nel confronto, tra i valori medi di ogni elemento nei due cicli in esame. In particolare a 720pp/m², a livello degli ipocotili tra il primo e il secondo ciclo, è stato registrato, un aumento significativo di K, Mg, Na, P, Fe e Zn, e a 1320 pp/m² di K, Fe e Cu (tabella 4). Nelle foglie, per entrambi gli investimenti si è avuto un aumento del solo Fe (tabella 5). Un dato sicuramente interessante è stato l'aumento dei contenuti di Fe negli ipocotili a livelli tre volte superiori a quelli standard calcolati per il ravanella: circa 200 mg/kg di sostanza secca a fronte di contenuti medi di 75 mg/kg s.s. Per l'azoto non sono emerse differenze significative sia nel confronto tra le cultivar, per entrambi gli investimenti, che nel confronto dei dati medi tra i due cicli, sia per le foglie sia per gli ipocotili (tabella 4 e 5). E' evidente che l'aumento del consumo di soluzione registrato al secondo ciclo, dettato dall'incremento della evapotraspirazione a causa degli incrementi di temperatura ambientale (30°C circa), è servito non solo a soddisfare le aumentate esigenze idriche ma ha anche prodotto, negli ipocotili, un aumento complessivo della percentuale di assorbimento elementare. I risultati ottenuti sono da imputare alle elevate temperature dell'aria e della soluzione nutritiva, registrate al secondo ciclo di 30°C e 25°C rispettivamente a fronte di 25°C e 22°C del primo ciclo. Questi valori probabilmente potrebbero aver determinato non solo un incremento della traspirazione ma anche una aumentata mobilità degli ioni attorno alla radici delle piante. Queste ultime avrebbero pertanto assorbito un maggiore quantità di elementi anche per soddisfare l'aumentata produzione riscontrabile in ipocotili più grandi.

Tabella 4. Contenuto medio di macro e microelementi (mg/kg s.s and % for N) degli ipocotili di piante di ravenello, relativo ai due cicli di allevamento e per entrambe le cultivar e gli investimenti adottati.

Table 4. Macro and microelements content of radish hypocotyls (mg/kg d.w., % for N), values averaged on two cultivars and plant densities.

<i>IPOCOTILI 720 pp/m²</i>										
Ciclo	Ca	K	Mg	Na	P	Fe	Cu	Mn	Zn	N%
I	6698 a	68714 a	8255 a	1921 a	5774 a	59 a	7 a	36 a	56 a	3,63 a
II	7252 a	80140 b	9300 b	3375 b	6982 b	202 b	9 a	31 a	70 b	3,97 a
<i>IPOCOTILI 1320 pp/m²</i>										
	Ca	K	Mg	Na	P	Fe	Cu	Mn	Zn	N%
I	6701 a	68964 a	9056 a	2617 a	6367 a	66 a	7 a	30 a	55 a	3,93 a
II	7613 a	77513 b	9225 a	3338 a	6925 a	198 b	12 b	28 a	62 a	3,68 a

Le medie seguite da lettere differenti sono significativamente differenti per valori di P<0,05.

I ciclo: 19 Maggio- 8 Giugno

II ciclo: 11 Giugno - 1 Luglio

Means followed by a different letter are significantly different for P value <0.05.

NOTE: I=First growing cycle; I= second growing.

Tabella 5. Contenuto medi di macro e microelementi in foglie di piante di ravanella, relativo ai due cicli di allevamento, per entrambe le cultivar e gli investimenti adottati.

Table 5. Macro and microelements content of radish leaves (mg/kg d.w., % for N), values averaged on two cultivars and plant densities.

<i>FOGLIE 720 pp/m²</i>										
<i>Ciclo</i>	<i>Ca</i>	<i>K</i>	<i>Mg</i>	<i>Na</i>	<i>P</i>	<i>Fe</i>	<i>Cu</i>	<i>Mn</i>	<i>Zn</i>	<i>N%</i>
I	41868 a	48118 b	16509 a	2438 b	5147 a	80 a	3 a	228 a	103 b	5,99 a
II	43425 a	40736 a	16513 a	1725 a	4875 a	89 b	5 b	213 a	78 a	5,73 a
	<i>Ca</i>	<i>K</i>	<i>Mg</i>	<i>Na</i>	<i>P</i>	<i>Fe</i>	<i>Cu</i>	<i>Mn</i>	<i>Zn</i>	<i>N%</i>
I	41808 a	48582 a	15892 a	1928 a	5462 a	81 a	2 a	207 a	85 b	5,73 a
II	43313 a	40276 a	20589 a	1913 a	5138 a	88 ab	4 a	181 a	61 a	5,93 a

Le medie seguite da lettere differenti sono significativamente differenti per valori di $P < 0,05$.

I ciclo: 19 Maggio- 8 Giugno

II ciclo: 11 Giugno - 1 Luglio

Means followed by a different letter are significantly different for P value $< 0,05$.

NOTE: I=First growing cycle; II= second growing.

Attività antiossidante

I risultati ottenuti dalla determinazione dell'attività antiossidante non lasciano emergere differenze significative tra le tesi a confronto, alla prima raccolta e per entrambi gli investimenti, con valori medi del 65% e 90% negli ipocotili e nelle foglie rispettivamente. Alla seconda raccolta, fermo restando l'assenza di differenze tra le cultivar, si è avuto un decremento dei valori negli ipocotili di circa il 51%, restando invariati nelle foglie. Il confronto dei valori medi ottenuti nei due cicli, evidenzia negli ipocotili un significativo decremento dell'attività antiossidante a livello di entrambi gli investimenti (tabella 6). Il confronto dei valori medi negli ipocotili, operato in relazione alla densità di impianto adottato ha fatto emergere, al primo ciclo di allevamento, un attività antiossidante più elevata a 720pp/m² rispetto a 1320pp/m². Nessuna differenza è emersa nel confronto dei dati ottenuti a livello di foglie (tabella 7). L'aumento di investimento incide cioè, negativamente su questo parametro

Tabella 6. Attività antiossidante media espressa come % di inibizione del radicale DPPH (α,α -difetil- β -picrilidrazile).

Table 6. Antioxidant activity expressed as DPPH radical- scavenging activity or percentage DPPH radical (α,α diphenil- β - picrylhydrazyl) inhibition.

<i>Consumo di soluzione nutritiva (litri)</i>	<i>Porzione di pianta</i>	
720 pp/m²	Ipocotili	Foglie
I ciclo	67,66 b	90,80 a
II ciclo	51,84 a	90,12 a
1320 pp/m²	Ipocotili	Foglie
I ciclo	61,27 b	90,28 a
II ciclo	51,31 a	90,34 a

Le differenze statisticamente significative sono indicate con lettere diverse(P<0,05)

I ciclo: 19 Maggio- 8 Giugno

II ciclo: 11 Giugno - 1 Luglio

Statistically significant differences are indicated with different letters (P<0.05).

I cycle: May 19- June 8

II cycle: June 11 – July 1

Tabella 7. Attività antiossidante media espressa come % di inibizione del radicale DPPH (α,α -difetil- β -picrilidrazile) in ipocotili e foglie di piante di ravanello. Confronto tra i due investimenti adottati.

Table 7. Antioxidant activity in hypocotyls and leaves of radish plants expressed as DPPH radical- scavenging activity or percentage DPPH radical (α,α diphenil- β - picrylhydrazyl) inhibition. May-June and June-July growing cycles for two plant density .

<i>Investimento</i>	<i>19 Maggio- 8 Giugno</i>	<i>11 Giugno- 1 Luglio</i>
	Ipocotili	Ipocotili
720 pp/m ²	67,59 b	52,22 a
1320 pp/m ²	61,31 a	51,31 a
	Foglie	Foglie
720 pp/m ²	90,81 a	90,12 a
1320 pp/m ²	90,28 a	90,33 a

Le differenze statisticamente significative sono indicate con lettere diverse(P<0,05).

Statistically significant differences are indicated with different letters (P<0.05).

2.3. Conclusioni

La coltivazione su pannelli galleggianti rappresenta un sistema sicuramente semplice e di facile applicazione alla coltivazione di ravanelli per l'ottenimento di prodotto pronto per il consumo di IV gamma. L'investimento a 720 piante/m² ha fornito sicuramente un risultato agronomico valido e trasferibile nella pratica, consentendo in investimento e delle rese più elevate rispetto a quelli conseguiti con la coltivazione su suolo (300-400 piante/m²). L'investimento a 1320 piante/m² necessita di un'ulteriore messa a punto utilizzando pannelli di forma differente, ossia più lunghi e stretti per superare possibilmente i problemi di ingombro reciproco tra le piante.

I risultati relativi al profilo sono stati inoltre incoraggianti costituendo la base di studio della fase successiva della ricerca per la verifica dell'ipotesi, formulata, di calibrazione della soluzione nutritiva allo scopo di ottenere un prodotto con un contenuto minerale modificato e possibilmente rispondente a specifiche esigenze dietetiche e di mercato.

CAPITOLO 3. EFFETTI DELLA SOLUZIONE NUTRITIVA SULLA PRODUZIONE E QUALITA' DI RAVANELLO (*RAPHANUS SATIVUS* L.) ALLEVATO MEDIANTE FLOATING SYSTEM

Introduzione

L'attività di sperimentazione del secondo anno ha riguardato lo studio degli effetti della concentrazione della soluzione nutritiva sui principali parametri produttivi e qualitativi del ravanella tondo rosso, allevato con la tecnica del floating system. Le cv utilizzate erano Girox e Suprella. La densità d'impianto adottata era di 720 piante/m² scelta in quanto risultata più idonea dal punto produttivo e qualitativo dai risultati delle prove sperimentali di allevamento eseguite nel primo anno di attività.

3.1 MATERIALI E METODI

Piano Sperimentale e Rilievi

La ricerca è stata condotta presso l'azienda sperimentale dell'Università degli Studi della Tuscia in una serra non riscaldata, su float system. Sono state prese in considerazione due cultivar di ravanella (*Raphanus sativus* L.), Girox e Suprella, (Vilmorin e Nunhems). Durante il periodo primavera – estate 2005 sono stati eseguiti tre cicli consecutivi di allevamento, dal 17 Marzo al 16 Aprile, dal 3 al 27 Maggio e dal 9 Giugno al 1 Luglio (30, 24 e 22 giorni rispettivamente). Il sistema era costituito da pannelli di polistirolo (0,32m x 0,54m x 0,03m) con 120 fori quadrangolari tali da assicurare una densità di impianto pari a 720 piante/m², riempiti con un piccolo quantitativo di substrato, costituito da perlite, necessario alla germinazione dei semi e flottanti ciascuno su una vasca di polistirolo contenente 20 litri di soluzione nutritiva. Per l'allevamento è stata utilizzata una soluzione nutritiva a tre livelli di concentrazione, 100% (controllo) e due ridotte a 2/3 o 75% e 1/2 o 50% (Foto 1, 2 e 3). La soluzione di controllo aveva la seguente composizione: (mg/l): Ca₂NO₃ (723), KH₂PO₄(205), K₂SO₄(274), KNO₃(152), Mg(NO₃)₂(384), NH₄NO₃ (40), FeEDTA (30) e mix microelementi 0,1ml/l. Lo schema sperimentale adottato è stato a blocchi randomizzati con tre repliche per ciascuna tesi considerata; ad ogni esperimento venivano presi in

considerazione i risultati relativi alla combinazione fattoriale della concentrazione della soluzione x cultivar con i relativi trattamenti e agli effetti medi dei fattori in esame.

All'inizio e alla fine di ogni ciclo sono stati registrati pH e EC. Nel corso del primo, secondo e terzo ciclo rispettivamente la EC della soluzione al 100% variava da 1.9 a 1.69, 2.38 e 2.72 mScm⁻¹, quella della soluzione a 2/3 da 1.48 a 0.95, 1.51, 1.86 mScm⁻¹, in quella a 1/2 da 0.95 a 0.42, 0.65, 0.96 mScm⁻¹. In tutti e tre i cicli il pH variava tra 5.5 a 5.65, 6.03 e 7.12 nella soluzione al 100%, 2/3 e 1/2 di concentrazione rispettivamente.

La temperatura media dell'aria all'interno della serra e quella della soluzione nutritiva sono oscillate tra i 20 e 15°C rispettivamente al primo ciclo, 25 e 22°C rispettivamente, durante il primo ciclo, e 30°C e 25°C rispettivamente durante il terzo ciclo. A intervalli regolari si è proceduto al reintegro della soluzione nutritiva al fine di mantenerne costante la composizione e bilanciare le perdite legate alla traspirazione e all'assorbimento di elementi nutritivi da parte delle piante. Il volume aggiunto è stato utilizzato per il calcolo delle esigenze idriche. Alla fine di ogni ciclo sono stati prelevati campioni di soluzione nutritiva sui quali si è proceduto all'analisi dei contenuti dei principali macro e microelementi mediante analisi spettrometrica ICP.

Sulla coltura, nel corso del ciclo vegetativo, sono stati effettuati rilievi relativi alla percentuale di semi germinati e alla percentuale di sopravvivenza delle plantule a metà e fine ciclo.

Sulla produzione ottenuta per ogni ciclo di allevamento sono stati valutati

-parametri produttivi:

- a. Resa come numero di piante/m² e produzione di biomassa vendibile;
- b. determinazione del calibro medio.

-parametri qualitativi:

Su campioni di ipocotili e di foglie di piante ottenute alla raccolta e alla fine di ogni ciclo di allevamento, sono stati determinati i seguenti parametri qualitativi:

- a. macro e microelementi;
- b. nitrati;
- c. attività antiossidante totale;

Sugli ipocotili sono stati inoltre determinati:

- d. polifenoli totali;
- e. contenuto di antocianine totali;
- f. glucosinolati.

Analisi statistica

I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante una two-way ANOVA utilizzando un Multiple Range Duncan test con $P \text{ value} \leq 0.05$ al fine di valutare livello di significatività dei valori medi, dei fattori testati e dei trattamenti, ottenuti per ciascun parametro in esame.



Foto 1. Piante di ravanella sviluppate e allevate mediante la tecnica del floating system su soluzione nutritiva standard al 100% di concentrazione elementi nutritivi.

Foto 1. Radish plants grown in floating system with 100% nutrient solution concentration.



Foto 2. Piante di ravanella sviluppate e allevate mediante la tecnica del floating system su soluzione nutritiva con concentrazione degli elementi nutritivi ridotta al 75%.

Foto 2. Radish plants grown in a floating system with 75% nutrient solution concentration.



Foto 3. Piante di ravanella sviluppate e allevate mediante la tecnica del floating system su soluzione nutritiva con concentrazione degli elementi nutritivi ridotta al 50%.

Foto 3. Radish plants grown on floating system with 50% nutrient solution concentration.

3.2. Risultati e Discussione.

Consumi di soluzione nutritiva. Composizione delle soluzioni a fine e inizio ciclo.

I consumi di soluzione nutritiva determinati alla fine di ciascun ciclo sono risultati simili nelle tesi a confronto. Il consumo di soluzione nutritiva è significativamente aumentato al secondo e terzo ciclo di due e tre volte circa rispettivamente rispetto a quello registrato durante il primo ciclo coerentemente agli incrementi di temperatura ambientali che hanno accelerato i processi di evapotraspirazione. Il consumo medio per pianta nei tre cicli è stato rispettivamente di 0.12, 0.21 e 0.36 litri (figura 1). L'analisi della composizione delle soluzioni all'inizio e fine ciclo hanno messo in evidenza una diminuzione di K nelle soluzioni finali 100% e 75%, e di tutti gli elementi nella soluzione al 50% relativamente al primo ciclo di allevamento. Un aumento generale del livello degli elementi nutritivi è stato determinato nelle soluzioni finali al 100% e 75%, al secondo e terzo ciclo. Nella soluzione finale al 50%, del secondo e terzo ciclo, sono state riscontrate variazioni differenziate dei diversi elementi con diminuzione di K, Mn, un aumento di Cu, Fe, Zn, Na, rimanendo invariati i Ca, il Mg e il P (tabelle 1, 2, e 3).

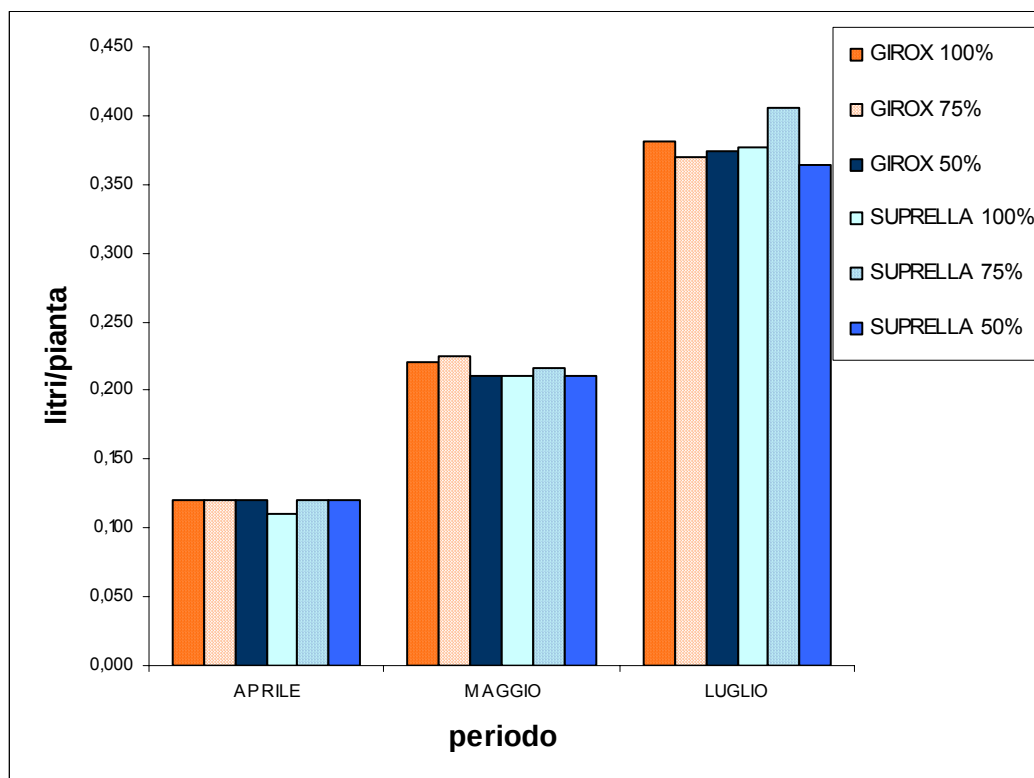


Figura 1. Consumo di soluzione nutritiva/pianta calcolato alla fine di ogni ciclo di allevamento.

Figure 1. Mean consumption of nutrient solution per plant during the three growing cycles.

Tabella 1. Contenuti iniziali e finali di macro e microelementi nella soluzione nutritiva. Ciclo 17 Marzo - 16 Aprile.

Table 1. Macro end microelement content of three nutrient solutions at the beginning and at the end of the first growing cycle (March 17- April 16).

Cultivar	Tesi	prelievo	Ca	K	Mg	Na	P	Cu	Fe	Mn	Zn
mg/l											
Girox	100%	Iniziale	153	214	108	25	45	0,25	1,16	1,16	0,67
	100%	Finale	169	102	135	21	54	0,49	1,64	0,95	0,74
	75%	Iniziale	122	163	87	11	35	0,17	1,59	0,78	0,46
	75%	Finale	113	42	104	10	35	0,36	1,68	0,69	0,72
	50%	Iniziale	82	107	62	16	23	0,13	1,29	0,60	0,36
	50%	Finale	21	38	52	9	21	0,18	1,42	0,21	0,38
Suprella	100%	Iniziale	153	214	108	25	45	0,25	1,16	1,16	0,67
	100%	Finale	172	125	134	19	57	0,49	1,54	1,26	1,04
	75%	Iniziale	65	163	87	11	35	0,17	1,59	0,78	0,46
	75%	Finale	106	45	102	11	35	0,36	1,66	0,73	0,74
	50%	Iniziale	82	107	62	16	23	0,13	1,29	0,60	0,36
	50%	Finale	25	49	54	9	19	0,17	1,31	0,03	0,35

Tabella 2. Contenuti iniziali e finali di macro e microelementi nella soluzione nutritiva. Ciclo 3 – 27 Maggio.

Table 2. Macro and microelement content of three nutrient solutions at the beginning and at the end of the second growing cycle (May 3-27).

Cultivar	Tesi	Prelievo	Ca	K	Mg	Na	P	Cu	Fe	Mn	Zn
			mg/l								
Girox	100%	Iniziale	153	214	108	25	45	0,25	1,16	1,16	0,67
	100%	Finale	229	212	159	21	72	0,58	2,40	1,46	1,00
	75%	Iniziale	122	163	87	11	35	0,17	1,59	0,78	0,46
	75%	Finale	150	118	125	17	52	0,37	2,72	0,53	0,84
	50%	Iniziale	82	107	62	16	23	0,13	1,29	0,60	0,36
	50%	Finale	73	27	80	11	24	0,26	1,73	0,09	0,47
Suprella	100%	Iniziale	153	214	108	25	45	0,25	1,16	1,16	0,67
	100%	Finale	216	215	154	21	68	0,56	2,14	1,64	1,16
	75%	Iniziale	122	163	87	11	35	0,17	1,59	0,78	0,46
	75%	Finale	147	113	123	17	50	0,37	2,75	0,25	0,80
	50%	Iniziale	82	107	62	16	23	0,13	1,29	0,60	0,36
	50%	Finale	66	39	73	10	22	0,25	1,53	0,05	0,47

Tabella 3. Contenuti iniziali e finali di macro e microelementi nella soluzione nutritiva. Ciclo 9 Giugno – 1 Luglio

Table 3. Macro and microelement content of three nutrient solutions at the beginning and at the end of the third growing cycle (June 9- July 1).

Cultivar	Tesi	Prelievo	Ca	K	Mg	Na	P	Cu	Fe	Mn	Zn
			mg/l								
Girox	100%	Iniziale	149	213	94	29	44	0,27	1,88	1,08	0,68
	100%	Finale	229	295	146	27	74	0,51	2,59	1,72	1,22
	75%	Iniziale	118	161	76	9	34	0,18	1,67	0,80	0,52
	75%	Finale	150	175	109	23	49	0,40	2,64	1,07	0,86
	50%	Iniziale	87	111	55	8	22	0,12	1,49	0,53	0,34
	50%	Finale	82	76	69	17	28	0,27	1,97	0,06	0,54
Suprella	100%	Iniziale	149	213	94	29	44	0,27	1,88	1,08	0,68
	100%	Finale	228	276	152	29	75	0,58	3,20	1,34	1,27
	75%	Iniziale	118	161	76	9	34	0,18	1,67	0,80	0,52
	75%	Finale	167	184	118	24	54	0,40	3,00	1,57	0,98
	50%	Iniziale	87	111	55	8	22	0,12	1,49	0,53	0,34
	50%	Finale	87	72	73	19	27	0,24	2,59	0,09	0,59

Produzione

La produzione commerciale, totale e degli ipocotili, ottenuta al primo ciclo è stata significativamente influenzata dalla concentrazione della soluzione con valori confrontabili nelle tesi 75% e 100%, superiori rispetto alla tesi al 50%. Il numero di ipocotili commerciali/m² è stato influenzato dalla cultivar, dalla concentrazione della soluzione e dalla interazione concentrazione della soluzione x cultivar. Nella cultivar Girox i valori sono risultati più alti nelle tesi al 75% e 50%; in Suprella nelle tesi al 100% e 75%. Mediamente Suprella ha riportato valori di produzione più elevati rispetto a Girox. In particolare la tesi al 75% ha riportato una produzione superiore. La produzione commerciale totale e il numero ipocotili commerciali/m² relativi al secondo ciclo (3- 27 Maggio 2005) hanno avuto andamenti simili in tutte e tre le tesi e trattamenti a confronto; sulla produzione di ipocotili e peso medio/ipocotile è emersa l'influenza varietale con valori mediamente più elevati in Girox rispetto a Suprella.

Nel ciclo estivo (9 Giugno -1 Luglio 2005) si è verificato un abbassamento generale della produzione rispetto ai due cicli primaverili precedenti con effetto più marcato in Girox rispetto a Suprella. La produzione commerciale totale e degli ipocotili, il numero degli ipocotili commerciali/m² e il peso medio/ipocotili sono stati influenzati dalla concentrazione della soluzione, dalla varietà e dalla interazione dei due fattori. Per tutti i parametri in esame, eccetto il peso medio/ipocotile, l'analisi di trattamenti ha evidenziato produzioni mediamente più elevate in Suprella; nell'ambito di ciascuna cultivar sono stati registrati valori crescenti di produzione commerciale, sia totale che degli ipocotili e numero di ipocotili commerciali/m² crescenti al decrescere della concentrazione della soluzione e quindi superiori nel trattamento al 50% (tabella 4). Il peso medio degli ipocotili commerciali è risultato mediamente più elevato nelle tesi 100% e 75% al primo e secondo ciclo, e in questo ultimo maggiore in Girox rispetto a Suprella, e infine con valori confrontabili nelle tre tesi al terzo ciclo.

I dati relativi al numero ipocotili/m² espressi in forma di rese % totali , rese % commerciali e rese % di scarto riassumono in modo esplicativo l'andamento complessivo della produzione nei tre periodi. Le rese % totale risultano confrontabili nelle tre tesi a confronto in tutti e tre i cicli di allevamento, sono invece variabili le rese% di scarto (Fig. 2).

Alla prima raccolta la percentuale del numero di ipocotili di scarto è risultata superiore nella tesi 50% rispetto alle tesi 100% e 75%. Alla seconda raccolta la percentuale del numero di ipocotili di scarto è risultata maggiore nelle tesi 50% al 75% e 100% con valori rispettivamente del 11%, 13 e 16%. Alla terza raccolta le percentuali di numero ipocotili di scarto si sono differenziate nei diversi trattamenti anche se per entrambe le cultivar, al 50% di concentrazione della soluzione il valore è risultato più basso (figura 2).

Con la soluzione al 75% di concentrazione si è ottenuta una produzione mediamente superiore nel periodo primaverile comprensivo dei primi due cicli di allevamento, producendo al primo ciclo una percentuale minore di scarto rispetto alla tesi al 100% e 50%, al secondo intermedia tra le due. Il ciclo estivo, rispetto ai cicli primaverili, si è contraddistinto con un generale calo di produzione in tutte e tre le tesi a confronto; in questo caso è stata la soluzione al 50% di concentrazione a dare minore % di scarto e quindi i migliori risultati di resa commerciale. I risultati quindi indicano che in un allevamento senza suolo con float system condotto in ambiente controllato per una migliore produzione la soluzione al 75% sembra essere quella più adeguata nel periodo primaverile, la soluzione al 50% potrebbe invece essere utilizzata qualora il ciclo si realizzi in tarda primavera-inizio estate.

Nelle foto 4, 5 e 6 vengono espone le immagini delle piante di ravanella allevate su floating system inserite nel pannello nelle foto vengono visualizzati gli ipocotilli sviluppati e maturi per la raccolta e l'apparato radicale sottostante il pannello. Le immagini si riferiscono a piante allevate sulla soluzione al 100% (foto 4), 75% (foto5) e 50% (foto 6).

Tabella 4. Produzione commerciale totale, degli ipocotili e peso medio degli ipocotili calcolati nei tre cicli di allevamento.

Table 4. Effect of ion strength of nutrient solution and cultivar on yield (fresh total and mean weight and number of hypocotyls) per m² for the three harvest periods.

Treatments	16 April			27 May			1 July		
	Fresh total weight (g)	Hypocotyls (number)	Mean Weigh/Hypocotyl (g)	Fresh total weight (g)	Hypocotyls (number)	Mean Weigh/Hypocotyl (g)	Fresh total weight (g)	Hypocotyls (number)	Mean Weigh/Hypocotyl (g)
Girox 100%	7616	436 d	17	9235	582	16	1441e	118 d	12 b
Girox 75%	9113	561 ab	16	8859	540	16	4081d	277 c	15 a
Girox 50%	5768	519 bc	11	8709	588	15	4168 cd	332 c	13 b
Suprella 100%	8747	609 a	14	7485	575	13	5729 ab	492 ab	12 b
Suprella 75%	9125	602 a	15	8412	651	13	5228 bc	443 b	12 b
Suprella50%	5626	471 cd	12	8331	644	13	6635a	540 a	12 b
<i>Solution (S)</i>									
100%	8182 a	523	16 a	8360	578	14	3585	305	12
75%	9119 a	582	16 a	8636	595	15	4655	360	13
50%	5697 b	495	12 b	8520	616	14	5401	436	12
<i>Cultivar (C)</i>									
Girox	7499	505	15	8935 a	570	16 a	3230	242	13
Suprella	7833	561	14	8076 b	623	13 b	5864	492	12
<i>Significance</i>									
Solution	***	*	***	ns	ns	ns	***	***	*
Cultivar	ns	*	ns	*	ns	**	***	***	***
S x C	ns	**	ns	ns	ns	ns	***	***	*

Significatività dell'F: ns, *, **, ***, rispettivamente non significativo, $P \leq 0.05$, 0.01, 0.001. Le medie lungo le colonne seguite dalle stesse lettere non sono significativamente differenti al 5% secondo il multiple range test di Duncan.

Ns, *, **, *** Non significant or significant at $P \leq 0.05$, 0.01 or 0.001 respectively. Means with the same letter within a column are not significantly different at $P=0.05$ according to Duncan's Multiple Range test.

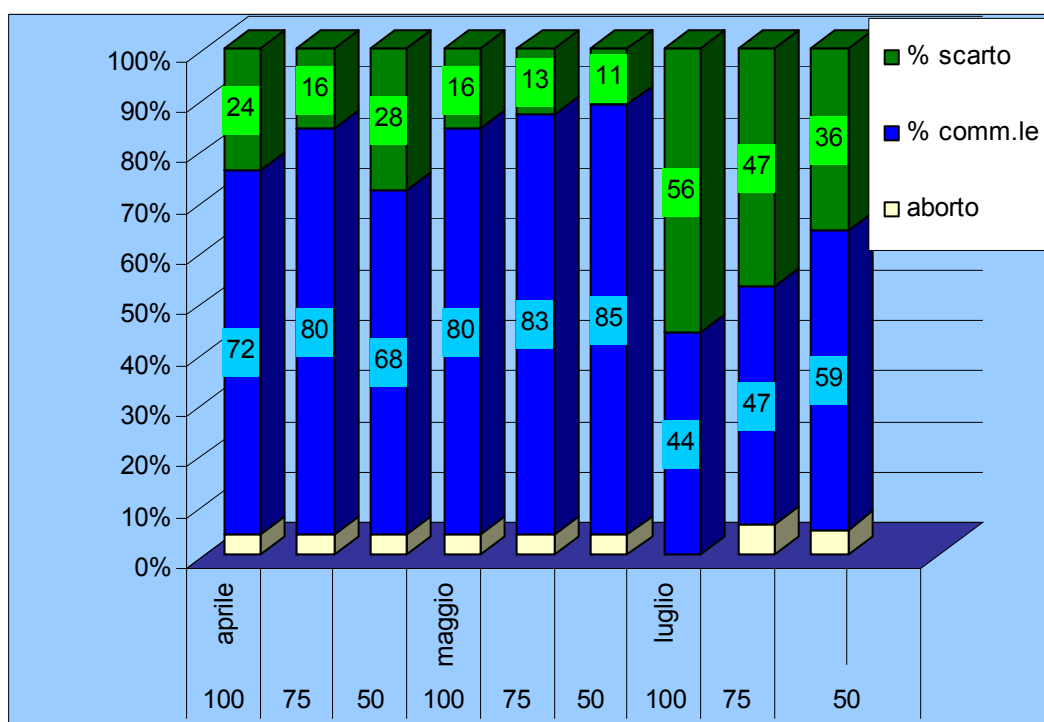


Figura 2. Resa percentuale commerciale, di scarto e aborto calcolati nei tre cicli di allevamento considerati.

Figure 2. Yield, discard and failure (as number of hypocotyls per m²) of the three harvest periods



Foto 4. Ipocotili maturi a fine ciclo di allevamento dai piante allevate su floating system su soluzione nutritiva standard al 100% di concentrazione elementi nutritivi.

Foto 4. Ripe hypocotyls of radish grown in a floating system with 100% nutrient solution concentration .



Foto 5. Ipocotili maturi a fine ciclo di allevamento dai piante allevate su soluzione nutritiva standard al 75% di concentrazione di elementi nutritivi.

Foto 5. Ripe hypocotyls of radish grown in a floating system with 75% nutrient solution concentration .



Foto 6. Ipocotili maturi a fine ciclo di allevamento dai piante allevate su soluzione nutritiva standard al 50% di concentrazione di elementi nutritivi.

Foto 6. Ripe hypocotyls of radish grown in a floating system with 50% nutrient solution concentration .

Calibri medi

La misura della grandezza degli ipocotili ha evidenziato che i rapporti medi diametro/lunghezza sono stati conservati in entrambe le cultivar; in Suprella, dalla caratteristica forma rotonda o leggermente schiacciata, il rapporto è risultato essere 2.6cm/2.5cm e nella Girox, dalla forma leggermente ovoidale, 2,7cm/2,8. (tabella 5). Circa l'80% degli ipocotili sono stati classificati entro le classi di calibro comprese tra 1,5 cm e 3, il restante 20% era distribuito in calibri inferiori, tra 1,2 e 1,5 cm, o superiori, tra 3 cm e 3,5 cm (dati non riportati). I calibri misurati includevano quindi anche la classe di 2-3 cm commercialmente prevista per la vendita dei ravanelli allo stato fresco a mazzi. La commercializzazione per il settore della IV gamma ammette anche valori di calibro estremi, inferiori o superiori alla classe 2-3 cm così come inferiori a 1,5 cm o superiori a 3 cm. Grazie a tale flessibilità nelle dimensioni degli ipocotili ammessi per la vendita, i ravanelli ottenuti con l'allevamento mediante float system benché variabili nella grandezza del calibro degli ipocotili ben si adattano ad una destinazione d'uso come prodotto di IV gamma.

Tabella 5. Valori medi del diametro e della lunghezza degli ipocotili misurati lungo gli assi assiale e longitudinale nei tre cicli di allevamento.

Table 5. Effect of ion strength and cultivar on diameter and length of hypocotyls for the three harvest perios.

	I CICLO		II CICLO		III CICLO	
Trattamenti	Assiale	Longitudinale	Assiale	Longitudinale	Assiale	Longitudinale
Girox 100%	2.8	2.9	2.5	2.6	2.6	2.8 b
Girox 75%	2.8	2.7	2.7	2.7	2.9	3.2 a
Girox 50%	2.5	2.5	2.7	2.5	2.8	2.8 b
Suprella 100%	2.6	2.5	2.5	2.5	2.8	2.7 b
Suprella 75%	2.6	2.6	2.5	2.4	2.8	2.8 b
Suprella50%	3	2	2.5	2.3	2.8	2.8 b
Soluzione (S)						
100%	2.7 a	2.7 a	2.5	2.6 a	2.7 a	2.8
75%	2.7 a	2.7 a	2.6	2.6 a	2.8 a	3.0
50%	2.5 b	2.4 b	2.6	2.4 b	2.8 a	2.8
Cultivar (C)						
Girox	2.7	2.7 a	2.6 a	2.6 a	2.8	2.9
Suprella	2.7	2.4 b	2.5 b	2.4 b	2.8	2.8
Significatività						
Soluzione	*	*	ns	*	ns	*
Cultivar	**	***	*	**	ns	*
S x C	ns	*	ns	ns	ns	*

Significatività dell'F: ns,*,**,***, rispettivamente non significativo, $P \leq 0.05$, 0.01, 0.001. Le medie lungo le colonne seguite dalle stesse lettere non sono significativamente differenti al 5% secondo il multiple range test di Duncan.

Ns, *, **, *** Non significant or significant at $P \leq 0.05$, 0.01 or 0.001 respectively. Means with the same letter within a column are not significantly different at $P=0.05$ according to Duncan's Multiple Range test.

Macro e microelementi nelle ipocotili e nelle foglie

La determinazione del contenuto minerale di ipocotili e foglie ha riguardato gli elementi di principale interesse ai fini nutrizionali del ravanella ossia calcio, potassio, magnesio sodio e fosforo, tra i macroelementi, e Fe tra i microelementi. E' stato determinato inoltre il contenuto di nitrati negli ipocotili e nelle foglie. Dati presenti in letteratura evidenziano la possibilità di una riduzione dei livelli di nitrati anche in specie accumulatrici sia con float system sia con altri sistemi idroponica (Santamaria, 2001), al di sotto dei limiti previsti dalla legislazione CE (con il Regolamento (CE) n. 563/2002 scaturito dall'aggiornamento del regolamento CE 194/1997 (da Santamaria et al., 2002). Nello specifico il decreto stabilisce i limiti massimi di nitrati consentiti in spinaci e lattuga. Limiti massimi di nitrato per la commercializzazione di altri ortaggi sono previsti in alcuni paesi dell'Europa. Tra essi solo la Svizzera contempla nella propria legislazione una normativa che include anche il ravanella imponendo un valore massimo di 3.500 mg/kg di prodotto (Santamaria, 1997).

I CICLO (17 Marzo – 16 Aprile 2005).

Il contenuto di Ca, K, Na e Fe degli ipocotili è stato influenzato dalla concentrazione della soluzione nutritiva. I livelli di Ca e K sono risultati confrontabili e superiori nelle tesi 100% e 75%, quelli di Fe e Na sono risultati superiori nella sola tesi 100% e confrontabili tra di loro I livelli di magnesio e di fosforo sono risultati confrontabili tra di loro in tutti i trattamenti.

Nelle foglie il contenuto di calcio è stato influenzato da entrambi i fattori, concentrazione della soluzione nutritiva e cultivar, e dalla loro interazione; nell'ambito dei trattamenti Suprella ha accumulato di più rispetto a Girox e per ogni cultivar la tesi 100% ha riportato livelli maggiori. I contenuti di Mg e P sono stati influenzati solo dalla concentrazione della soluzione con livelli superiori nella sola tesi 50% (Mg) o anche 75% (P). Entrambi i fattori hanno influenzato i livelli di K, Na e Fe. Mediamente la cv Girox ha accumulato di più della Suprella. Il K era maggiore solo nella tesi al 100%, il Na nelle tesi 75% e 50% il Fe nella sola tesi 50% (tabella 6).

II CICLO (3- 27 Maggio 2005).

Negli ipocotili della seconda raccolta il contenuto di K e Mg è stato influenzato dal fattore concentrazione della soluzione con il K più elevato nella tesi 75% e il Mg superiore nella 100% e 75%. Sui contenuti di Na e P è stata significativa l'influenza

della cultivar con livelli per entrambi gli elementi, più elevati in Girox rispetto a Suprella e livelli paragonabili in tutte e tre le tesi. L'interazione dei due fattori ha influenzato i contenuti di Ca e Fe unitamente all'effetto di entrambi nel caso del Ca, o del solo fattore cultivar per il Fe. L'analisi dei trattamenti per entrambi gli elementi ha evidenziato livelli mediamente più elevati in Girox.

Nelle foglie il contenuto di Ca è stato influenzato dal fattore cultivar con livelli maggiori in Girox rispetto a Suprella. Il contenuto di Mg è stato influenzato dalla concentrazione della soluzione con livelli più elevati nella tesi 50% e superiore in Suprella. Il contenuto di P è stato influenzato sia dalla soluzione che dalla cultivar con livelli più elevati nella tesi 50%. Il contenuto di Na è stato influenzato dalla interazione concentrazione della soluzione x cultivar con il livello più elevato nel trattamento Girox 50%. I livelli di K e Fe sono risultati paragonabili in tutti i trattamenti (tabella 7).

III CICLO (9 Giugno – 1 Luglio 2005).

Negli ipocotili il contenuto di K, Mg, e Na è stato influenzato da entrambi i fattori, concentrazione della soluzione nutritiva e cultivar, con livelli per tutti più elevati in Suprella rispetto a Girox e con livelli maggiori nella tesi 100 e 75% per il K, nella sola tesi 75% per il Mg e nella tesi 50% nel caso del Na. L'interazione dei due fattori ha influenzato i livelli di Ca e P. L'analisi dei trattamenti evidenzia livelli mediamente più elevati in Girox, per il Ca e di P per Suprella rispettivamente. La cultivar ha infine determinato livelli di Fe superiori in Suprella rispetto a Girox.

Nelle foglie i contenuti di K e P sono stati influenzati da entrambi i fattori, concentrazione della soluzione nutritiva e cultivar, con livelli più elevati nella tesi 100% e superiori in Girox rispetto a Suprella. Il solo fattore soluzione nutritiva ha influenzato i livelli Fe risultanti più elevati nella tesi 50%. L'interazione di due fattori ha agito sui contenuti di Ca e Mg; l'analisi di trattamenti evidenzia livelli mediamente più elevati in Girox rispetto a Suprella e maggiore nei trattamenti a 75% e 100%. Nessuna differenza significativa tra le tesi e i trattamenti a confronto è emersa nei contenuti di Na (tabella 8).

Nitrati

Il livello dei nitrati in ipocotili e foglie in tutti e tre i cicli di allevamento è stato significativamente influenzato dal fattore concentrazione della soluzione nutritiva con livelli decrescenti al decrescere della concentrazione della soluzione nutritiva. I valori

medi calcolati sui tre cicli produttivi negli ipocotili sono risultati essere di 372, 308 e 198 mg/kg peso fresco e nelle foglie di 976, 707 e 438 mg/kg di peso fresco nelle tesi 100%, 75% e 50% rispettivamente (dati non riportati). Relativamente alle foglie in tutti e tre i cicli la cv Girox ha accumulato più nitrati rispetto a Suprella. I contenuti di nitrati ottenuti rimangono comunque ben al di sotto dei livelli massimi previsti in alcuni paesi dell'Europa (vedi esmpio Svizzera sopra riportato) e a quelli proposti (circa 3000 mg/kg f.w. per il ravanello) ma non sanciti, inseriti nel Doc. VI/3080/93-rev 3 definito in fase di preparazione del regolamento CE 194/1997 sopra citato.

Il risultato ottenuto sicuramente positivo è stato riportato anche da altri autori in prove di allevamento su senza suolo di Valerianella (Fontana et al., 2004) e ravanello (S. Nicola et al., 2005). Per quest'ultimo sono stati riferiti livelli fino al 53% inferiori rispetto ai contenuti di nitrati nel prodotto ottenuto con il sistema tradizionale su suolo. S. Nicola et al. (2005), richiamano l'attenzione sull'influenza del fattore densità d'impianto; a parità di contenuto di nitrati nella soluzione aumentando la densità d'impianto si ridurrebbe la disponibilità nitrati per pianta.

L'aver condotto le prove sperimentali in un periodo in cui l'elevata luminosità rende molto attivo la nitrato riduttasi può aver concorso, unitamente all'alta densità d'impianto, al ridotto accumulo di nitrati negli ipocotili e soprattutto nelle foglie.

Tabella 6. Contenuto di macro e microelementi in ipocotili e foglie di piante di ravanella raccolte alla fine del I ciclo (17 Marzo -16 Aprile)

Table 6. Effect of nutrient solution concentration on macro and microelement content of hypocotyls and leaves et the end of the first growing cycle (March 17-April 16)

IPOCOTILI							
Trattamenti	Ca	K	Mg	Na	P	Fe	NO ₃
	mg/kg s.s						mg/kg f.w
Girox 100%	5436	57678	5287	2373	6183	70	332
Girox 75%	5173	56905	5914	1913	6428	52	244
Girox 50%	4331	45893	5772	1693	6051	62	130
Suprella 100%	5965	56455	6272	2098	6789	92	358
Suprella 75%	5413	56479	6416	1912	6744	62	311
Suprella50%	3827	44795	5515	1606	5664	50	138
Soluzione (S)							
100%	5701 a	57066 a	5780	2235 a	6486	81 a	345 a
75%	5293 a	56692 a	6165	1913 b	6586	57 b	277 b
50%	4079 b	45344 b	5643	1650 c	5858	56 b	134 c
Cultivar (C)							
Girox	4980	53492	5657	1993	6221	61	235
Suprella	5068	52576	6068	1872	6399	68	269
Significatività							
Soluzione	*	***	ns	***	ns	***	*
Cultivar	Ns	ns	ns	ns	ns	Ns	Ns
S x C	Ns	ns	ns	ns	ns	Ns	Ns
FOGLIE							
Trattamenti	Ca	K	Mg	Na	P	Fe	NO ₃
	mg/kg s.s						mg/kg f.w
Girox 100%	36727 ab	41529	14495	1945	5220	83	1525 a
Girox 75%	34981 b	33599	14365	2377	5435	87	719 b
Girox 50%	28373 c	30832	18067	2261	5746	103	223 d
Suprella 100%	39332 a	36708	10754	1738	5278	78	695 b
Suprella 75%	38312 ab	33370	14450	2032	5689	85	473 c
Suprella50%	36451 ab	27637	16756	2017	5689	92	325 cd
Soluzione (S)							
100%	38029	39119 a	12624b	1841 b	5249 b	80 c	1110
75%	36647	33485 b	14407b	2205 a	5562 a	86 b	596
50%	32412	29235 c	17411a	2139 a	5718 a	97 a	274
Cultivar (C)							
Girox	36053	34255	15205	2113	5448	87 a	822
Suprella	38032	32572	13986	1929	5552	85 b	498
Significatività							
Soluzione	***	***	***	***	*	***	***
Cultivar	***	***	ns	***	ns	*	***
S x C	*	ns	ns	ns	ns	ns	***

Significatività dell'F: ns, *, **, ***, rispettivamente non significativo, $P \leq 0.05$, 0.01, 0.001. Le medie lungo le colonne seguite dalle stesse lettere non sono significativamente differenti al 5% secondo il multiple range test di Duncan

ns, *, **, *** Not significant or significant at $P \leq 0.05$, 0.01 or 0.001 respectively. Means with the same letter within a column are not significantly different at $P=0.05$ according to Duncan's Multiple Range test.

Tabella 7. Contenuto di macro e microelementi in ipocotili e foglie di piante di ravanella raccolte alla fine del II ciclo (3 – 27 Maggio).

Table 7. Effect of nutrient solution concentration on macro and microelement content of hypocotyls and leaves at the end of the s Second growing cycle (3-27 May).

IPOCOTILI							
Trattamenti	Ca	K	Mg	Na	P	Fe	NO ₃
	mg/kg s.s						mg/kg f.w
Girox 100%	9162 ab	75024	9067	3677	8601	153 a	441
Girox 75%	9430 a	88310	8489	3842	8752	153 a	296
Girox 50%	7445 d	77554	7412	3500	7213	134 b	246
Suprella 100%	8393 bc	71654	7917	2640	7359	116 b	339
Suprella 75%	7913 cd	79606	8126	3354	7949	120 b	319
Suprella50%	7418 d	74875	7832	3443	7905	131 b	184
Soluzione (S)							
100%	8778	73339 b	8492 a	3159	7980	135	390 a
75%	8671	83958 a	8308 a	3598	8351	137	308 b
50%	7431	76215 b	7622 b	3471	7559	132	215 c
Cultivar (C)							
Girox	8679	80296	8323	3673 a	8189 a	147	328 a
Suprella	7908	75378	7958	3145 b	7738 b	123	281 b
Significatività							
Soluzione	***	*	*	ns	ns	ns	***
Cultivar	***	ns	ns	***	*	***	*
S x C	*	ns	ns	ns	ns	*	Ns

FOGLIE							
Trattamenti	Ca	K	Mg	Na	P	Fe	NO ₃
	mg/kg s.s						mg/kg f.w
Girox 100%	39439	35443,5	15341,8	1852,75 d	5065,75	73	1034
Girox 75%	37722,3	35879,3	15436,5	2108,5 c	4896,75	72,5	840
Girox 50%	38350,3	32696	15985,8	2867,5 a	5427,25	73,5	818
Suprella 100%	36757	42133,3	14786,3	1758,5 d	5488,75	77	788
Suprella 75%	37041,3	42091,3	14765,8	2216 c	5554,5	74,25	836
Suprella50%	37467,7	33074,8	15876,3	2561,75 b	5776	79,25	510
Soluzione (S)							
100%	38098	38788	15064 b	1806	5277 b	75	911 a
75%	37382	38985	15101 b	2162	5226 b	73	838 a
50%	37909	32885	15931 a	2715	5602 a	76	664 b
Cultivar (C)							
Girox	38504 a	34673	15588	2276	5130 b	73	887 a
Suprella	37089 b	39100	15143	2179	5606 a	77	721 b
Significatività							
Soluzione	ns	ns	**	***	*	ns	*
Cultivar	**	ns	ns	ns	***	ns	*
S x C	ns	ns	ns	*	ns	ns	Ns

Significatività dell'F: ns, *, **, ***, rispettivamente non significativo, $P \leq 0.05$, 0.01, 0.001. Le medie lungo le colonne seguite dalle stesse lettere non sono significativamente differenti al 5% secondo il multiple range test di Duncan

ns, *, **, *** Not significant or significant at $P \leq 0.05$, 0.01 or 0.001 respectively. Means with the same letter within a column are not significantly different at $P=0.05$ according to Duncan's Multiple Range test.

Tabella 8. - Contenuto di macro e microelementi in ipocotili e foglie di piante di ravanella raccolte alla fine del III ciclo (9 Giugno – 1 Luglio).

Table 8. Effect of nutrient solution concentration on macro and microelement content of hypocotyls and leaves at the end of the third growing cycle (June 9– July 1).

IPOCOTILI							
Trattamenti	Ca	K	Mg	Na	P	Fe	NO ₃
	mg/kg s.s						mg/kg f.w
Girox 100%	7361 ab	69778	6295	2739	5456 c	83	341
Girox 75%	5901 c	66180	5556	3222	5125 d	67	351
Girox 50%	6145 c	62088	5702	3642	5381 cd	91	222
Suprella 100%	7761a	76654	8010	3095	5901 b	118	424
Suprella 75%	7242 b	80791	7598	3540	6091 ab	106	330
Suprella50%	7042 b	73310	7274	4465	6408 a	104	266
Soluzione (S)							
100%	7561	73216 a	7153 a	2917 c	5678	101	382 a
75%	6571	73485 a	6577 b	3381 b	5608	86	341 b
50%	6593	67699 b	6488 b	4053 a	5895	98	244 c
Cultivar (C)							
Girox	6469	66015 b	5851 b	3201	5320	80 b	305
Suprella	7348	76918 a	7627 a	3700	6133	109 a	340
Significatività							
Soluzione	***	***	***	***	ns	ns	*
Cultivar	**	***	***	***	***	***	Ns
S x C	*	ns	NS	ns	*	ns	Ns

FOGLIE							
Trattamenti	Ca	K	Mg	Na	P	Fe	NO ₃
	mg/kg s.s						mg/kg f.w
Girox 100%	39177 a	35070	16024 a	2192	4801	89	965
Girox 75%	38963 a	29520	16163 a	2838	4396	80	719
Girox 50%	38560 ab	24494	15932 a	3166	4395	98	415
Suprella 100%	35622 cd	41355	14780b	3086	5102	90	849
Suprella 75%	34865 d	36399	14181 c	2610	5017	88	654
Suprella50%	37076 bc	27177	13909 c	3336	4880	101	337
Soluzione (S)							
100%	37399	38213 a	15402	2639	4952 a	89 b	907 a
75%	36914	32959 b	15172	2724	4707 b	84 b	686 b
50%	37818	25835 c	14921	3251	4637 b	99 a	376 c
Cultivar (C)							
Girox	38900	29695 b	16039	2732	4531 b	89	700 a
Suprella	35854	34977 a	14290	3011	5000 a	93	613 b
Significatività							
Soluzione	Ns	***	*	ns	***	***	***
Cultivar	***	***	***	ns	***	ns	*
S x C	*	ns	*	ns	ns	ns	Ns

Significatività dell'F: ns, *, **, ***, rispettivamente non significativo, $P \leq 0.05$, 0.01, 0.001. Le medie lungo le colonne seguite dalle stesse lettere non sono significativamente differenti al 5% secondo il multiple range test di Duncan

ns, *, **, *** Not significant or significant at $P \leq 0.05$, 0.01 or 0.001 respectively. Means with the same letter within a column are not significantly different at $P=0.05$ according to Duncan's Multiple Range test.

Attività antiossidante totale

I risultati ottenuti dalla determinazione dell'attività antiossidante totale espressa come percentuale di inibizione del radicale DPPH (α,α difenil- β picrilidrazile) hanno evidenziato, come nella precedente fase della ricerca, livelli più elevati nelle foglie rispetto agli ipocotili con valori medi del 90% e 50-55% rispettivamente. In tutti e tre i cicli negli ipocotili l'attività antiossidante è stata influenzata dall'interazione concentrazione della soluzione x cultivar facendo registrare valori differenti nell'ambito dei trattamenti ma sempre più elevati in Suprella rispetto a Girox (tabella 9).

Relativamente alle foglie al primo ciclo è risultata significativa l'influenza dei due fattori separatamente, concentrazione della soluzione nutritiva e cultivar, con valori più elevati nelle tesi 75% e 50%. Nei due cicli successivi è prevalso l'effetto interazione concentrazione della soluzione x cultivar con valori, nell'ambito dei trattamenti, più elevati nella tesi al 50% al II ciclo e 75% e 50% al III ciclo (tabella 9).

Tabella 9. Attività antiossidante espressa come % di inibizione del radicale DPPH (α,α -difetil- β -picrilidrazile), negli ipocotili e nelle foglie di piante di ravenello e nei tre cicli di allevamento.

Table 9. Antioxidant activity expressed as DPPH radical- scavenging activity (α,α diphenil- β - picrylhydrazyl) inhibition for the thre harvest periods.

	I CICLO		II CICLO		III CICLO	
Trattamenti	IPOCOTILE	FOGLIE	IPOCOTILE	FOGLIE	IPOCOTILE	FOGLIE
Girox 100%	54,41 cd	91,19	52,64 c	89,20 b	53,16 e	88,80 c
Girox 75%	52,62 d	92,07	52,47 c	89,47 b	60,58 c	91,40 a
Girox 50%	54,56 cd	92,55	57,49 b	91,14 a	60,93 bc	90,60 ab
Suprella 100%	56,57 b	90,88	59,33 a	87,99 c	61,79 ab	90,35 b
Suprella 75%	59,38 a	91,37	56,57 b	85,62 d	58,00 d	91,02 ab
Suprella50%	54,66 c	91,58	59,52 a	90,87 a	62,63 a	91,22 ab
Soluzione (S)						
100%	55,49	91,04 b	55,98	88,60	57,48	89,57
75%	56,00	91,72 a	54,52	87,55	59,29	91,21
50%	54,61	92,06 a	58,51	91,00	61,78	90,91
Cultivar (C)						
Girox	53,86	91,94 a	54,20	89,94	58,22	90,27
Suprella	56,87	91,28 b	58,47	88,16	60,81	90,86
Significatività						
Soluzione	NS	***	***	***	***	***
Cultivar	***	***	***	***	***	*
S x C	***	ns	***	***	***	*

Significatività dell'F: ns, *, **, ***, rispettivamente non significativo, $P \leq 0.05, 0.01, 0.001$. Le medie lungo le colonne seguite dalle stesse lettere non sono significativamente differenti al 5% secondo il multiple range test di Duncan

ns, *, **, *** Not significant or significant at $P \leq 0.05, 0.01$ or 0.001 respectively. Means with the same letter within a column are not significantly different at $P=0.05$ according to Duncan's Multiple Range test.

Polifenoli totali.

Il contenuto di polifenoli totali è stato determinato mediante il saggio di Folin Ciocalteau ed espresso in mg equivalenti di acido gallico/100g di peso secco. Negli ipocotili ottenuti durante il primo ciclo di allevamento il livello di polifenoli totali è stato influenzato in modo significativo dalla cultivar, dalla concentrazione della soluzione nutritiva e dalla interazione dei due fattori. Nell'ambito dei trattamenti a confronto i valori sono risultati più elevati nelle tesi al 75% e 100% e più elevati in Suprella rispetto a Girox (tabella 10). Al secondo ciclo è risultata significativa l'influenza della concentrazione della soluzione nutritiva e della sua interazione con il fattore cultivar. Nell'ambito dei trattamenti a confronto i livelli di polifenoli sono risultati più elevati nelle tesi 50%, nel caso della cv Girox, e 50% e 75% per la cv Suprella (tabella 10). Un'influenza significativa della sola soluzione nutritiva è stata riscontrata sul contenuto di polifenoli totali degli ipocotili della terza raccolta con livelli più elevati nelle tesi al 50% e 75% rispettivamente (tabella 10). I valori ottenuti sono in accordo con i livelli medi normalmente ottenuti per questa specie.

Antocianine totali

La quantificazione delle antocianine mediante il metodo spettrofotometrico pH-differenziale, al primo ciclo di allevamento non ha evidenziato differenze significative tra i trattamenti a confronto né tra i valori medi in funzione del fattore cultivar. E' risultata invece significativa l'influenza della concentrazione della soluzione nutritiva con valori più elevati nelle tesi al 50% e 75% (tabella 10). Il contenuto totale di pigmento è stato influenzato, durante il secondo ciclo di allevamento, da entrambi i fattori separati nonché dalla loro interazione. Nell'ambito dei trattamenti, per entrambe le cultivar il contenuto di antocianine è aumentato in modo inversamente proporzionale alla concentrazione della soluzione nutritiva con valori più elevati nelle tesi al 75% e 50% e più elevati nella cv Suprella rispetto alla cv . Girox. Negli ipocotili di piante raccolte durante il ciclo estivo il livello di pigmento è risultato in media inferiore rispetto a quello determinato negli ipocotili delle raccolte primaverili. Nessuna differenza significativa è risultata dal confronto dei trattamenti considerati né a livello dei valori medi dei trattamenti in funzione della cultivar o della concentrazione della soluzione nutritiva (tabella 10).

Tabella 10. Contenuto di antocianine totali (mg pg/100 g f.w) e polifenoli totali (mg GAE/100g d.w.) in ipocotili di ravanello raccolti al I, II e III ciclo di allevamento

Table 10. Antocianins content (as mg pelargonidin/100 g f.w) and total polyphenols (as mg gallic /100 g d.w.) in hypocotyls harvested at the first , the second and the third growing cycle.

Trattamenti	I CICLO		II CICLO		III CICLO	
	Antocianine	Polifenoli	Antocianine	Polifenoli	Antocianine	Polifenoli
Girox 100%	30,07	9,80 bc	34,32	2,57 c	38,31	3,73
Girox 75%	41,34	12,54 b	37,67	3,44 c	33,21	10,74
Girox 50%	47,65	1,74 d	36,65	16,43 a	39,21	14,98
Suprella 100%	42,61	24,18 a	39,33	3,01 c	34,86	8,37
Suprella 75%	51,80	11,17 bc	43,65	11,47 b	41,27	11,06
Suprella50%	45,64	5,46 cd	51,89	11,56 b	40,25	15,31
Soluzione (S)						
100%	36,34 b	16,99 a	36,83 b	2,79 c	36,58	6,05 c
75%	46,57 a	11,86 b	40,66 ab	7,46 b	37,24	10,90 b
50%	46,65 a	3,60 c	44,27 a	13,99 a	39,73	15,14 a
Cultivar (C)						
Girox	39,68	7,57	36,21 b	7,48	36,91	9,82
Suprella	46,68	14,06	44,96 a	8,68	38,79	11,58
Significatività						
Soluzione	*	***	*	***	Ns	***
Cultivar	Ns	**	***	Ns	Ns	Ns
S x C	Ns	*	Ns	***	Ns	Ns

Significatività dell'F: ns, *, **, ***, rispettivamente non significativo, $P \leq 0.05$, 0.01, 0.001. Le medie lungo le colonne seguite dalle stesse lettere non sono significativamente differenti al 5% secondo il multiple range test di Duncan.

ns, *, **, *** Not significant or significant at $P \leq 0.05$, 0.01 or 0.001 respectively. Means with the same letter within a column are not significantly different at $P=0.05$ according to Duncan's Multiple Range test.

NOTA: I CICLO= 17 Marzo- 16 Aprile 2005

II CICLO= 3-27 Maggio 2005;

III CICLO= 9 Giugno- 1 Luglio 2005

Glucosinolati

I contenuto totale di glucosinolati è stato determinato secondo il metodo ufficiale ISO 9167-1 1992, la formula di struttura viene rappresentata in figura 3. Su estratti metanolici di campioni di ipocotili liofilizzati, ottenuti da allevamento su float system, relativi a tutti i trattamenti considerati, previa digestione enzimatica e cromatografia preparativa a scambio anionico, è stata eseguita un'analisi mediante cromatografia HPLC. Lo standard esterno utilizzato era costituito da sinigrina. Nella figura 4 è stato riportato il profilo dell'intero cromatogramma con vari picchi di eluizione corrispondenti ai singoli gruppi di glucosinolati ed eluiti rispettivamente nella prima fase (0-6 minuti) (figura 5) e nell'ultima fase (46-53 minuti) (figura 6) della corsa cromatografica.

Il contenuto totale di glucosinolati negli ipocotili ed espresso in mg/100 g di peso fresco, al primo ciclo di allevamento è stato influenzato in modo significativo da entrambi i fattori separati, concentrazione della soluzione nutritiva e cultivar sia dalla loro interazione. Nell'ambito dei trattamenti esaminati i contenuti sono risultati significativamente differenti con valori più elevati nella cultivar Suprella allevata con la soluzione al 75% (tabella 11). Negli ipocotili relativi al secondo ciclo è stato determinato, a livello di tutti i trattamenti considerati, un aumento significativo del livello dei glucosinolati rispetto al ciclo precedente. Nessuna differenza significativa è emersa né a livello dei trattamenti né in funzione della concentrazione della soluzione o della cultivar (tabella 11). Una diminuzione significativa del contenuto di glucosinolati è stata determinata a livello degli ipocotili della raccolta estiva, in tutti i trattamenti, con valori paragonabili a quelli rinvenuti negli ipocotili del primo ciclo. La valutazione statistica dei dati ha messo in evidenza un'influenza significativa da parte del fattore concentrazione della soluzione nutritiva e della interazione concentrazione della soluzione nutritiva x cultivar con valori più elevati nella tesi Suprella 50% (tabella 11). Riassumendo, l'interazione dei due fattori esaminati ha influenzato significativamente il contenuto totale dei glucosinolati al primo e terzo ciclo. Mediamente la tesi al 50% ha riportato valori più elevati in tutti e tre i cicli e in misura significativa al primo e terzo ciclo. Per la tesi al 75% i valori sono risultati più elevati solo nei primi due cicli. La cultivar Suprella ha riportato valori mediamente più elevati anche se statisticamente non significativi (tabella 11).

Il contenuto totale di glucosinolati è un fattore di qualità fondamentale per questa specie poiché da esso dipende il caratteristico aroma pungente o piccante che tanto condiziona il consumatore nella scelta di questa ortiva. Soprattutto nei mercati del Nord Europa questo parametro è di particolare rilievo ai fini del soddisfacimento delle aspettative dei consumatori che privilegiano un prodotto particolarmente piccante dovuto all'alto contenuto dell'alchenil glucosinolato glucorafasatina (M. Schreiner et al., 2002). Anch'esso è soggetto a variazioni legate al genotipo, alle condizioni climatiche e pedoclimatiche variabili nel corso delle stagioni e della collocazione geografica. Infine ma non ultime le pratiche agronomiche quali la fertilizzazione, lavorazione del suolo, il regime di irrigazione e nel caso del senza suolo la soluzione nutritiva, ecc. Per la coltivazione tradizionale su suolo del ravanella vengono riportati in letteratura valori medi di glucosinolati variabili da 10 a 70-80 mg/100 g di peso fresco (Fenwick et al., 1983; Carlson et al., 1985; Ewa Ciska et al., 2000). I valori determinati nella presente ricerca sono in accordo con i dati di letteratura essendo perfettamente rientranti nel range dei valori tipici della specie *Raphanus sativus* L.. Va comunque evidenziato l'aumento significativo di glucosinolati determinati nel prodotto ottenuto al secondo ciclo di allevamento. E' ipotizzabile che il concorso delle condizioni di luminosità intesa come radiazione fotosinteticamente attiva (PAR) unitamente ad una buona efficienza di utilizzo di questa, e di temperature ambientali e della soluzione nutritiva (25 e 22°C rispettivamente) abbia ottimizzato i processi enzimatici metabolici di sintesi delle molecole carboniose dei glucosinolati, e i processi di assorbimento minerale a livello radicale. Gli enzimi coinvolti nella sintesi dei glucosinolati appartengono alla classe delle flavin monoossigenasi. La loro attività risulta dipendente dalla luce (Wallsgrrove and Bennet, 1995) ed è influenzata dalle temperature (Schonhof et al., 1999). A causa della limitata esposizione diretta alla irradiazione solare del ravanella durante la fase di espansione, l'effetto della temperatura sulla biosintesi dei glucosinolati in questa specie potrebbe essere primario mentre quello della luce intesa come densità di flusso fotonico fotosintetico (PPFD) diventa secondario, lieve o addirittura inefficace a seconda della componente di indolyl o alchenil glucosinolati (M. Schreiner et al., 2002). Da questi eventi potrebbe essere dipeso l'aumentata efficienza di utilizzo delle unità di glucosio e di zolfo che

rientrano nella composizione delle molecole di glucosinolato (Ciska et al., 2000; Schreiner et al., 2002).

Dai risultati ottenuti nella presente ricerca, si può concludere che il ravanella allevato su float system risponde per quanto attiene il contenuto di glucosiolati ai criteri standard di qualità imposti per la commercializzazione. Il prodotto ottenuto nel secondo ciclo di allevamento ha riportato contenuti più elevati. Il ciclo di allevamento estivo si è contraddistinto, come visto, con un forte calo di produzione e rese commerciali più elevate nella tesi al 50 % che tuttavia rimangono soddisfacenti in confronto ad una coltivazione su suolo. Alla luce di questi dati, considerati i benefici effetti biologici di questi composti sulla salute umana, e in un quadro di assunzione giornaliera equilibrata dei fattori della nutrizione, ivi incluso i composti bioattivi, il prodotto potrebbe considerarsi una fonte alternativa di glucosinolati in una stagione come quella estiva, in cui il mercato vede ridotta la presenza di altre specie crucifere, alcune delle quali fonti anche più ricche di queste molecole, poiché giunte a fine ciclo produttivo.

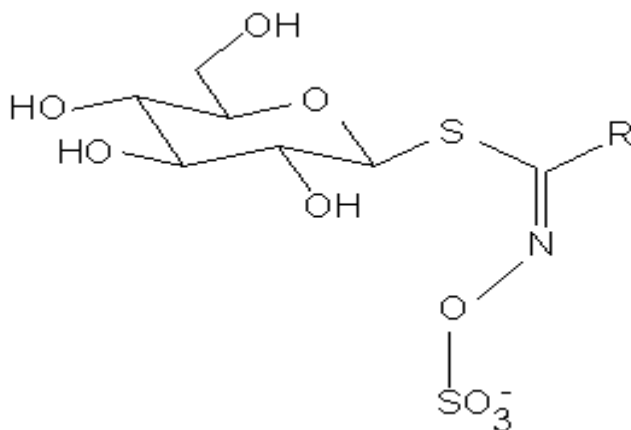


Figura 3. Formula di struttura di una molecola di glucosinolato.

Figure 3. Molecular structure of glucosinolates.

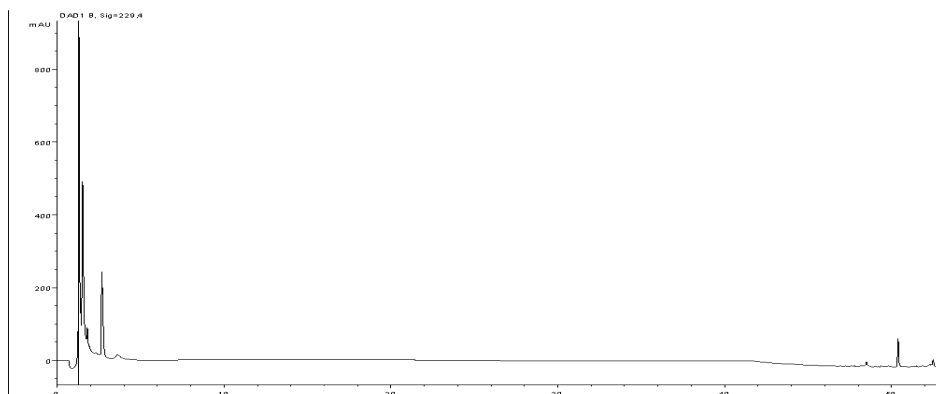


Figura 4. Profilo HPLC dei glucosinolati in ravanello tondo rosso allevato su float system ottenuto mediante misurazione dell'assorbanza a 229 nm di un estratto metanolico. Standard esterno utilizzato: sinigrina 10mmol.

Figure 4. HPLC profiles of glucosinolates of red radish hypocotyls obtained by floating system cultivation and detected at 229 nm . External standard :sinigrin 10 mmol.

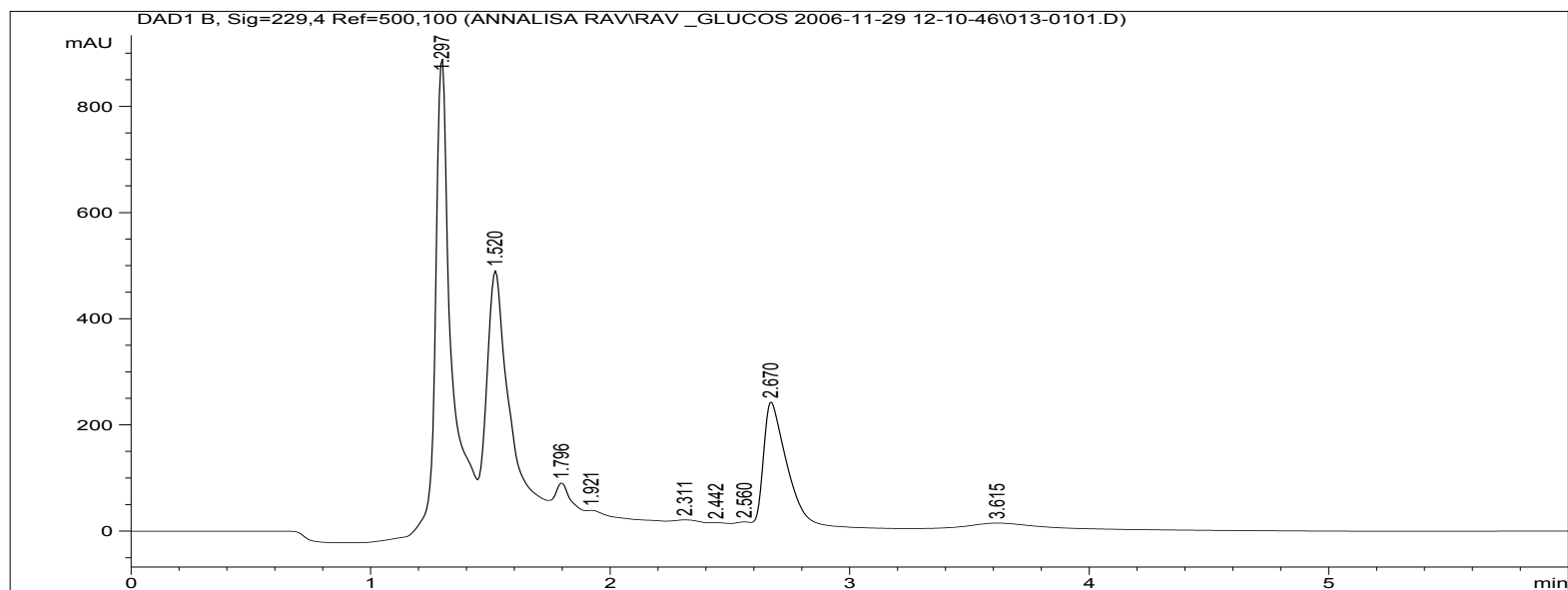


Figura 5. Cromatogramma HPLC nell'intervallo di eluizione 0-6 minuti, ottenuto mediante detenzione dell'assorbanza a 229nm su un estratto metanolico.

Figure 5. HPLC chromatogram of glucosinolates of red radish grown on floating system. Elution time 0-6 minutes interval.

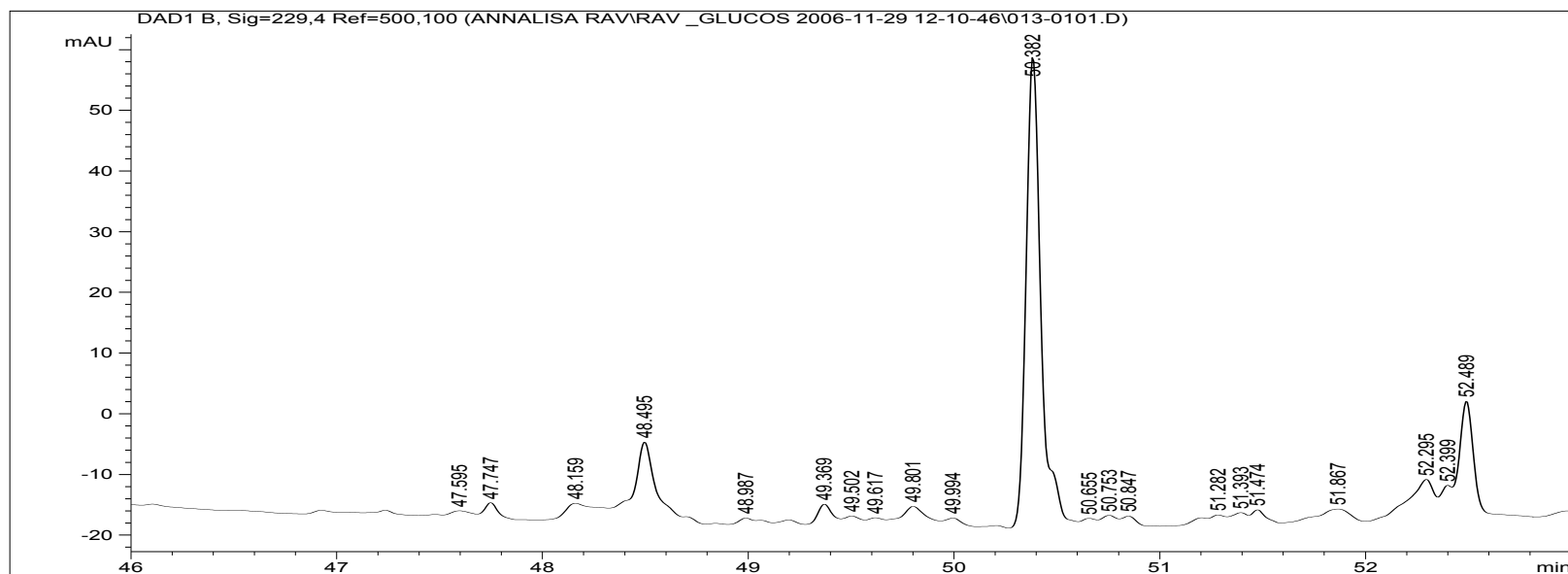


Figura 6. Cromatogramma HPLC nell'intervallo di eluizione 46-53 minuti, ottenuto mediante detenzione dell'assorbanza a 229 nm su un estratto metanolico.

Figure 6. HPLC chromatogram of glucosinolates of red radish grown on floating system. Elution time 46 -53 minutes interval.

Tabella 11. Contenuto totale di glucosinolati, espresso in mg/100 g di peso fresco in ipocotili di ravanello raccolti alla fine dei tre cicli di allevamento

Table 11. Glucosinolates content (milligrams per 100 g fresh weight) in the hypocotyls harvested at the first, the second and the third growing cycles respectively.

Trattamenti	CICLO		
	I	II	III
Girox 100%	28,68 c	64,53	29,53 b
Girox 75%	34,29 b	59,45	27,51 b
Girox 50%	36,66 ab	85,46	29,36 b
Suprella 100%	35,66 ab	87,39	28,57 b
Suprella 75%	40,19 a	107,07	28,17 b
Suprella50%	34,94 b	85,46	34,53 a
Soluzione (S)			
100%	32,17	75,96	29,05
75%	35,80	83,26	27,84
50%	37,24	87,55	31,95
Cultivar (C)			
Girox	33,21	71,21	28,8
Suprella	36,93	93,31	30,43
Significatività			
Soluzione	*	ns	**
Cultivar	*	ns	Ns
S x C	*	ns	*

Significatività dell'F: ns,*,**,***, rispettivamente non significativo, $P \leq 0.05$, 0.01, 0.001. Le medie lungo le colonne seguite dalle stesse lettere non sono significativamente differenti al 5% secondo il multiple range test di Duncan.

ns, *, **, *** Not significant or significant at $P \leq 0.05$, 0.01 or 0.001 respectively. Means with the same letter within a column are not significantly different at $P=0.05$ according to Duncan's Multiple Range test.

NOTA: I CICLO= 17 Marzo- 16 Aprile 2005

II CICLO= 3-27 Maggio 2005;

III CICLO= 9 Giugno- 1 Luglio 2005.

3.3 Conclusioni

Produzione

La soluzione al 75% ha dato risultati produttivi migliori nel periodo primaverile comprensivo dei primi due cicli (17 Marzo – 16 Aprile 2005 e 3-27 Maggio 2005), con produzioni più elevate ed ipocotili di buona qualità sia per il calibro, conforme anche a quello commerciale compreso tra i 2 e 3 centimetri, sia per il contenuto di elementi nutritivi, in particolare fosforo potassio e ferro risultati paragonabili o anche superiori ai livelli medi della composizione chimica standard del ravanella e non ultimo il basso contenuto di nitrati. La resa conseguita durante il ciclo estivo (9 Giugno -1 Luglio 2005), pur se drasticamente ridotta rispetto a quella dei due cicli precedenti, rimane comunque soddisfacente se confrontata con quella tradizionale su suolo che prevede densità di 300-400 piante/m² e una produzione massima di 2-3 kg/m² per cultivar a radice tonda. Sempre nel periodo estivo, nelle tesi 100% e 75% sono stati raggiunti investimenti e rese confrontabili, nella tesi 50% addirittura superiori. L'elevata percentuale di ipocotili di scarto registrata alla raccolta estiva va probabilmente imputata ai livelli termici verificatisi nel periodo, che possono aver causato la spaccatura. E' da considerare infatti che il processo principale di sviluppo di ingrossamento dell'ipocotile è avvenuto in una fase critica per le temperature ambientali, avendo raggiunto i 30°C. Il ravanella infatti teme temperature elevate e prolungate nel tempo che potrebbero portare anche ad uno svuotamento dell'ipocotile. In conseguenza degli eccessi termici si è verificata inoltre un'elevata evapotraspirazione che ha portato ad un concentrazione delle soluzioni con aumento della EC finale, 2,72, 1,86 mS/cm nella 100% e al 75% rispettivamente. Questo evento può solo in parte spiegare l'elevato numero di ipocotili di scarto, il ravanella infatti è una specie che risponde bene all'allevamento su float system anche in presenza di soluzioni nutritive concentrate con EC variabili da 2,2 a 3,2 mS/cm (Dellacecca, 2001).

Caratteristiche qualitative

L'analisi complessiva dei dati sul profilo qualitativo sulla porzione edule dell'ipocotile di ravanella allevato su float system ha messo in evidenza

l'influenza della concentrazione della soluzione nutritiva e del genotipo sui contenuti delle molecole bioattive. In tutti e tre i cicli negli ipocotili l'attività antiossidante è stata influenzata dall'interazione concentrazione della soluzione x cultivar facendo registrare valori differenti nell'ambito dei trattamenti ma sempre più elevati in Suprella rispetto a Girox. Il contenuto di polifenoli totali è risultato più elevato nelle tesi al 75% e 100% al primo ciclo e 75% e 50% al secondo e terzo ciclo (tabella 6).

Il livello di antocianine monomeriche calcolato con il metodo pH-differenziale è variato durante i tre cicli di allevamento da 30,04 a 51,89 mg/100 g di peso fresco, con valori in linea con i livelli medi riportati per le cv di ravanella tondo rosso (Giusti et al., 1998). Il contenuto nei primi due cicli è variato in modo significativo con la concentrazione della soluzione nutritiva e anche in funzione della cultivar. Nel complesso i contenuti sono risultati superiori nelle tesi 75% e 50% e la cv Suprella ha riportato livelli di pigmento sempre più elevati rispetto alla cv Girox. Diversi fattori, oltre a quelli esaminati, possono determinare differenze di contenuto di antocianine; tra essi l'illuminazione intesa come densità di flusso fotonico fotosintetico (PPFD) (Mazza e Miniati, 1993) e la temperatura, entrambi parametri soggetti a variazioni stagionali.

La sintesi delle antocianine è un processo fotomorfogenetico controllato da fitocromi, molecole che risentono sensibilmente degli effetti della qualità e della quantità di luce assorbita (Guruprasad and Laloraya, 1980; Bushmann and Lichtenthaler, 1982). Le differenze nel numero di ore di luce e le temperature potrebbero aver causato l'abbassamento descritto del contenuto di antocianine degli ipocotili della raccolta estiva. Tra i processi metabolici che presiedono alla produzione di questi pigmenti vi è la sintesi di glucosio richiesto per la reazione di glicosilazione dell'antocianina prevalente nel ravanella, la 3-soforoside-5-glucoside pelargonidina.

M Schreiner et al. (2002) hanno considerato il grado di efficienza del fotosistema II, responsabile della cattura dell'energia fotochimica necessaria alla sintesi del glucosio durante la fase oscura del processo fotosintetico, un possibile fattore che condiziona le sfumature di colore e la tonalità, quindi il grado di brillantezza.

In diverse specie la sintesi delle antocianine è risultata essere sensibile alle temperature ambientali (Herman et al., 1991; Böhm et al., 1998); nel ravanella

temperature a partire da 17°C determinano una progressiva riduzione di due indici di colorazione, il chroma e il hue angle, attraverso una riduzione della biosintesi di antocianine (Schreiner et al., 2002).

Alla luce dei risultati sperimentali sopra riferiti è ragionevole considerare le alte temperature ambientali registrate durante il ciclo di allevamento estivo (in media 30°C) quale fattore causale o concausale, unitamente alla ridotta efficienza del fotosistema II, del ridotto livello di pigmento negli ipocotili.

Le soluzioni al 50% e 75% hanno determinato livelli più elevati di glucosinolati totali che sono risultati superiori nella cultivar Suprella rispetto a Girox. I valori misurati rientrano, in tutti e tre i cicli di allevamento considerati nel range dei valori medi (da 10 a 70-80 mg/100 f.w) determinati per la specie *Raphanus sativus* L. Un aumento significativo in tutti i trattamenti esaminati è stato misurato negli ipocotili del secondo ciclo di allevamento. E' ipotizzabile il concorso di più fattori ambientali, luminosità e temperature dell'ambiente e della soluzione nutritiva nel migliorare lo stato fisiologico e metabolico della pianta nella sintesi di questi composti, rendendone maggiormente disponibili le unità precursori, efficientemente utilizzati, nel caso del glucosio, e meglio assorbiti dalle radici nel caso dello zolfo della soluzione nutritiva.

Complessivamente la soluzione nutritiva al 75% insieme a quella al 50% hanno reso possibile una produzione vendibile con buone caratteristiche per quanto attiene i due parametri di qualità fondamentali, antocianine responsabili del colore e della brillantezza e glucosinolati determinanti l'aroma caratteristico. I livelli di entrambi si sono abbassati durante il ciclo di allevamento estivo mantenendosi a valori seppur non ottimali comunque coerenti a quelli medi della specie.

CAPITOLO 4. RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE AD ALTA RISOLUZIONE (NMR) E PER IMMAGINI (MRI) DI RAVANELLO (*RAPHANUS SATIVUS* L.) ALLEVATO SU FLOAT SYSTEM E SU SUOLO.

4.1. Caratterizzazione qualitativa del ravanella allevato su Floating System mediante Spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare ad alta risoluzione (NMR)

Materiali e Metodi

Estratti in cloroformio ed estratti in acqua di ipocotili di ravanella ottenuti da allevamento mediante float system durante i tre cicli di allevamento eseguiti nel 2005 (17 Marzo-16 Aprile 2005; 3-27 Maggio 2005; 9 Giugno-1 Luglio 2005) utilizzando di una soluzione nutritiva a tre livelli di concentrazione, 100%, 75%, 50%, sono stati sottoposti ad analisi spettroscopica di risonanza magnetica nucleare in soluzione (NMR).

Analisi NMR

Le misure NMR sono state eseguite con un spettrometro Bruker 400 MHz AVANCE equipaggiato con una sonda BB da 5mm. I campioni portati a secco con evaporatore rotativo sono stati disciolti in 0.6 mL di solvente deuterato (D_2O o $CDCl_3$) e termostato a 25°C all'interno dello strumento per 5 minuti prima della misura. Per tutti i campioni considerati sono stati acquisiti gli spettri 1H -NMR usando una finestra spettrale di 10 ppm Nel caso di quelli disciolti in D_2O è stata usata la sequenza che permette la soppressione del segnale residuo dell'acqua (zgpr) posizionando il centro della finestra spettrale a 4.69 ppm, ed usando un impulso di saturazione lungo 3 s (d1) e potenza pari a 60 dB (p19), acquisendo 1024 accumuli, ognuno costituito da 32k punti ed usando un impulso di eccitazione di $\pi/2$. Gli spettri ottenuti sono stati processati usando 64k punti, un fattore pre-esponenziale (lb) pari a 0.3 Hz e correggendo manualmente sia la fase che la linea di base. Gli spettri 1H -NMR dei campioni disciolti in $CDCl_3$ sono stati registrati usando una sequenza a singolo impulso a $\pi/6$, acquisendo 1024

accumuli, ognuno costituito da 32k punti, con un ritardo tra una scansione e la successiva (d1) pari a 1 s. Gli spettri ottenuti sono stati processati usando 64k punti, un fattore pre-esponenziale (lb) pari a 0.3 Hz e correggendo manualmente sia la fase che la linea di base.

Analisi statistica

Sia sugli spettri in CDCl_3 che in D_2O (acqua deuterata) è stata eseguita un'analisi delle componenti principali (PCA) al fine di mettere in evidenza eventuali correlazioni tra specifici segnali NMR e variabili agronomiche e non, quali concentrazione della soluzione nutritiva, cultivar e periodo di coltivazione.

Risultati e Discussione

Nella figura 1 è riportato lo spettro di un campione disciolto in CDCl_3 , il quale mostra la maggior parte dei segnali compresi nell'intervallo 0 – 3 ppm, ed i rimanenti prevalentemente tra 3 e 4.5 ppm. Quest'osservazione è in accordo con quanto atteso, poiché il processo estrattivo subito da questi campioni è stato condotto usando cloroformio, un solvente a bassa polarità in grado pertanto di estrarre principalmente composti apolari.

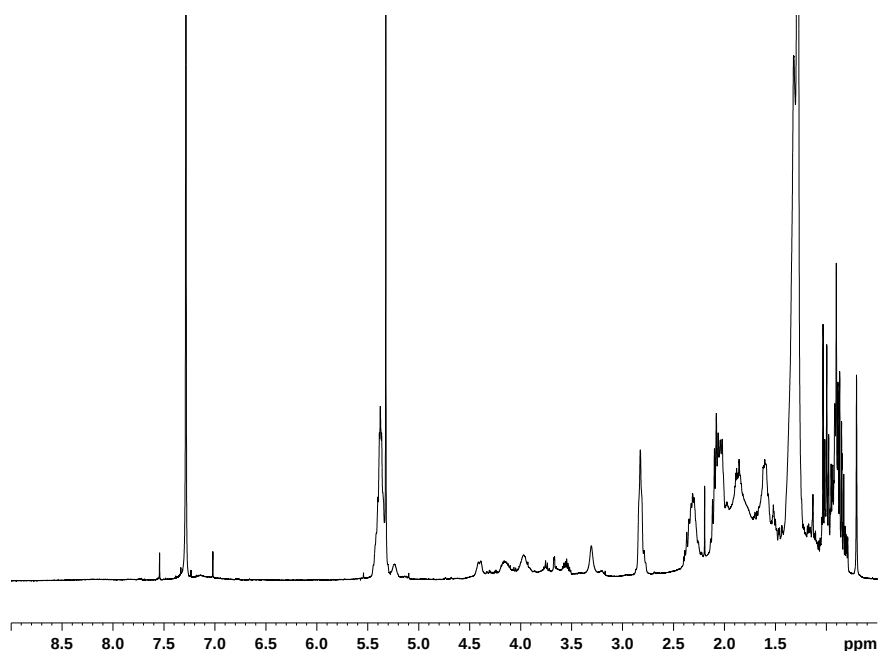


Figura 1. Spettro ^1H -NMR dell'estratto disciolto in CDCl_3 .

Figur 1. ^1H -NMR spectrum of a CDCl_3 dissolved sample

Note: D = deuterium ^1H .

Nell'intervallo da 0 a 2.5 ppm si trovano i segnali di gruppi metilici e metilenici, principalmente di catene alifatiche di acidi grassi. Nella zona compresa tra 5 e 5.5 ppm (Figura 2) si trovano invece i segnali dei protoni olefinici degli acidi grassi insaturi.

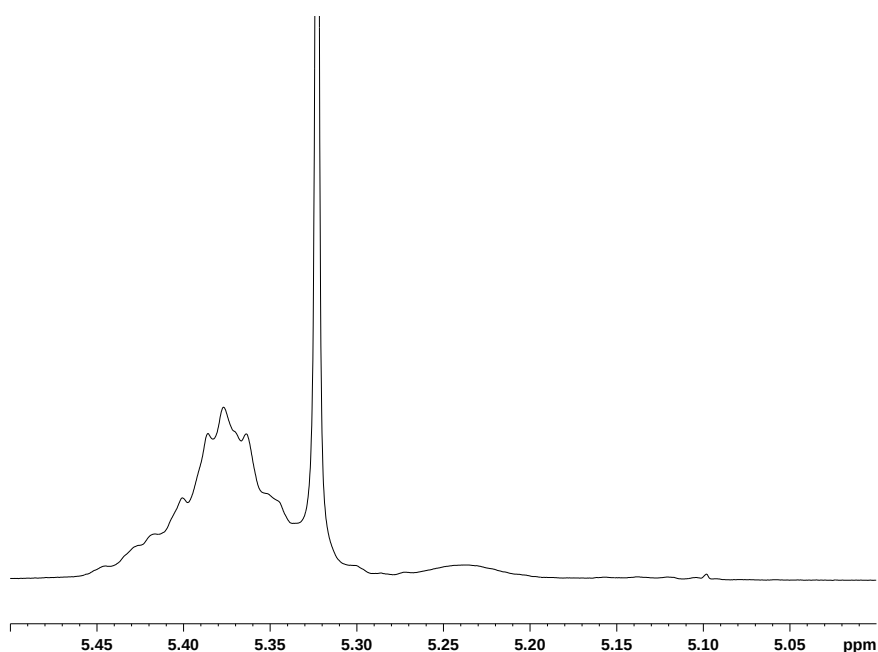


Figura 2. Espansione della zona dei protoni olefinici degli acidi grassi insaturi (da 5.0 a 5.5 ppm)

Figure 2. CDCl₃ dissolved sample. Zone of olefinic protons of insaturated fat acids (5.0 – 5.5 ppm interval).

Note: D = deuterium ¹H.

Infine nella regione tra 3.0 e 4.5 ppm (figura 3) si trovano i segnali degli zuccheri e di alcuni amminoacidi, che però essendo presenti in piccole concentrazioni rispetto agli zuccheri sono sovrapposti ad altri segnali.

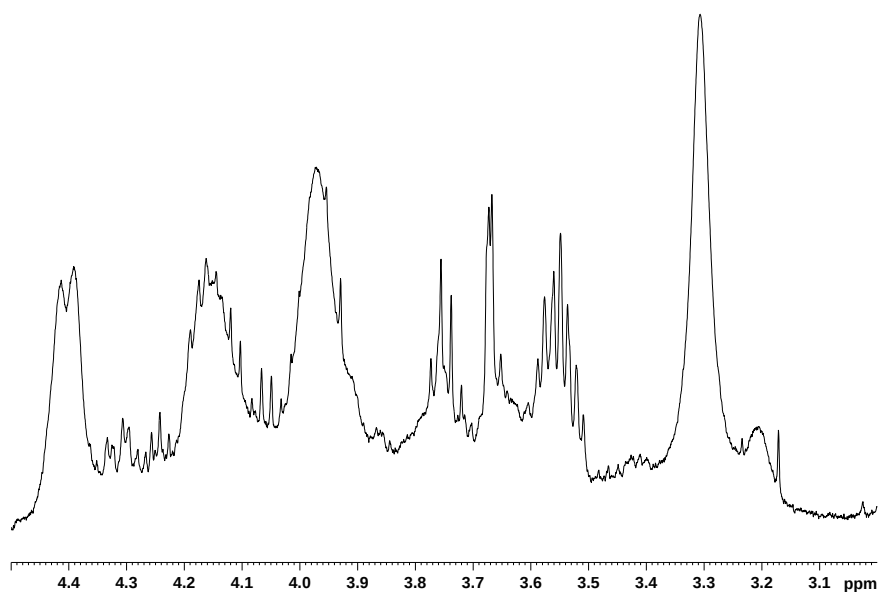


Figura 3. Espansione dell'intervallo compreso tra 3 e 4.5 ppm.

Figure 3. CDCl₃ dissolved sample 3- 4.5 ppm interval.

Note: D = deuterium ¹H.

Nella figura 4 è invece riportato lo spettro ^1H -NMR intero di un campione disciolto in D_2O ottenuto tramite estrazione con solvente polare (acqua).

La maggior parte dei segnali sono compresi nell'intervallo tra 3 e 5.5 ppm (figura 5), quello corrispondente agli zuccheri. Nel resto dello spettro sono presenti gruppi metilici e metilenici, da 0.25 ppm e metossilici, da 2 a 3 ppm, di molecole polari.

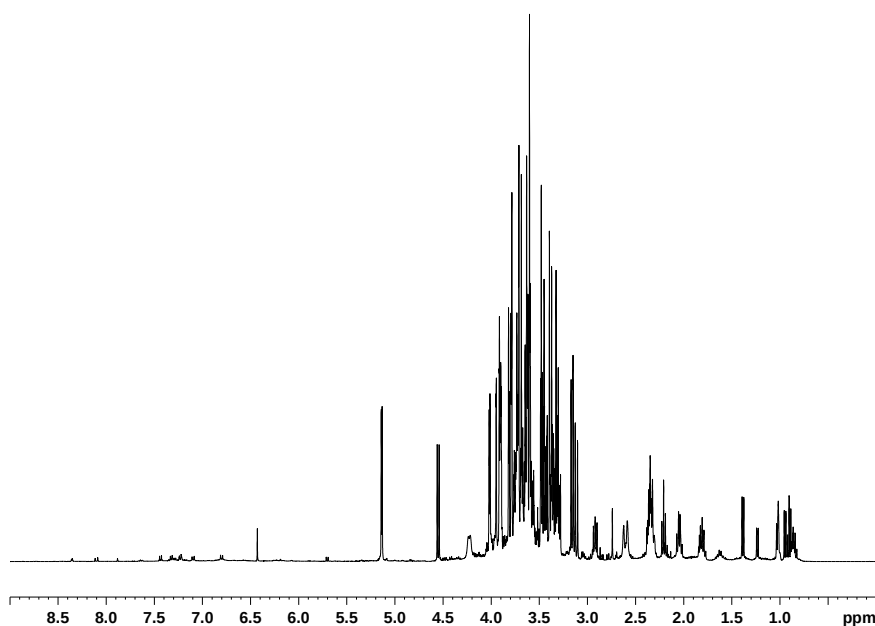


Figura 4. Spettro ^1H -NMR di un campione disciolto in D_2O .

Figure 4. ^1H -NMR spectrum of a D_2O dissolved sample

Note: D = deuterium ^1H

Nell'espansione della zona degli zuccheri è possibile distinguere l' α -D-glucosio (segnale a 5.15 ppm), il β -D-glucosio (segnale a 4.56 ppm), l' α -D-fruttopiranosio ed il β -D-fruttopiranosio (segnali tra 3.90 e 4.05 ppm), così come altri zuccheri (α -D-fruttofuranosio, β -D-fruttofuranosio, ecc.) di difficile visualizzazione in figura.

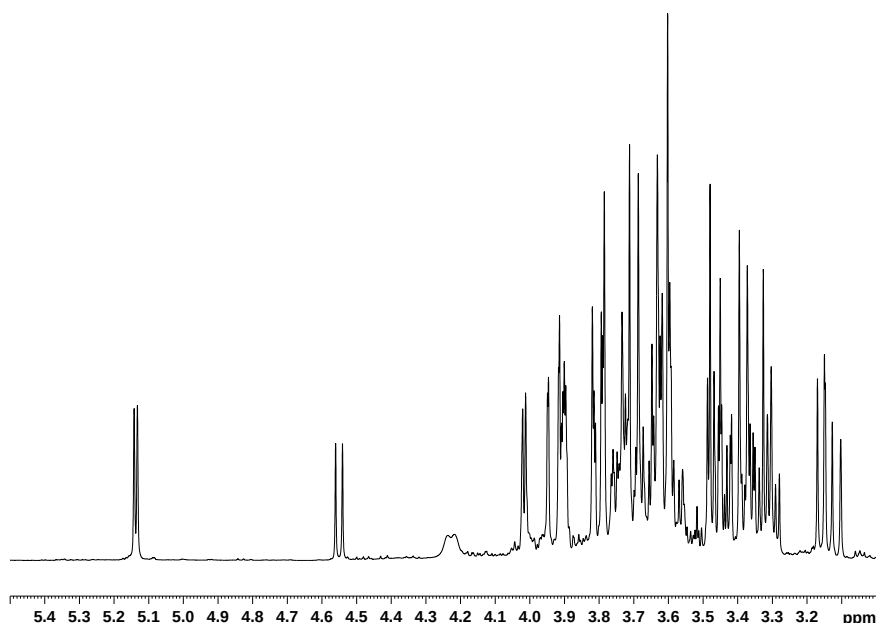


Figura 5. Espansione della zona degli zuccheri (da 3 a 5.5 ppm).

Figure 5. D₂O dissolved sample. Zone of sugar molecules in the 3- 5.5 ppm interval.

Sia sugli spettri in CDCl₃ che in D₂O è stata eseguita un'analisi delle componenti principali (PCA) al fine di mettere in evidenza eventuali correlazioni tra specifici segnali NMR e variabili agronomiche e non, quali concentrazione della soluzione nutritiva, cultivar e periodo di coltivazione.

La PCA serve a verificare le differenze, laddove esistenti, tra campioni a confronto e permette di individuare le aree che più influenzano questa differenza. Si esegue normalmente avvalendosi di un software preposto, che individua, tramite un procedimento geometrico matematico applicato alle matrici di dati, le componenti principali e l'influenza su di esse delle singole aree dello spettro NMR. In generale si considerano tante componenti principali quante quelle che spiegano almeno il 90% della variabilità complessiva.

Ogni componente è esplicitata da una funzione lineare in cui ad ogni singola area viene associato un peso che determina la sua importanza. Più alto è il valore del peso (K) maggiore è l'importanza dell'area rispetto alle componenti studiate.

Le coppie di componenti vengono rappresentate tramite un sistema di assi cartesiani nel quale è possibile evidenziare se esiste differenza tra i campioni.

Nel caso in cui tali differenze dovessero esistere, è possibile individuare, attraverso i valori più alti del peso K, quali sono le aree che maggiormente determinano tali differenze.

In questo studio le componenti individuate sono state quattro PC1, PC2, PC3 e PC4.

Per i campioni misurati in D₂O l'analisi statistica ha permesso di discriminare i campioni in base al periodo produttivo (figura 6), ed alla varietà (figura 7).

Per la prima distinzione sono particolarmente significativi gli intervalli da 4.20 a 4.28 ppm, da 1.00 a 1.08 ppm, da 3.48 a 3.56 ppm, da 0.84 a 0.92 ppm, da 3.64 a 3.72 ppm e da 3.24 a 3.32 ppm. Queste zone corrispondono a quelli degli zuccheri, ad eccezione degli intervalli 0.84 – 0.92 e 1.00 – 1.08 ppm che invece derivano dagli acidi grassi, e stanno ad indicare che il contenuto in zucchero è funzione del periodo di coltivazione.

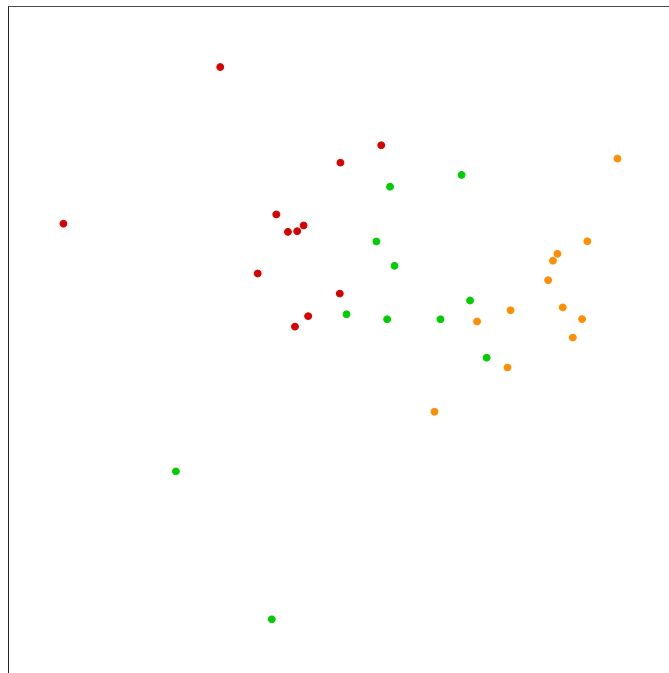


Figura 6. PC3 vs. PC4 dei campioni in D₂O. In rosso i campioni prelevati a aprile, in verde quelli di luglio ed infine in arancio quelli della fine di maggio.

Figure 6. PC3 vs PC4 of D₂O dissolved sample compared on the bases of growing time. Red, orange and green points correspond to april , may and july samplings respectively.

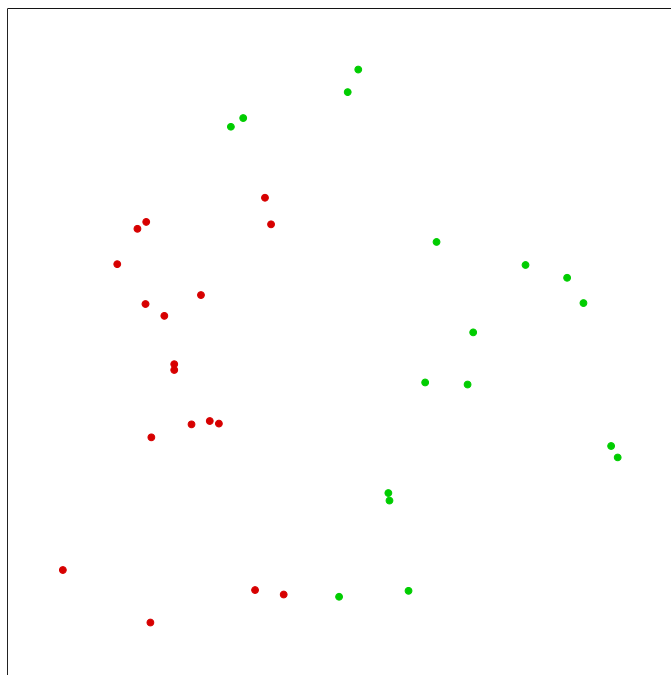


Figura 7. PC1 vs. PC2 dei campioni in D₂O. In rosso la varietà Suprella in verde quella Girox..

Figure 7. D₂O dissolved samples compared on the bases of cultivar factor. PC1 vs PC2. Red point= cv Suprella; green points = cv Girox.

Per la distinzione tra le varietà gli intervalli dello spettro NMR di maggior rilievo sono quelli da 3.32 a 3.40 ppm, da 3.88 a 3.96 ppm e da 1.00 a 1.08 ppm. Come nel caso precedente, si ha che la distinzione tra le varietà si per il contenuto di zuccheri.

Per questi campioni è stato anche possibile distinguerli parzialmente sulla base del trattamento, ossia della concentrazione della soluzione nutritiva. La figura 8, che riporta PC2 vs PC3, mostra come la seconda componente distingue con buona precisione i campioni. All'aumentare della concentrazione della soluzione nutritiva la seconda componente aumenta di importanza, e tale influenza è dovuta principalmente agli intervalli 2.28 – 2.44 ppm, 3.64 – 3.72 ppm, 4.20 – 4.28 ppm, 2.52 – 2.68 ppm e 2.04 – 2.12 ppm. La caratterizzazione molecolare non è ancora completa, ma si può affermare che il primo intervallo è il derivato di un acido organico, come anche la zona 2.52 – 2.68 ppm e 2.04 – 2.12 ppm, mentre i restanti range sono dovuti agli zuccheri.

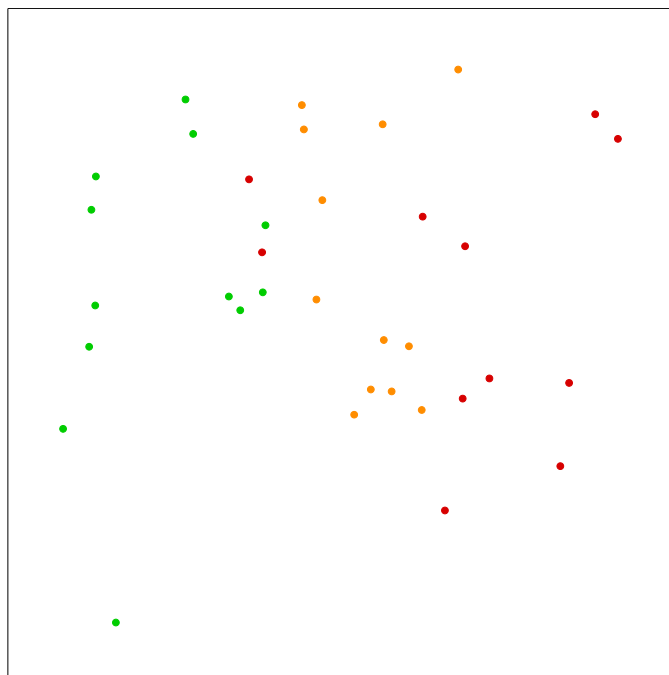


Figura 8. PC2 vs PC3 in base al trattamento applicato (concentrazione della soluzione nutritiva)
(verde 50%, arancione 75% e rosso 100%).

Figure 8. PC2 vs PC3. D₂O dissolved samples compared for treatments (green = 50% thesis; orange= 75 % thesis; red= 100% thesis).

Per i campioni misurati in CDCl₃ è stato osservato che essi possono essere discriminati sulla base del periodo di produzione, e che tale distinzione avviene con l'uso combinato di PC1 vs PC2 (figura 9) e PC3 vs PC4 (figura 10).

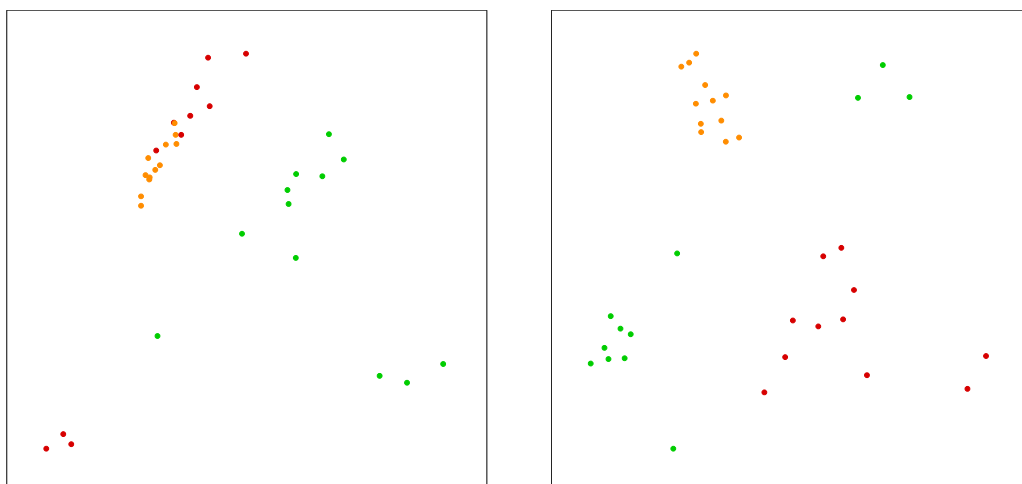


Figura 9 (sinistra) e **10** (destra). PC1 vs. PC2 (figura 9) e PC3 vs PC4 (figura 10) per la discriminazione dei campioni in CDCl_3 in base al periodo di coltivazione (verde = luglio, rosso = maggio e arancione = aprile).

Figures 9 (on the left).and **10** (on the right). CDCl_3 dissolved samples compared for growing time. PC1 vs PC2 (figure 9) and PC3 vs PC4 (figure 10). (green= july; red= may; orange= april).

A differenza dei campioni in D_2O per quelli in CDCl_3 non è possibile tramite PCA distinguere le varietà, come anche il trattamento basato sulla soluzione nutritiva.

Conclusioni

I dati NMR ottenuti da estratti acquosi permettono di discriminare i trattamenti considerati in funzione della concentrazione della soluzione nutritiva e anche del periodo di produzione per quanto riguarda la composizione degli zuccheri. La caratterizzazione molecolare e la quantificazione di queste molecole da cui è scaturita la separazione dei campioni in base ai fattori considerati mediante l'analisi delle componenti principali, dovrà costituire oggetto di ulteriori analisi NMR che prenderanno in esame un numero maggiore di campioni.

4.2. Studio dei cambiamenti morfologici e strutturali del ravanella allevato su suolo, mediante Analisi di Risonanza Magnetica per Immagini (MRI), durante il periodo di post-raccolta.

Introduzione

Collateralmente alla sperimentazione sopra descritta nel corso del secondo anno di dottorato sono stati eseguiti:

⇒ analisi mediante spettroscopia di risonanza magnetica per immagini (IMR) su ipocotili di ravanella coltivato con il sistema tradizionale su suolo;

Lo studio, descritto è scaturito da prove di applicazione della tecnica di risonanza magnetica per immagini per valutazione della qualità della porzione edule di specie orticole e frutticole. La tecnica permette di individuare la morfologia di specie agronomiche tramite l'analisi indici parametrici definiti e tramite questi definirne le modificazioni che si accompagnano all'azione di fattori in fase pre e post- raccolta quali trattamenti agronomici, condizioni pedoclimatiche di allevamento, condizioni di conservazione ecc.

La tecnica è attualmente riconosciuta un valido strumento diagnostico per la discriminazione tra le cultivar e per definire la tracciabilità di una specie agronomica (es kiwi, pesco, nocciolo, ecc).

Le immagini ottenute in questa ricerca sono quindi da considerarsi propedeutiche a future applicazioni nella valutazione della qualità di prodotto ottenuto da differenti tecniche di allevamento ivi incluso quella su senza suolo.

Negli ultimi anni è crescente interesse nei riguardi di tecniche analitiche di supporto alle procedure di controllo della qualità degli alimenti. Queste tecniche consentono infatti di misurare parametri determinanti la qualità e a cui si riconducono le proprietà sensoriali, chimiche meccaniche dell'alimento. Le misurazioni più comuni sono quelle basate sulle proprietà ottiche (William and Norris 1987; Upchurch et al., 1994) quali la risonanza magnetica per immagini (Clark et al., 1997; Faust et al., 1997) i raggi γ (Tollner et al., 1992; Keagy et al., 1996). Un approccio molto diffuso basato sulla risonanza magnetica ad alta

risoluzione per immagini (MRI) consente di risolvere il problema legato alla tracciabilità. L'applicazione più nota si ritrova nel metodo Martin utilizzato nell'analisi del vino e capace di rivelare adulterazioni causate dall'aggiunta di zucchero consentendo altresì l'individuazione della zona di produzione d'origine (Martin et al., 1986, 1988, 1992). Una recente evoluzione riguarda la combinazione dell'NMR con la chemometria usata per l'individuazione di precisi marker utili per la valutazione della qualità e del luogo di origine degli oli di oliva (Sacchi et al., 1998).

Un ulteriore sviluppo della tecnica NMR è la spettroscopia di risonanza magnetica per immagini (MRI) (Lauterbur, 1973, Mansfield, 1982). Comunemente utilizzata nel settore della diagnostica clinico medica, è diventata di recente oggetto di interesse anche nel campo della ricerca agronomica per lo studio della struttura interna dei frutti e dei vegetali (Clark et al., 1997; Barreiro et al., 2000; Fennell and Line 2001; Gonzalez et al., 2001; Kamanetsky et al., 2003; Lammertyn et al., 2003; Thybo et al., 2004)) diventando un prezioso strumento nell'analisi della tracciabilità (Sequi et al., 2004).

La risonanza magnetica ad alta risoluzione per immagini è una tecnica analitica non invasiva molto interessante che consente lo studio della struttura interna dei vegetali nella loro interezza senza manipolazioni invasive preliminari. La tecnica prevede l'analisi di due variabili, mobilità delle molecole d'acqua e tempi di rilassamento dell'acqua in base alle quali è possibile definire concentrazione e distribuzione tipica dell'acqua entro i tessuti e da qui morfologia e strutture corrispondenti. Scopo dello studio condotto è stato quello di esaminare la morfologia interna del ravanella proveniente da coltivazione tradizionale in serra su suolo dopo poche ore dalla raccolta, individuando le differenti strutture tissutali, xilema, floema distribuiti radialmente e parenchima di riserva; sono poi state monitorate le variazioni indotte durante il periodo postraccolta di una settimana, da condizioni di bassa umidità. Le immagini ottenute descrivono una forte perdita d'acqua dai tessuti interni formazioni di cavità e distacco della corteccia periferica, tutti eventi che abbassano la qualità dell'ipocotile. Le immagini ottenute sono da considerare preliminari a studi ulteriori in cui vengono valutate le influenze sui parametri studiati e quindi sulla qualità dalle diverse cultivar e da differenti di sistemi di allevamento ivi incluso il senza suolo.

Materiali e Metodi

Ipocotili di piante di ravanella della cv Suprella, allevate in serra su suolo sono stati raccolti, previa selezione, e conservati a 4 °C in camera refrigerata e ventilata così da mantenere bassa l'umidità dell'ambiente. I campioni selezionati sono stati sottoposti ad analisi spettroscopica di risonanza magnetica per immagini (MRI) sia dopo poche ore dalla raccolta sia dopo una settimana di conservazione nelle condizioni descritte.

Risultati e Discussione

Le immagini ottenute dall'analisi MRI si basano sull'intensità del segnale emesso dal campione quando sottoposto ad un impulso di frequenza che va ad agire sulle molecole d'acqua del campione stesso. Il segnale emesso dal campione è legato sia ai tempi di rilassamento delle molecole d'acqua sia alla loro mobilità, una volta ricevuto l'impulso e sono legati entrambe al contenuto di acqua. I due tipi di segnale sono interpretabili diversamente.

Morfologia e struttura del ravanella

La figura 1 riporta l'immagine MRI di tre proiezioni ortogonali dello stesso campione di ravanella. In queste immagini l'intensità del segnale emesso dal campione nelle due differenti aree, è proporzionale solo al contenuto di molecole di acqua ed è correlato al loro tempo di rilassamento. Pertanto le zone più scure contengono basse quantità di acqua, mentre le aree più chiare ne contengono maggiori quantità. Le immagini della figura 1 mostrano che la concentrazione delle molecole d'acqua è alquanto la stessa entro la zona interna del campione. Al contrario una significativa differenza si può osservare a livello della corteccia esterna dove è presente una corona sferica contenente una consistente quantità d'acqua.

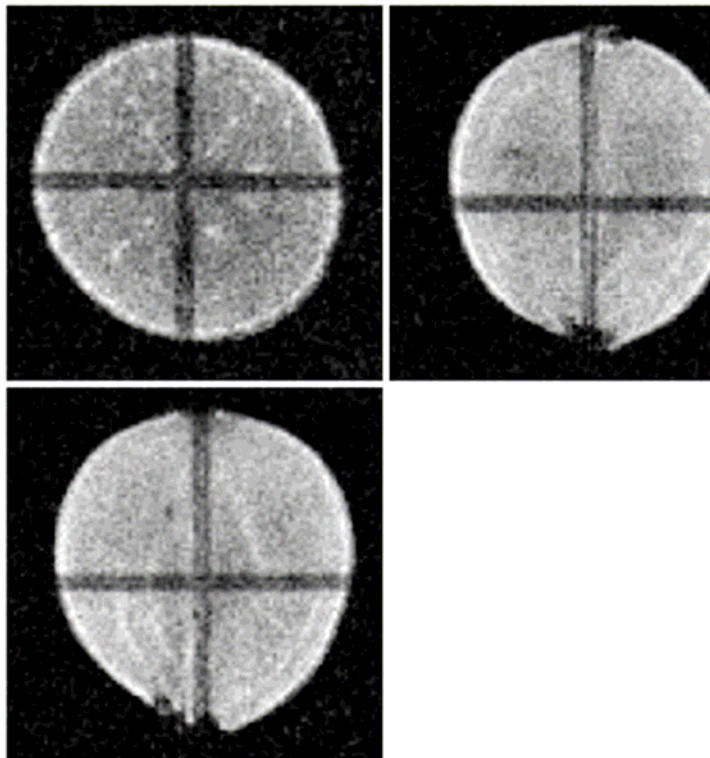


FIGURA 1. RISONANZA MAGNETICA PER IMMAGINI DI RAVANELLO, OTTENUTE DA UN ESPERIMENTO GEFI. Le immagini viste in senso orario partendo dal pannello in alto a sinistra corrispondono rispettivamente alle proiezioni assiale, sagittale e coronale

FIGURE 1. ORTHOGONAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING REPRESENTATIONS OF RADISH OBTAINED FROM THE GEFI EXPERIMENT

The images represent, clockwise from the top left panel, the axial, sagittal and coronal projection, respectively.

La figura 2 riporta un immagine MRI di una proiezione trasversale di un ravanello in cui l'intensità del segnale nelle differenti aree è direttamente proporzionale alla mobilità delle molecole d'acqua. Quindi le zone scure sono caratterizzate da molecole d'acqua a lenta mobilità. Nella figura 2 si possono distinguere:

- 1) Una struttura parenchimata con distribuzione radiale e discontinua corrispondente al sistema dei fasci cribro-vascolari, attivo nel trasporto di assimilati dalle foglie verso le zone esterne dell'ipocotile (floema) e di acqua ed elementi nutritivi dalle radici alle foglie (xilema);
- 2) la cortex o periderma esterno avente l'aspetto di una corona sferica con molecole d'acqua a ridotta mobilità;

- 3) al centro si osserva un'area con limitata quantità d'acqua con al suo interno una zona di discontinuità. La zona descritta è il midollo ovvero la regione centrale di tessuto parenchimoso che nel corso del tempo subisce una perdita di acqua formando così una cavità;
- 4) la quarta area, avente molecole d'acqua con una mobilità media e una configurazione radiale, si stende dal midollo fino alla cortex alternandosi al sistema cribro-vascolare. Questa area è formata essenzialmente da abbondante parenchima e costituisce la principale zona di riserva di acqua ed elementi nutritivi.

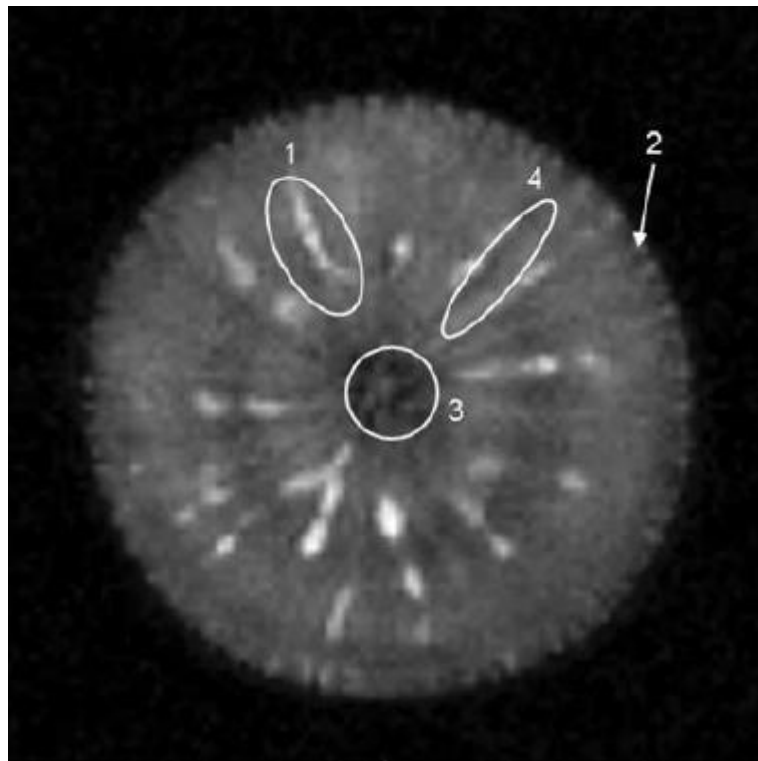


FIGURA 2 VISUALIZZAZIONE MULTI-SLICE-MULTI-ECHO MAGNETIC RESONANCE IMAGING AXIAL DI RAVANELLO

Le immagini mostrano il sistema di fasci cribro-vascolari (1), la corteccia secondaria esterna scura (2), il midollo (3), e il tessuto distribuito radialmente contenente il parenchima (4).

FIGURE. 2. MULTI-SLICE-MULTI-ECHO MAGNETIC RESONANCE IMAGING AXIAL VIEW OF RADISH.

The images show the collateral sieve-vascular bundle system (1), the dark external secondary cortex (2), the pith (3), and the radial tissue containing a large quantity of parenchyma (4).

Una visione completa della struttura interna è riportata in figura 3 in cui vengono rappresentate quattro foto, ognuna ruotata di 90° rispetto alla precedente, della ricostruzione tridimensionale.

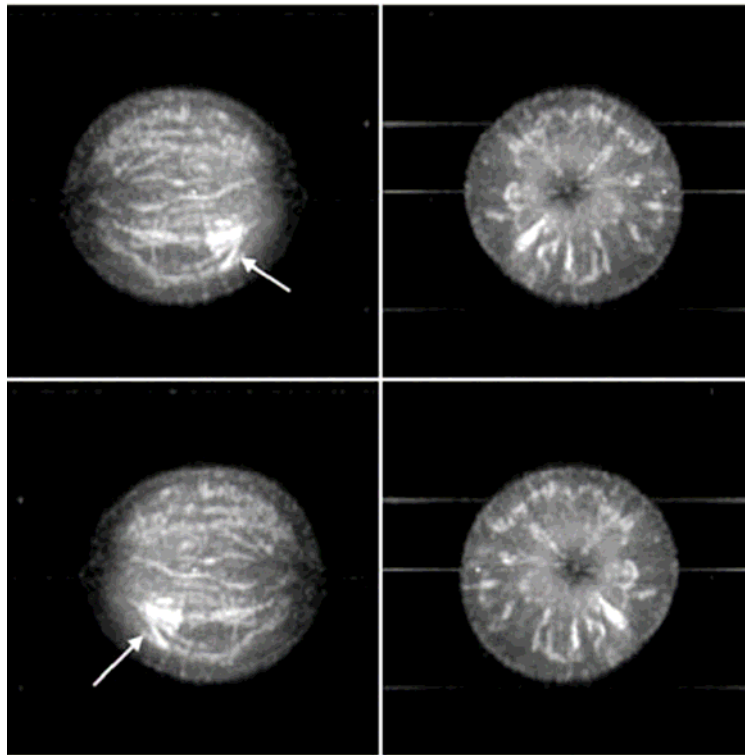


FIGURA 3. PROIEZIONE TRIDIMENSIONALE

Ognuno dei quattro pannelli rappresenta una rotazione di 90 gradi rispetto alla precedente. La freccia indica cavità contenente una grossa quantità di acqua.

FIGURE 3. THREE-DIMENSIONAL MAXIMUM INTENSITY PROJECTION RECONSTRUCTION OF THE RAPID ACQUISITION WITH RELAXATION ENHANCEMENT EXPERIMENT

The four panels display a shot shifted 90° with respect to the previous one. A cavity containing a large amount of water is indicated

Effetto della disidratazione

La figura 4 riporta quattro immagini MRI di due campioni misurati immediatamente dopo la raccolta (pannelli di sinistra) e successivamente dopo una settimana (pannelli a destra).

I risultati ottenuti mostrano che la deidratazione causa drastici cambiamenti strutturali come la formazione di cavità, evidenti principalmente sul campione riportato nella parte superiore della figura 4, e la rottura con distacco della cortex

esterna. E' inoltre evidente una marcata riduzione del volume complessivo a causa della disidratazione.

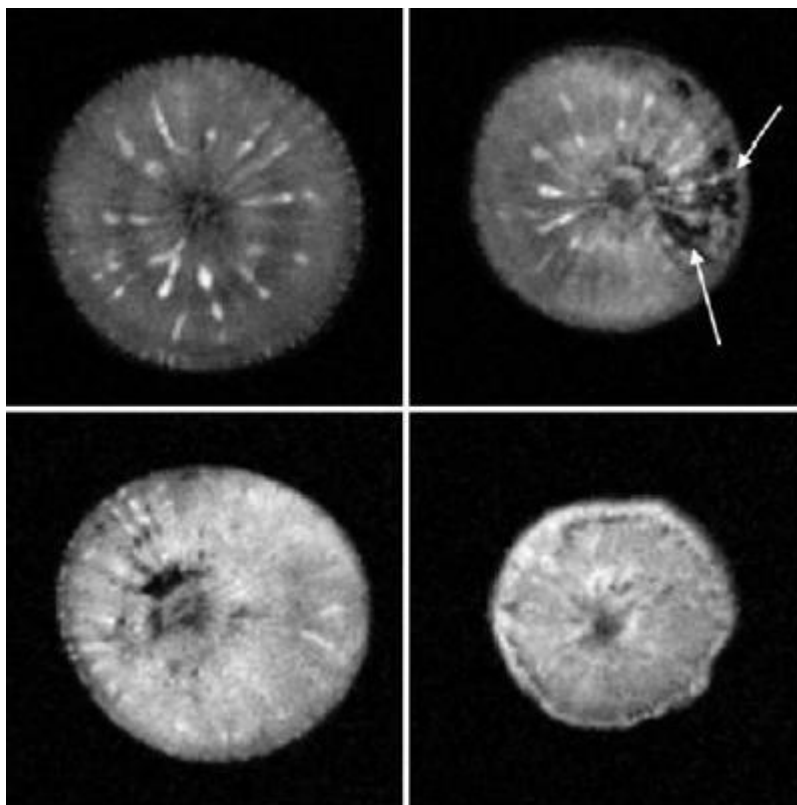


FIGURA 4. IMMAGINI MRI DI DUE RAVANELLI RIPRESE A POCHE ORE DALLA RACCOLTA (IMMAGINI A SINISTRA), E DOPO UNA SETTIMANA (IMMAGINI A DESTRA).

Le frecce indicano le zone ove si sono verificate le maggiori variazioni morfologiche.

FIGURE 4. MULTI-SLICE-MULTI-ECHO MAGNETIC RESOURCE IMAGING REPRESENTATIONS OF TWO RADISH SAMPLES PERFORMED A FEW HOURS AFTER THE HARVEST (LEFT IMAGES), AND ONE WEEK LATER (RIGHT IMAGES) The zones where the variations are significant are indicated.

Conclusioni

Lo studio di risonanza magnetica per immagini (MRI) ha reso possibile la struttura interna del ravanella, evidenziando chiaramente il sistema cribro-vascolare e altri dettagli strutturali interni. In aggiunta è stato monitorato l'effetto sull'ipocotile di inadeguate condizioni di conservazione, simili a quelle che si possono instaurare nei centri di vendita dove il prodotto viene lasciato senza adeguato confezionamento con film protettivo e in condizioni di bassa umidità, di circa il 30% (Massantini e Mencarelli, 2003), tutti presupposti responsabili di

severi cambiamenti morfologici del prodotto che incidono in senso negativo sulla qualità finale. Le immagini MRI ottenute dall'analisi di ipocotili di ravanella (*Raphanus sativus* L.) a poche ore dalla raccolta hanno mostrato a livello macroscopico, la morfologia interna ed esterna e la relativa distribuzione spaziale dei tessuti costitutivi. Gli stessi campioni, conservati a 4°C e in condizioni di bassa umidità, osservati a distanza di una settimana hanno mostrato modificazioni anatomiche legate al periodo post-raccolta e conseguentemente dei cambiamenti nell'organizzazione dei tessuti della porzione edule. Al fine di impedire la commercializzazione di prodotto di bassa qualità, pur se non visibilmente individuabile, l'analisi MRI può costituire un valido strumento di valutazione di qualità del ravanella, per quanto attiene il grado di freschezza del prodotto e il corretto metodo per la sua conservazione fino all'approvvigionamento da parte del consumatore.

Le immagini ottenute sono da considerare preliminari a studi ulteriori in cui vengono valutate le influenze sui parametri studiati e quindi sulla qualità dalle diverse cultivar e da differenti sistemi di allevamento ivi incluso il senza suolo.

CAPITOLO 5. METODI ANALITICI

5.1 Macro e micro elementi

Il contenuto di macro e microelementi è stato determinato mediante mineralizzazione del campione tramite incenerimento mediante combustione, per ottenere l'ossidazione completa della matrice organica, e successiva analisi spettroscopica (Yash P. karla. 1998). 500 ± 2 mg di campione precedentemente essiccato e triturato erano messi ad incenerire in muffola a 400°C per circa 24 ore. La cenere ottenuta è stata dissolta in acido cloridrico diluito 1:5 e previa filtrazione portata a volume finale di 50 ml con acqua bidistillata. Sulla soluzione acida così ottenuta (HCl 1:25 finale) è stata determinata la concentrazione degli elementi Ca, K, Na, Mg, P, Cu, Fe, Zn, mediante spettroscopia in emissione al plasma (ICP) con spettrometro ICP al plasma Modello IRIS Thermo Jarrel ash double W di tipo simultaneo. Ogni campione esaminato è stato preparato in tre repliche

5.2 Azoto totale : metodo Kjeldahl.

Generalità

Il metodo descritto è quello Kjeldahl adattato per determinazioni su scala semimicro.

La mineralizzazione viene effettuata con acido solforico concentrato bollente, previa aggiunta di sostanze che facilitano l'ossidazione della sostanza organica e precisamente solfato di potassio, che eleva la temperatura di ebollizione dell'acido, e una miscela di selenio e solfato di rame in funzione di catalizzatore. Dopo la mineralizzazione, la soluzione contenente l'azoto come ione ammonico è resa alcalina e quindi sottoposta a distillazione. L'ammoniaca che distilla è raccolta quantitativamente su una soluzione diluita di acido borico e titolata con acido solforico. Alternativamente l'azoto ammoniacale può essere dosato direttamente sul mineralizzatore mediante elettrodo specifico.

Di seguito verrà descritto il solo dosaggio mediante distillazione e successiva titolazione ossia la metodologia applicata in questa ricerca per la determinazione dell'azoto in ipocitili di ravanello.

Apparecchiature e reattivi

- Pallone Kjeldhal da 300ml, fornello per palloni Kjeldhal con collettore di fumi e dispositivo per la loro eliminazione, apparecchio di Parnas Wagner per distillazione in corrente di vapore oppure apparecchi oggi in commercio consistenti in due unità: 1) di gestore a 4-8 posti completo di tubi in pirex per la mineralizzazione, collegati a un sistema di aspirazione e di forno a raggi infrarossi; 2) apparecchio di distillazione semiautomatico o automatico.
- Acido solforico concentrato (H_2SO_4 $d=1,84$).
- Sodio idrato concentrato (NaOH Soluz. Al 40%)
- Catalizzatore. In mortaio di porcellana si macinano 100 parti di K_2SO_4 con 10 parti di CuSO_4 e 5 parti di SeO_2 (si trovano in commercio miscele già preparate)
- acido solforico (H_2SO_4) soluzione N/28; 37,5 ml di soluzione 0,1 N esatta prelevati in buretta, si portano a 100ml in matraccio tarato.
- Indicatore: in 100 ml di alcool al 96% si sciolgono 0.1 g di rosso metile e 0,2 g di verde bromo cresolo.
- Acido borico (H_3BO_3) soluzione all'1%.
- Sodio idrato (NaOH) soluzione 2,5 N (100 g /l).

Procedura

- Mineralizzazione

La quantità di campione è scelta in relazione all'apparecchiatura disponibile e varia da 500 mg a 2000 mg. L'acido solforico viene aggiunto nella proporzione di 10ml/g di campione e il catalizzatore nelle quantità di 0,2 g/ml di H_2SO_4 impiegato.

Il campione, posto nel pallone Kjeldahl o nel tubo del di gestore, viene addizionato della quantità opportuna di acido e di catalizzatore e portato a ebollizione. La mineralizzazione viene condotta fino a che il liquido si limpidi e prosegue ancora per 1 ora. Senza attendere il completo raffreddamento, si procederà quindi alla distillazione.

Dosaggio dell'azoto ammoniacale per distillazione e titolazione

La distillazione viene condotta in corrente di vapore sul digerito previamente diluito 1:1 e quindi alcalinizzato con NaOH al 40% (circa 3ml di NaOH /ml di H_2SO_4 impiegato) si distilla per circa 5 minuti raccogliendo il distillato su 10 ml di soluzione di acido borico all'1% contenente 2 gocce di indicatore. Dopo aver

controllato che tutta l'ammoniaca sia distillata, la soluzione raccolta è titolata con acido solforico N/28).

Calcolo

$$N_{\text{tot}} = 0.5 \times A \times 100/P$$

0,5 = mg di N corrispondenti a 1 ml di H₂SO₄ N/28.

A= ml di H₂SO₄ N/28 consumati nella titolazione.

P = peso del campione.

5.3 Azoto totale: metodo della combustione

Campioni di foglie ed ipocotili sono stati preventivamente essiccati a 80 °C e ridotti finemente in polvere mediante sistema. 100 mg di campione polverizzato erano sottoposti a processo di combustione in presenza di ossigeno in un sistema Nitrogen Determinator.

5.4 Nitrati

Il contenuto di nitrati è stato determinato mediante il metodo colorimetrico Cataldo (Cataldo et al., 1975). Il metodo prevede una fase di estrazione e una successiva determinazione allo spettrofotometro.

Estrazione

Campioni di foglie e ipocotili sono stati preventivamente liofilizzati con sistema di liofilizzazione LIO 5P (Ditta Cinquepascal) ad una temperatura di -44° C ed un vuoto generato mediante depressione (0 atm).

100 mg di campione liofilizzato sono stati sospesi in 10 ml di acqua demonizzata. La sospensione era quindi incubata per un'ora a 45°C. Dopo miscelazione tramite mixer, i campioni sono stati centrifugati a 5000 giri x 15 minuti al fine di sedimentare i tessuti residui. Il supernatante ottenuto è stato decantato e recuperato per l'analisi.

Determinazione dei nitrati mediante acido salicilico

Ogni estratto è stato preparato in tre repliche. Tre aliquote di ciascuna replica del volume di 0,2 ml sono state pipettate in un matraccio di 50 ml e miscelate ognuna con 0,8 ml di acido salicilico al 5% in soluzione concentrata di acido solforico (SA-H₂ SO₄). Dopo 20' di incubazione temperatura ambiente ai campioni sono stati aggiunti lentamente 19 ml di 2N NaOH al fine di portare il pH al di sopra di

12. I campioni sono stati quindi lasciati raffreddare a temperatura ambiente con successiva determinazione dell'assorbanza a 412 nm con spettrofotometro BEKMAN DU 530 Life Science UV /vis with single cell module, in presenza di un bianco costituito da 0,2 ml di H₂O distillata e gli altri reagenti sopra descritti. Le letture sono state eseguite anche su campioni di standards a concentrazione nota, previamente preparati con la stessa procedura contenenti da 1 a 60 µgNO₃-N. I valori di assorbanza corrispondenti sono stati utilizzati per la definizione dell'equazione della retta di concentrazione.

5.5 Attività antiossidante e polifenoli totali

Preparazione dei campioni

500 mg di ciascun campione liofilizzato sono stati estratti con 2 x 10ml di metanolo 80% (acquoso) ad omogeneizzato usando un Ultra Turrax mixer per 1 minuto. I campioni sono stati poi centrifugati a 300 g per 10'. I due volumi di estratti (supernatanti) venivano uniti e il tutto essiccato mediante rotavapor. Il residuo solido risultante è stato pesato e quindi diluito 1:100 (peso:volume) con acqua distillata. Sull'estratto così allestito è stata determinata l'attività antiossidante totale e il contenuto di polifenoli totali. Ogni estratto è stato allestito in tre repliche.

5.5.1 Attività antiossidante

L'attività antiossidante è stata determinata secondo il metodo Hatano et al. (1988) basato sulla capacità dell'estratto del campione di ridurre il radicale DPPH convertendolo dalla forma ossidata di colore viola a quella ridotta di colore giallo: 1 ml del radicale 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH) 10⁻⁴M è stato messo a reagire con 4ml di diverse concentrazioni del campione ovvero 50, 100, 250 e 500 µg/ml. Dopo incubazione per 30' a T. ambiente su 1ml di ciascuna miscela è stata letta l'assorbanza allo spettrofotometro a 517 nm (λ assorbimento DPPH stato ossidato). I punti di concentrazione prescelti hanno permesso di costruire una curva di assorbanza con cui si è risaliti alla concentrazione del campione a cui corrispondeva la massima capacità di riduzione del radicale DPPH e quindi la più bassa concentrazione della forma ossidata restante dopo la reazione. Per il calcolo dell'attività antiossidante è stata usata la seguente relazione:

% inib.= $\frac{\text{assorbanza (DPPH}\cdot\text{)} - \text{assorbanza letta}}{\text{assorbanza (DPPH}\cdot\text{)}} \times 100$.

5.5.2 Polifenoli totali

L'estratto metanologico acquoso (diluizione 1:100) è stato preventivamente purificato tramite cromatografia preparativa SPE (Solid- phase extraction) al fine di rimuovere le molecole di zuccheri, la vitamina C e altre molecole idrosolubili che interferiscono nella reazione test di determinazione dei polifenoli e imporrebbero altrimenti l'applicazione di una correzione al risultato finale.

La quantità di polifenoli totali è stata determinata attraverso la reazione del determinazional saggio Folin-Ciocalteu, basato sulla formazione di un complesso molibdeno-tungsteno di colore blu (Singleton e Rossi; 1965). 0,2 ml di estratto purificato è stato fatto reagire, con 1 ml di una soluzione di reattivo di Folin-Ciocalteu(1:10), e dopo 5' con 0,8 ml di una soluzione di Na_2CO_3 al 7,5%. L'assorbanza è stata letta a, 765 nm, dopo 2h a temperatura ambiente. Il contenuto totale in polifenoli è stato espresso in equivalenti di acido gallico (GAE) in milligrammi per grammo di materiale secco, in accordo con la curva standard precedentemente preparata entro il range di concentrazione 0÷2,115 $\mu\text{g/ml}$.

5.6 Antocianine totali

Reattivi e materiali. Acqua bidistillata, Metanolo 80%, Acido trifluoroacetico, soluzione 0,025M KCl a pH 1.0, soluzione tampone CH_3COONa 0,4 M pH 4.5 Spettrofotometro DU 530 Life Science UV/Vis con modulo per la lettura a cella singola calibrato a λ di 700nm e 520 nm almeno 30 minuti prima dell'inizio delle letture.

100 mg di materiale vegetale liofilizzato e polverizzato (corrispondenti nella presente ricerca a ipocotili di ravanella tonda) sono stati estratti con 2 ml di solvente di estrazione costituito da metanolo 80% (acq) con 1% di acido trifluoroacetico (TFA). (metOH/H₂O/TFA 80:9:1 v/v/v). La miscela di estrazione è stata quindi sonicata a temperatura ambiente per 20 minuti. L'estratto liquido è stato poi recuperato. L'operazione è stata ripetuta con 1 ml di solvente di estrazione. I due estratti sono stati riuniti e su di essi è stata effettuata la determinazione delle antocianine totali. Il campione è stato diluito con due

soluzioni tampone, rispettivamente cloruro di potassio 0,025 M a pH 1.0 e sodio acetato 0,4 M a pH 4.5 secondo un fattore opportunamente determinato con un campione di prova nella misura in cui il valore di assorbimento allo spettrofotometro non fosse superiore a 1,2 *. Al fine di non superare la capacità del tampone, il campione non ha dovuto eccedere più del 20% del volume totale di lettura. Si è quindi attribuito lo zero allo spettrofotometro con un campione di sola acqua distillata ad entrambe le lunghezze d'onda utilizzate (λ max visibile ossia 520 nm e 700 nm). Sono state preparate due diluizioni del campione con il tampone potassio cloruro a pH 1.0 e un'altra con il tampone sodio acetato a pH 4.5 secondo un fattore di diluizione opportunamente scelto. Le due diluizioni quindi sono state messe ad equilibrare per 15' prima della lettura allo spettrofotometro. E' stata misurata l'assorbimento delle due diluizioni al λ vis -max di 520 nm e a 700 nm (usata per la correzione di eventuale torpidità del campione) a fronte di un bianco letto con acqua distillata. Tutte le letture sono state eseguite tra i 15' e 1 ora dopo la preparazione della diluizione del campione, poiché tempi di attesa più lunghi tendono ad aumentare i valori di lettura determinati. L'assorbimento del campione (A) è stata calcolata secondo la formula:

$$A = (A_{\lambda \text{ max (520 nm)}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH 1.0}} - (A_{\lambda \text{ max (520 nm)}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH 4.5}} \rightarrow A = A_{\text{pH 1.0}} - A_{\text{pH 4.5}}$$

La concentrazione delle antocianine monomeriche nel campione originale è stata calcolata applicando la seguente formula:

$$\text{Antocianine totali [mg/litro]} = (A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times L).$$

MW= peso molecolare delle antocianine predominante nel campione (per il ravanello è la pelargonidina);

DF= fattore di diluizione del campione di partenza;

ϵ = coefficiente di estinzione o di assorbività molare dell'antocianina caratteristica.

L = lunghezza della cella di lettura, di solito 1 cm.

Nota: Se il ϵ del maggior pigmento del campione non è noto o se la composizione in antocianine nel campione non è nota, va calcolato il contenuto in pigmento come cianidina- 3 – glucoside con MW= 449,2 e ϵ = 26,900.

La determinazione del contenuto di antocianine totali nella presente ricerca è stata effettuata mediante il metodo spettrofotometrico pH- differenziale (Giusti and Wrolstad, 2001) basato sulla conversione strutturale reversibile delle antocianine dalla forma ossonio prevalente a pH 1.0 alla forma emichetale prevalente a pH 4.5. I cambiamenti strutturali ai due diversi pH si accompagnano anche ad una netta differenza nello spettro di assorbanza alla λ_{max} nel visibile di 520nm tipico delle antocianine. Il metodo basato su questa reazione permette un'accurata e rapida misura delle antocianine totali anche in presenza di pigmenti degradati polimerizzati e altri composti interferenti. Il contenuto di pigmento calcolato viene espresso come pelargonidina 3-glucoside, caratteristico pigmento) del ravanello con coefficiente di estinzione di $31.600 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ e peso molecolare di 433 g/mol^{-1} .

NOTE: * L'appropriato fattore di diluizione va determinato diluendo il campione con il tampone a pH 1.0 0,0 25 M di cloruro di potassio fino al punto in cui l'assorbanza del campione alla λ_{max} nel visibile rientri nel range lineare dello spettrofotometro. L'assorbanza di solito deve essere minore di 1.2. Il fattore di diluizione deriva dal rapporto tra il volume finale e quello iniziale del campione

5.7 Glucosinolati

I glucosinolati sono stati determinati applicando il metodo ufficiale ISO 9167-1 1992 , espresso in mg/100g di peso fresco (Off. J. Eur. Communities, 1990)

Reattivi. Acqua bidistillata, metanolo 70% in acqua, acetonitrile per HPLC (Beaker), Aryl Sulfatase type -H1 from Helixpomatia (Sigma).

Preparazione del campione.

200 mg di materiale liofilizzato sono stati estratti con 4ml con metanolo 70% e messi per 1 minuto in bagnetto a 75°C e quindi sottoposti ad ultrasonicazione a 80°C per 15 minuti. Alla miscela di estrazione sono stati aggiunti 2 ml di acetato di bario 0,4 M a pH 4.0, con successiva centrifugazione a 17700 giri. Dopo un

secondo trattamento del residuo i due sovranatanti sono stati uniti e portati ad un volume finale di 10 ml con metanolo 70%.

2 ml di estratto sono stati utilizzati per l'isolamento dei desulfoglucosinolati mediante cromatografia a scambio anionico previa digestione enzimatica. La colonna cromatografica utilizzata era del tipo scambiatori di anioni (SAX 500 mg) per estrazione in fase solida previamente condizionata con 2ml di metanolo 70%. Quindi 2ml dell'estratto sono stati aggiunti alla colonna lavata successivamente con 4 ml di acqua bidistillata. Dopo aver chiuso la colonna sono stati caricati sulla stessa 100 microlitri di soluzione di arylsulfatase type H-1 from Heilx pomatia (Sigma). Dopo un periodo di incubazione di 12 ore i desulfoglucosinolati sono stati eluiti con 1,5 ml di acqua bidistillata e successivamente filtrato con un filtro 0,45 micron in un contenitore vials per analisi HPLC.

Separazione e quantificazione mediante HPLC

L'analisi dei desulfoglucosinolati è stata effettuata tramite sistema HPLC 1200 Agilent provvisto di modulo di autoiniettore e autocampionatore, pompa binaria SL, e sistema detector UV/Vis Diode Array and Multiple length DAD modello G1315C/G1365C, su di una colonna Spherisorb ODS2 (dimensioni 5 micrometri 250mm x 4 mm), velocità di flusso pari a 1,3 ml/minuto, volume di iniezione pari a 10 microlitri. Lunghezza d'onda λ di lettura = 229nm. Il gradiente di eluizione utilizzato era :100% acqua da 1 a 2'. Acetonitrile 0-20% da 2' a 34'. Acetonitrile 20% da 34 a 40'. Acetonitrile 20%-100% da 40'a 50'. Acetonitrile 100%-0% da 51' a 54' (condizione di partenza per una successiva corsa cromatografica). Il contenuto di glucosinolato di ogni campione è stato calcolato utilizzando sinigrina quale standard esterno e il fattore di risposta di ogni composto relativo alla sinigrina. Le analisi sono state eseguite in tre repliche per ciascun trattamento.

CONCLUSIONI FINALI

L'allevamento del ravanella mediante float system alla luce dei dati raccolti nei tre anni di sperimentazione risulta applicabile nella pratica agronomica. La densità di 720 piante/m² può fornire buoni risultati produttivi con rese commerciabili per la IV gamma e risultate più elevate rispetto alla coltivazione tradizionale su suolo che prevede densità di 300-400 piante/m² (Salerno et al., 2004). La valutazione della concentrazione ottimale della soluzione nutritiva suggerisce l'utilizzo di una concentrazione ridotta al 75% durante la stagione primaverile e una ridotta al 50% durante un ciclo estivo, al fine dell'ottenimento di una buona produzione con caratteristiche qualitative rispondenti alla commerciabilità anche come prodotto per il mercato allo stato fresco. La riduzione delle rese registrata nella stagione estiva per tutti i trattamenti va considerata in un programmazione di coltivazione. Esse, seppur drasticamente ridotte, rimangono comunque più elevate rispetto a quelle conseguite coltivazione tradizionale (Salerno et al., 2006). La qualità del prodotto corrispondente, basso contenuto di nitrati buon livello di minerali, livello conforme ai valori standard di antocianine e di glucosinolati, può essere tenuto in conto in una programma di gestione dei cicli di produzione, considerando la coltura su float system intercalata ad altre allevate con tecniche di allevamento tradizionali. Il buon livello di glucosinolati negli ipocotili della raccolta estiva permette l'ottenimento di una fonte di questi composti bioattivi, in una stagione dell'anno in cui il mercato, a causa delle temperature elevate vede ridotta la presenza di altre specie crucifere. Tra i due genotipi considerati la cultivar Suprella ha dato le migliori risposte produttive e qualitative. Il sistema di allevamento è risultato infine di semplice gestione trattandosi di cicli di allevamento brevi e con reintegri della soluzione non molto frequenti. Durante il ciclo estivo, il sistema richiede una maggiore attenzione gestionale al fine di compensare le perdite di soluzione dovuta all'elevata evapotraspirazione. La brevità dei cicli produttivi permette di eseguirne diversi in successione, è possibile inoltre riutilizzare gli stessi pannelli di supporto. Il prodotto ottenuto riporta caratteristiche qualitative conformi agli standard e ben si presta alla commercializzazione per la IV gamma anche grazie alla variabilità di calibro degli ipocotili che, se per il mercato allo stato fresco costituisce un indice sfavorevole,

per il settore della IV gamma può risultare utile nella standardizzazione del peso delle confezioni.

BIBLIOGRAFIA

1. Barreiro P., Ortiz C., Ruiz-Altisent M., Ruiz-Cabello J., Fernandez-Valle M.E., Recasens I. and Asensio M. 2000. Mealiness assessment in apples and peaches using MRI techniques. *Magn. Reson. Imaging* 18, 1175-1181.
2. Basu T. K., Temple N. J. , Garg M. L. 1999. Antioxidants in human health and disease. CABI Publishing, Wallingford, UK
3. Bertrand Matthaus and Heinrich Luftmann. 2000. Glucosinolates in Members of the Family Brassicaceae: Separation and Identification By LC/ESI-MS .*Agric. Food Chem.*, 48, 2234-2239.
4. Bgaards JJ, Verhagen H, Willems MI, van Poppel G, vanBladeren PJ. 1994. Consumption of BRussels sprout results in elevated alpha-class glutathione S-transferase levels in human blood plasma. *Carcinogenesis* 15: 1073-1075.
5. Bonasia A., Gonnella M., Elia A., Santamaria P., 2000. Produzione e qualità di cultivar di ravanella allevate senza suolo. V Giornate Scientifiche S.O.I, Sirmione, 213-214.
6. Cataldo D.A: Haroon M.; Schrader L.E. and Youngs V.L. (1975). Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by titration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 6: 71-80.
7. Chiao JW, Chung Fl; Kancherla R., Ahmed T, Mittelman A, Conaway CC. 2002. Sulphoraphane and ist metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancel cells. *International Journal of Oncology* , 20 : 631-636.
8. Ciska E., MartyniaK-Przybyszewska B. and Kozłowska H., 2000. Content of Glucosinolates for Two Years under Different Climatic Conditions. *Agric. Food Chem.*,2862-2867.
9. Clark C.J., Hockings P.D., Joyce D.C. and Mazucco R.A. 1997. Application of magnetic resonance imaging to pre and post-harvest studies of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Tec.* 11, 1-21.

10. D'Anna F., Miceli A., Vetrano F., 2003. First results of Floating System Cultivation of *Eruca Sativa* L. ISHS Acta Horticulturae 609:361-363.
11. D'Anna F., Miceli A., Vetrano F., 2003. First Results on Yield and quality Response of Basil (*Ocimum basilicum*) ISHS Acta Horticulturae 609:377-379.
12. Datano T.; Kagawa H.; Yasuhara T.; Okuda T. 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.*, 2090-2097.
13. Dellacecca V. and Calegari B. 2001. Esperienze su alcune ortive allevate in floating system. *Italus Hortus* 8 (6): 74-80.
14. Elia A., Santamaria P., Gonnella M., Caponio T., Bianco V. V. 2001. Allevamento di specie da foglia da destinare al mercato fresco e alla quarta gamma con il sistema dei pannelli galleggianti. *Italus Hortus* 8 (6): 69-74.
15. Fahey Jed W, Zhang Yuesheng, Talalay Paul. 1997. Broccoli sprouts: An exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol 94, pp. 10367 -10372.
16. Faust M., Wang P.C. and Maas J. 1997 The use of magnetic resonance imaging in plant science. *Hortic. Rev.* 20, 225-266.
17. Fennell A. and Line M.J. 2001. Identifying differential tissue response in grape (*Vitis Riparia*) during induction of endodormancy using nuclear magnetic resonance imaging. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 126, 681-688.
18. Fontana E., Nicola S., Hoeberechts J., Saglietti D., Piovano G., 2004. Managing traditional and soilless culture system to produce corn salad (*Valerianella Olitoria*) with low nitrate content and lasting postharvest shelf-life. ISHS Acta Horticulturae 659: 763-768.
19. Ghiselli A., D'Amicis A., Giocosa A. 1997. The antioxidant potential of mediterranean diet. *Eur. J. Cancer. Prev.* 6 (suppl:I) , S15-S19.

20. Giusti M.M.; Rodriguez- Saona L.E.; Baggett J.R.; Reed G.L.; Durst R. W.; Wrolstad R.E. 1998. Anthocyanins Pigment Composition of Red Radish Cultivars as Potential Food Colorants. *Journal of Food Science*, 63, N°2; 219-224.
21. Giusti M.M.; Wrolstad R. E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their application in food systems. *Biochem. Eng. J.*, 14, 217-225.
22. Giusti M.M., Wrolstad R.E. Anthocyanins Characterization and measurements with UV_ visible spectroscopy. In *Current Protocols In Food Analytical Chemistry*; Wrolstad R. E. Ed.; Wiley: New York , 2001.
23. Gonzalez J.J., Valle R.C., Bobroff S., Viasi W.V., Mitcham E.J. and McCarthy M.J. 2001. Detection and monitoring of internal browning development in “fuji” apples using MRI. *Postharvest Biol.- Tec.* 22, 179-188.
24. Goudriaan J., Van Laar H.H., 1994 - *Modelling potential crop growth processes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
25. Hedges LJ & Lister CE. 2005. Nutritional attribute of salads vegetables Crop & Food Research Confidential Report N°1473 August 2005: 18-19.
26. Hoeberechts J.; Nicola S., Fontana D., Saglietti G.; 2004. Medium, cultivar and plant density influenced production and postharvest shelf-life of *Raphanus Sativus* grown in a soilless culture system. *ISHS Acta Horticulturae* 659: 791-798.
27. Hou D. X. 2003. Potential mechanism of cancer chemoprevention by anthocyanins. *Curr.Mol. Med.*, 3, 149-159.
28. Hynes JD, McLellan LI. 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical research*, 31: 273-300.
29. Incrocci L., Lorenzini O., Malorgio F., Paradossi A., Tognoni F., 2001. Valutazione quanti-qualitativa della produzione di rucola (*Eruca Vescicaria L. Cav.*) e basilico (*Ocimum basilicum L.*) ottenuta in suolo

- e floating system utilizzando acque irrigue con differenti contenuti di NaCl. *Italus Hortus* 8 (6): 92-96.
30. Jao D., Conaway C.C., Wang M.H., Yang C.S., Koehl W., Chung F.L. 1996. Inhibition of N-nitrosodimethylamine demethylase in rat and human live microsomes by isothiocyanates and their glutathione, L-cysteine, and N-acetyl-L-cysteine conjugates. *Chemical Research and Toxicology*, 9: 932-938.
 31. Kahkonen M.P., Heinonen M., 2003. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J. Agric. Food Chem*, 51, 628-633.
 32. Kamenetsky R., Zemah H., Ranwala A.P., Vergeldt F., Ranwale N.K., Miller W.B., Vanas H and Bendel P. 2003. Water status and carbohydrate pools in tulip bulbs during dormancy release. *New Phytol.* 158, 109-118.
 33. Kanwar, J.S..1993. Influence of spacing and time of sowing on growth and seed yield of radish (*Raphanus sativus*). *Indian Journal of Agricultural Sciences* 63(6): 351-353
 34. Keagy P.M., Parvin B and Schatzki T.F. 1996. Machine recognition of navel orange worm damage in X-ray images of pistachio nuts. *Food Sci. Technol.-Leb.* 29, 140-145.
 35. Kong J. M. ; Chia L. S.; Goh N.K.; Chia T.F.; Brouillard R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923-933.
 36. La Malfa G., 1992. La qualità degli ortaggi di serra. *Colture Protette* 20 (10): 43-49.
 37. La Malfa G., 1996. La qualità degli ortaggi nella coltivazione fuori suolo. *Tecnica Agricola* 48 (4): 35-46.
 38. Lammertyn J., Dresselaers T., Van Hecke P., Jancsok P., Wevers, M. and Nicolai B.M. 2003. Analysis of the time course of core breakdown in „conference“ pears by means of MRI and X-ray Ct. *Postharvest Biol. Tec.* 29, 19-28.
 39. Lauterbur P.C. 1973. Image formation by induced local interaction: example employing NMR. *Nature* 242, 190-191.

40. Mairapetyan S.K., 1985. Soilless culture in Armenia. *Soilless Culture* 1 (1): 73-83.
41. Mansfield P. 1982. *NMR Imaging in Biomedicine*. Academic Press, London, U.K.
42. Martin G.J., Martin M.L. and Wang L.B. 1992. Site-specific isotope fractionation of hydrogen in plant product studied by nuclear magnetic resonance. *Plant Cell Environ.* 15, 1037-1042.
43. Martin G.J., Guillou C., Martin M.L., Cabanis M.t., Tep,Y. and Aerny, J. 1988. Natural factors of isotope fractionation and the characterization of wines. *J. Agric. Food Chem* 36, 316-322.
44. Martin G.J.,Guillou C., Naulet N., Brun S., Tep Y., Cabanis J.C., Cabanis M.T. and Sudraud P. 1986. Control of origin and enrichment of wine by specific isotope analysis – study of different methods for wine enrichment: *Sci. Aliment.* 6, 386-405.
45. Massantini R. and Mencarelli F. 2003. Is the quality of fruits in the market responding to the minimum requirements of The QS of EU? *Acta Hortic.* 604, 781-786.
46. Matthäus B, Luftmann H. 2000. Glucosinolates in Members of the Family Brassicaceae: Separation and Identification By LC/ESI-MS-MS. *J. Agric. Food Chem.* 48, 2234-2239.
47. Mazza G., Miniati E. 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*, Ed By Mazza G and Miniati E, CRC Press, Boca Raton, FL, pp 288-290.
48. McWalter GK, Higgins LG, McLelan LI, Henderson CJ, Song L, Thornalley PJJ, Itoh K, Yamamoto M, Hayes JD.2004. Transcriptional factor Nrf2 is essential for induction of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1, glutathione S-transferases, and glutamate cysteine ligase by broccoli seeds and isothiocyanates. *Journal of Nutrition*, 134: 34998-35068.
49. Meyer A. S., Yi O S., Pearson D.A., Waterhouse A. I., Frankel E.N. 1997. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes. *J. Agric. food Chem.* 45 , 1638-1643.

50. Nicola S., Fontana E., Hoeberechts J., Taglietti D., 2005. *Raphanus Sativus* production in soilless or traditional culture systems and postharvest packaging. ISHS Acta Horticulturae 682: 1303- 1310.
51. Off. J. Eur. Communities 1990, N° L 170(Jly 3), 33.
52. Otsuki T., Matsufuji H., Takeda M., Toyoda M., Goda Y. 2002. Acylated anthocyanins from red radish (*Raphanus sativus* L.). *Phytochemistry*, 60, 79-87.
53. Paradossi A., Beccatelli M., Malorgio F., Rognoni F., 1994. La gestione della soluzione nutritiva in colture senza suolo a ciclo chiuso. *L'Informatore Agrario* 44: 43-56.
54. Park K.W. and Fritz D..1984 Effects of fertilization and irrigation on the quality of radish /*Raphanus Sativus* L. Var. Niger/grown in experimental pots.*Acta Horticultrae (ISHS)* 145: 129-137.
55. Prior R. L. 2004. Absorbtion and metabolism of anthocyanins: Potential health effects. *Phytochemicals: Mechanism of Action*, PP 1-19.
56. Rabot S, Nugon-Baudon L, Szylit O.1993. Alteratin af the hepatic xenobiotic- metabolizing enzymes by a glucosinolated- rich diet in germ-free rats: influence of a pre-induction with Phenobarbital. *British Journal of Nutrition*, 70: 347-354.
57. Rea E., Salerno A., Pierandrei F., 2000. Prove di allevamento di gerbera (*Gerbera Jamesonii* L.) senza suolo in condizioni di limitata disponibilità di elementi nutritivi. Atti Convegno “Colture floricole fuori suolo: strategie per la riduzione dell’impatto ambientale”. 159-162.
58. Rea E., Salerno A., Pierandrei F., 2000. Prove di allevamento di gerbera (*Gerbera Jamesonii* L.) senza suolo in condizioni di limitata disponibilità di elementi nutritivi. Atti Convegno “Colture floricole fuori suolo: strategie per la riduzione dell’impatto ambientale”. 159-162.
59. Rossi A., Serraino I., Dugo P., Di Paola R., Mondello L., Genovese T., Morabito D., Dugo G., Sautebib L., Caputi A. 2003. Protective effects

- of anthocyanins from blackberry in a rat model of acute lung inflammation. *Free Radical Research*, 37, 891-900.
60. Rouzaud G, Rabot S, Ratcliffe B B, Duncan AJ. 2003. Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. *British Journal of Nutrition*, 90: 395-404.
 61. Saccardo F., Crinò P., 2003. Orticoltura Italiana : dalle popolazioni agli OGM. *Italus Hortus* 10 (3): 37-45.
 62. Salerno A, Pierandrei F., Rea E., Sequi P. and Valentini M.. Definition of internal morphology and structural changes due to dehydration of radish (*Raphanus sativus* L. cv. Suprella) using Magnetic Resonance Imaging Spectroscopy. *Journal of Food Quality* 28 (2005) 428- 438.
 63. Salerno A., Rea E., Pierandrei F, Rinaldi S., Rivera C.M., Colla G, Saccardo F.. 2006. Yield Response of Radish Grown in a Floating System To Nutrient Solution Concentration. *ISHS Acta Horticulturae* in press..
 64. Salerno A., Rivera C.M., Roupael Y., Colla G., Pierandrei F., Rea E., Saccardo F. 2005. Leaf area estimation of radish from simple linear measurements. *Advances in Horticultural Science* 19(4): 213-215.
 65. Salerno A., Pierandrei F., Rea E., Colla G., Roupael Y., Saccardo F. 2005. Floating system cultivation of Radish (*Raphanus sativus* L.): production and quality. *ISHS Acta Horticulturae* 697: 87-92.
 66. Sambo P., Lunari G., Gianquinto G., Pampini F., 2001. Primi risultati di coltivazione dello spinacio (*Spinacia orelacea* L.) in floating system. *Italus Hortus* 8 (6): 64-69.
 67. Santamaria P. 2004. Soluzione nutritiva una scelta consapevole. *Colture Protette* 2: 57-61.
 68. Santamaria P., Gonnella M., Valenzano V. 2002. Livello di nitrato e commercializzazione degli ortaggi. *Supplemento a Colture Protette* 12: 7-13.
 69. Santamaria P. 2001. Tecniche per ridurre il contenuto di nitrati negli ortaggi. *Bollettino SISS*, 50, 897-908.

70. Santamaria P., Valenzano V., 2001. La qualità degli ortaggi allevati senza suolo. *Italus Hortus* 8 (6):31-38.
71. Santamaria P. 1997. Contributo degli ortaggi all'assunzione giornaliera di nitrato, nitrito e nitrosammine. *Industrie Alimentari*, 36, 1329-1334.
72. Santamaria P. Elia A., Gonnella M., 2001. Ways of reducing rocket salad nitrate content. *Acta Hort.* 548: 529-537.
73. Schonhof I., Krumbein A. and Gutezeit B.1999. *Vorentemaßnahmen zur Beeinflussung des Glucosinolatgehaltes in Brokkoli. Wissenschaftlichen Arbeitstagung der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft und des BDGL* 36:56.
74. Schriner M.. 2005. Vegetable crop management strategies to increase the quantity of phytochemicals. *Eur J Nutr* 44: 85-94.
75. Schreiner M.; Huyskens-Keil S.; Peters P.; Schonhof I.; Krumbein A., Widell S. 2002. Seasonal climate effects on root colour and compounds of red radish. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1325-1333. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2862-2867.
76. Sequi P., Valentini M. and Dell'Abate M.T. 2004. Method for identifying the cultivated varieties of fruits and vegetables and determining their place of origin by means of resonance spectroscopy. Patent RM2004A000342, Italy.
77. Singleton V. L., Rossi J. A. 1965:Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.
78. Sogni S.,1988. Substrati tradizionali e substrati alternativi per la coltivazione in contenitore. *L'informatore agrario* 1: 79-90.
79. Sportelli G. F. 2003. Ortive in fuori suolo, risultati ottimi per qualità e quantità. *Colture Protette* 2: 29-38.
80. Srinibas D., Amrish Kumar T. and Harjit K. 2000. Cancer modulation by glucosinolates: A review. *Current Science*, Vol. 79, N° 12, pp1665-1671.
81. Stintzing F.C.; Carle R. 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and human nutrition. *Trends Food Sci. Technol.*, 15, 19-38.

82. Talalay P, Fahey JW. 2001. Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. *Journal of Nutrition*, 131: 3027S-3033S.
83. Tesi R., Baldi A., Lenzi A., 2005. Rucola e ravanello, la tecnica agronomica. *Colture Protette* 11: 27-34.
84. Thybo A.K., Szczypinski P.M., Karlsson A.H., Donstrup S., Stodkilde-Jorgensen H.S. and Andersen H.J. 2004. Prediction of sensory texture quality attributes of cooked potatoes by NMR- Imaging (MRI) of raw potatoes in combination with different image analysis methods. *J. Food Eng.* 61,91-100,.
85. Tijburg L. B. M., Mattern T., Folts J. D., Weisgerber U. M. and Katan M. B. 1997. Tea flavonoids and cardiovascular diseases: a review. *Crit. Rev. food Sci. Nutr.* 37, 771-785.
86. Tollner E.W., Hung Y.C., Upchurch B.L. and Prussia S.E. 1992. Relating X-ray absorption to density and water –content in apples. *Trans. Asae* 35, 1921-28.
87. Upchurch B.L., Troop J.A. and Aneshansley D.J. 1994. Influence of time, bruise-type, and severity on near-infrared reflectance from apple surface for automatic bruise detection. *Trans. Asae* 37, 1571-1575.
88. Valenzano V., Gonnella M., Santamaria P., 2003. Evoluzione della qualità degli ortaggi da foglia per il consumo fresco in Italia. *Italus Hortus* 10 (3): 184-188.
89. Vinson J.A., Proch J., Bose P. 2001. Determination of quantity and quality of vegetables. *Hort Science* 32: 812-816.
90. Visentin M., Iori R. and Calmieri S. 1992. Isolation and Identification of *trans*-4-(Methylthio)-3-butenyl Glucosinolate from Radish Roots (*Raphanus sativus* L.). *J. Agric. Food Chem.* 40, 1687-1691.
91. Wallsgrove R.M. and Bennett R.N. 1995. The biosynthesis of glucosinolates in Brassicas, in *Amino Acids and Their Derivates in Higher Plants*. Society for Experimental Biology Seminar 56, Ed by Wallsgrove RM, Cambridge University Press, Cambridge, pp 243-259.
92. Wang L, Liu D, Ahmed T, Chung FL, Conaway C, Chiao JW. 2004 Targeting cell cycle machinery as a molecular mechanism of

- sulforophane in prostate cancer prevention. *International Journal of Oncology*, 24: 187-192.
93. Wang H.; Cao G.; Prior R. L. 1997. The oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 304-309.
 94. Williams P. and Norris K. 1987, *Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Mn.
 95. WU X., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D., B., Gebhardt S.E and Prior R.L. 2006. Concentration of anthocyanins in Common Foods in The United States and Estimation of normal Consumption. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 4069-4075.
 96. Xu K., Thornalley P.J. 2001. Signal transduction activated by the cancer chemopreventive isothiocyanates: cleavage of BID protein, tyrosine phosphorylation and activation of JNK. *British Journal of Cancer*, 84: 670-673.
 97. Yang Y.M., Conaway C.C., Chiao J.W., Wang C.X., Amin S., Whysner J., Dai W., Reinhardt J., Chung F.L. 2002. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced lung tumorigenesis in A/J mice by dietary N-acetylcysteine conjugates of benzyl and phenethyl isothiocyanates during the post-initiation phase is associated with activation of mitogen-activated protein Kinase and p53 activity and induction of apoptosis. *Cancer Research*, 62 : 2-7.
 98. Yash P., K. 1998 *Handbook of Reference Methods for Plant analysis*, pp 42-43; 165-170
 99. Yu R., Mandlekar S., Harvey K.J., Ucker D.S., Kong A. 1998. Chemopreventive isothiocyanates induce apoptosis and caspase-3 like protease activity. *Cancer Research*, 58: 402-408.
 100. Zhang Y, Tang L, Gonzalez V. 2003 b. Selected isothiocyanate rapidly induce growth inhibition of cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2: 1045-1052.
 101. Zheng W., Wang S.Y. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 502-509.

- 102.** Zhu C., Poulsen H.E., Loft S. 2000. Inhibition of oxidative DNA damage invitro by extracts of Brussels sprouts. Free Radical Resarch, 33:187-196.
- 103.** Zhu C.Y., Loft S. 2001. Effect of Brussels sprouts extracts on hydrogen peroxide-induced DNA strand breaks in human lymphocytes. Food and Chemical Toxicology, 39: 1191-1197.
- 104.** Zhu C.Y., Loft S. 2003. Effect of chemopreventive compounds from Brassica vegetables on NAD(P)h: quinine reductase and induction of DNA strands breaks in murine hepa1c1c7 cells. Food and Chemical Toxicology , 41: 455-462.

INDICE

CAPITOLO 1. INTRODUZIONE	6
1.1. Qualità degli ortaggi e coltivazione senza suolo	7
1.2. Soluzione nutritiva nell'allevamento fuori suolo	9
1.3 Floating System e ortaggi di IV gamma.	10
1.4. Il Ravanello: botanica, qualità nutrizionale, sistemi di allevamento	12
1.5. La sperimentazione	16
2.1. <i>Materiali e Metodi</i>	18
Piano sperimentale e rilievi	18
Analisi statistica	19
2.2. <i>Risultati e Discussione</i>	22
Consumi di soluzione nutritiva ed esigenze idriche	22
Resa e produzione commerciale	22
Calibro degli ipocotili	28
Macro e microelementi nelle foglie e negli ipocotili	32
Attività antiossidante	35
2.3. <i>Conclusioni</i>	37
CAPITOLO 3. EFFETTI DELLA SOLUZIONE NUTRITIVA SULLA PRODUZIONE E QUALITA' DI RAVANELLO (RAPHANUS SATIVUS L.) ALLEVATO MEDIANTE FLOATING SYSTEM	38
<i>Introduzione</i>	38
3.1 <i>MATERIALI E METODI</i>	38
Piano Sperimentale e Rilievi	38
Analisi statistica	40
3.2. <i>Risultati e Discussione</i>	42
Consumi di soluzione nutritiva. Composizione delle soluzioni a fine e inizio ciclo.	42
Produzione	45
Calibri medi	51
Macro e microelementi nelle ipocotili e nelle foglie	53
Nitrati	54
Attività antiossidante totale	59
Polifenoli totali.	61
Antocianine totali	61
Glucosinolati	63
3.3 <i>Conclusioni</i>	70
Produzione	70
Caratteristiche qualitative	70
CAPITOLO 4. RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE AD ALTA RISOLUZIONE (NMR) E PER IMMAGINI DI RAVANELLO (RAPHANUS SATIVUS L.) ALLEVATO SU FLOAT SYSTEM E SU SUOLO.	73
4.1. <i>Caratterizzazione qualitativa del ravanello allevato su Floating System mediante Analisi di Risonanza Magnetica ad Alta Risoluzione (NMR)</i>	73
Materiali e Metodi	73
Risultati e Discussione	74
Conclusioni	82
4.2. <i>Studio dei cambiamenti morfologici e strutturali del ravanello allevato su suolo, mediante Analisi di Risonanza Magnetica per Immagini (MRI), durante il periodo di post-raccolta.</i>	83
Introduzione	83
Materiali e Metodi	85
Risultati e Discussione	85

Morfologia e struttura del ravanello	85
Effetto della disidratazione	88
Conclusioni	89
CAPITOLO 5. METODI ANALITICI	91
5.1 Macro e micro elementi	91
5.2 Azoto totale : metodo Kjeldahl.	91
5.3 Azoto totale: metodo della combustione	93
5.4 Nitrati	93
5.5 Attività antiossidante e polifenoli totali	94
5.5.1 Attività antiossidante	94
5.5.2 Polifenoli totali	95
5.6 Antocianine totali	95
5.7 Glucosinolati	97
CONCLUSIONI FINALI	99
BIBLIOGRAFIA	101