

ISSN 1128-7969

Numero 1

Gennaio - Aprile 2016

Anno 45

pubblicazione quadrimestrale

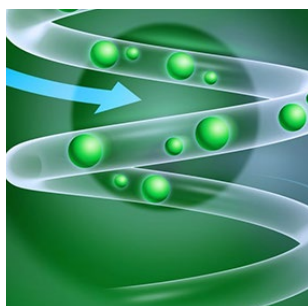
Sped. in abb. post. 70%

Filiali di Roma

FOSAN 

Fondazione per lo Studio
degli Alimenti e della Nutrizione

LA RIVISTA DI
SCIENZA DELL'ALIMENTAZIONE
Journal of Food Science and Nutrition



1

contributi di

A. Abbiati

M. Cormegna

N. Merendino

S. Pacelli

R. Pellati

M. Sciarroni

C. Simonelli

E. Torti

E. Toti

LA RIVISTA DI SCIENZA DELL'ALIMENTAZIONE


Journal of Food Science and Nutrition

Direttore Scientifico - *Editor in chief*:
Nicolò Merendino

Direttore Responsabile: Davide Malacaria
Capo Redattore: Angela Iapello
Periodico quadrimestrale pubblicato da:



Fo.S.A.N. Fondazione per lo Studio degli Alimenti e della Nutrizione
Via Varese, 46 - 00185 Roma
Tel. e Fax 064880635
E-mail: segreteria.fosan@gmail.com

 Associata all'USPI - Unione stampa periodica Italiana
Autorizzazione del Tribunale di Roma n. 14418 del 10 marzo 1972
Iscrizione al n. 1364/84 del Registro Stampa

*Comitato Scientifico Rivista di
Scienza Dell'Alimentazione
Scientific board Journal of
Food Science and Nutrition*

Franco Antoniazzi
Paolo Aureli
Maurizio Boccacci Mariani
Furio Brighenti
Francesco Maria Bucarelli
Antonio Casini
Eugenio Cialfa
Amleto D'Amicis
Laura De Gara
Andrea Ghiselli
Agostino Macrì
Paolo Menesatti
Nicolò Merendino
Pietro Antonio Migliaccio
Gianfranco Montedoro
Elena Orban
Enzo Perri
Giovanni Battista Quaglia
Giuseppe Rotilio
Mauro Serafini
Marcello Ticca
Carmela Tripaldi
Aida Turrini

*Consiglio Scientifico Fosan
Fosan Scientific Council*

Paolo Aureli
Maurizio Boccacci Mariani
Francesco Maria Bucarelli
Antonio Casini
Eugenio Cialfa
Laura De Gara
Agostino Macrì
Paolo Menesatti
Nicolò Merendino
Elena Orban
Enzo Perri
Giovanni Battista Quaglia



Questo libro è stampato su carta FSC amica delle foreste. Il logo FSC identifica prodotti che contengono carta proveniente da foreste gestite secondo i rigorosi standard ambientali, economici e sociali definiti dal Forest Stewardship Council

SOMMARIO

Alimenti prebiotici: caratteristiche nutrizionali e salutistiche <i>di N. Merendino</i>	7
Physicochemical Characterization of some Italian rice varieties <i>di C. Simonelli, A. Abbiati, M. Cormegna</i>	9
Il microbiota umano: funzioni biologiche e interrelazioni con lo stile di vita e alimentare <i>di S. Pacelli, E. Torti, N. Merendino</i>	25
Prodotti surgelati e consumatori <i>di M. Sciarroni</i>	41
Evoluzione del concetto di qualità alimentare <i>di E. Toti</i>	47
Nutrizione e salute <i>di R. Pellati</i>	51

Alimenti prebiotici: caratteristiche nutrizionali e salutistiche

Un alimento prebiotico è un alimento che contiene un ingrediente in grado di stimolare selettivamente la proliferazione di microrganismi favorevoli (bifidobatteri e batteri lattici) e quindi di avere effetti positivi sulla salute.

I potenziali effetti favorevoli di un prebiotico sono quelli di agire come barriera contro germi patogeni, di stimolare il sistema immunitario locale e generale, di ridurre i microrganismi putrefattivi, di essere ipolipidizzante, di proteggere contro i tumori del colon, di migliorare l'assorbimento di minerali.

I meccanismi ipotizzati alla base degli effetti favorevoli indicati sono quelli dell'aumentata produzione di mucina, della formazione per via fermentativa intestinale di acidi grassi a corta catena e dell'inibizione degli enzimi della lipogenesi a livello epatico.

I prebiotici sono costituiti per lo più da carboidrati non disponibili, quali varie fibre del tipo idrosolubile, lattulosio e altri oligosaccaridi contenenti xilosio, mannosio e galattosio.

Particolarmente studiati sono stati i polimeri del fruttosio (fruttani) quali l'inulina e i fruttooligosaccaridi (FOS) contenuti in quantità diverse in vari alimenti vegetali, quali carciofi, cipolle, cicoria, banane e frumento.

Quest'ultimo pur non avendo elevate concentrazioni di fruttani rappresenta la fonte di introito principale con la dieta per l'uomo.

Diversi studi sono stati condotti sia in vitro che in vivo sia su modelli animali sia sull'uomo, con fruttani estratti da fonti vegetali e addizionati in dosi fino al 10% alla dieta consumata.

Studi in "vivo" hanno dimostrato che la concentrazione di fruttani varia durante le diverse fasi di maturazione ed è particolarmente elevata nel primo periodo di crescita. Tra i fruttani sono soprattutto presenti quelli a basso peso molecolare (FOS).

I risultati di questi studi hanno messo in evidenza che il frumento immaturo giuoca un ruolo importante in parametri della risposta immunitaria quali la proliferazione linfocitaria e le sottopopolazioni linfocitarie, particolarmente a livello del sistema immunitario locale, stimolando la prima e modificando la composizione delle seconde. La dieta a base di frumento immaturo ha anche mostrato un effetto favorevole sul metabolismo lipidico, facendo registrare un abbassamento della concentrazione di trigliceridi e del colesterolo totale e sue frazioni lipidiche, a conferma di quanto già osservato in altri studi nei quali però i fruttani isolati sono stati aggiunti alla dieta in diverse proporzioni.

I dati indicano quindi che il frumento immaturo, quale fonte più concentrata di fruttooligosaccaridi, può essere considerato un alimento naturalmente prebiotico, anche se sono ovviamente necessarie ulteriori ricerche per poter trasferire questi risultati nell'alimentazione umana.

Tutti questi studi stanno quindi dimostrando che ci sono molte strategie per arricchire in maniera naturale alcuni alimenti di sostanze utili al miglioramento del benessere dell'uomo e questo dovrebbe stimolare sempre più l'industria alimentare a investire per la messa a punto di nuovi ingredienti che diano all'alimento caratteristiche "funzionali".

Prof. Nicolò Merendino
Direttore Scientifico
Rivista di Scienza dell'Alimentazione

Physicochemical Characterization of some Italian rice varieties

C. Simonelli¹, A. Abbiati², M. Cormegna¹

¹ Ente Nazionale Risi (ENR); Laboratorio Chimico Merceologico – Centro Ricerche sul Riso, Strada per Ceretto 4, 27030 Castello D'Agogna (PV), Italy

² DISIT (Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica) Università degli studi del Piemonte Orientale "Amedeo Avogadro", Viale Teresa Michel n. 11 - 15121 Alessandria

Abstract

The physicochemical, cooking and eating properties of eleven rice cultivars grown in Italy were evaluated. Variations existed in grain dimensions, and the rice grains were classified (according to Italian legislation) as round, medium, long A, long B. The chemical analysis was done to determine the proximate composition as main determinants of cooking quality. The proximate composition results indicated that protein and lipid contents ranged from 6.08 to 9.68 and 0.21 to 0.40 respectively (for milled rice). The gel-time of milled rice from different cultivars varied from 17'15" (Carnise) to 24'56" (Ronaldo). CRLB1, Fragrance and Tigre varieties had the highest amylose content, while Cerere and Ronaldo presented the lowest amylose content. The content of amylose is correlated to texture properties, in particular with hardness and stickiness: stickiness is negatively correlated with amylose content with a R^2 of 0.93, however hardness is positively correlated with R^2 of 0.94.

The differences in the physicochemical properties could be used to determine the end use of these rice cultivars.

Keywords: rice, amylose content, rice texture, gelatinization time, chalkiness.

Introduction

Rice (*Oryza sativa*) is a member of Gramineae family. It is a plant with ancient cultivation, native to South-east Asia. Along with wheat and corn, it is an important source of energy for sustaining the world's population; rice is the staple food for more than half the world's population providing more than one fifth (20%) of the total calories consumed worldwide by humans (Ferrero *et al.*, 2008). FAO estimates that nearly 3 billion people share the culture, traditions and potential of rice, in the different parts of the world. To date, Italy is one of the most important producer of rice in Europe (about 1 520 000 tons

in the agricultural season 2015/16 – Losi) and Italian rice is considered a high-quality product (1/3 consumed and 2/3 exported).

In Italy there are more than 180 different rice varieties which are submitted to special legislation (Italian National Register of Varieties). All of them should be peculiar in agronomical and/or physicochemical and structural features to be registered as new rice variety.

In order to avoid confusion in consumers, the different rice varieties are classified according to similar characteristics in the annual Decree (DM October 1, 2015) that establishes the rules of marketing by specific denomination. The established

groups are: Comune or Originario, Semifino, Fino and Superfino. Inside them there are some subgroups in which some varieties are identified as reported on the label of rice package. Italian tradition may include typical varieties according to specific preparations: Selenio and Balilla (for soups and puffed rice); S. Andrea, Baldo, Carnaroli, Volano, Arborio, Loto and Roma (for the preparation of risotto); Gladio and Thaibonnet (for salads or to be subjected to parboiling process).

In rice, quality traits encompass physical appearance, cooking and sensory properties, and nutritional value. The value of each trait, like length of the grain, varies according to local cuisine and culture. Predictable expression of these traits across seasons and years gives a cultivar its reputation (Chavez-Murillo *et al.*, 2011).

Rice is commonly consumed as milled or white rice, which is produced by removing the hull and bran layers of the rough rice kernel in dehulling and milling processes, respectively. The rice milling operation involves dehulling (removal of hulls from rough rice kernels) to give brown rice, and milling (removal of bran from brown rice).

There are a few properties that characterize rice kernels: amylose content, biometrics value (length and width of kernel), texture properties (hardness and stickiness) and gelatinization time.

In Italy there is a specific organization for the protection of rice cultivation: Ente Nazionale Risi (ENR). ENR has several Department and structures for many scientific (chemical, agronomical, biotechnological, economical) competences, in particular in Rice Research Centre there is the Chemical Merceological Laboratory (LCM), called "laboratory" or "LCM". The LCM was made in the 80's and is accredited since the 2007 by Accredia (the Italian Accreditation Body) for specific analysis on rice.

Physical characteristics

Aromaticity

An interesting aspect from the point of view of the inclusion in the National (Italian) Register of Varieties is about the presence / absence of aromaticity. The aromatic rices emit in cooking a characteristic scent similar to popcorn related to a pool of chemical compounds including, in particular, the 2-acetyl-pyrroline that some varieties of rice (called "aromatic rice") are able to synthesize.

Dimensional characterization

Rice grains were classified as medium, long A, long B and round by the application of the Regulation CE 1234/2007 (Annex III, Part 1), as reported below:

Table I – Classification of rice by dimension of kernel

Classification	Length (L)	Length / Width (L/l) ratio
Round	$L \leq 5.2 \text{ mm}$	$L/l < 2$
Medium	$5.2 \text{ mm} < L \leq 6.0 \text{ mm}$	$L/l < 3$
Long A	$L > 6.0 \text{ mm}$	$2 < L/l < 3$
Long B	$L > 6.0 \text{ mm}$	$L/l \geq 3$

Chalkiness

Grain appearance is largely determined by the endosperm opacity. Rice chalkiness appears as a white (opaque) portion of a kernel or can make up the entire kernel (Champagne, 2004). This appearance of grain is commonly classi-

fied as the amount of chalkiness. The chalkiness is caused by interruption of final filling of the grain. Chalkiness is able to influence cooking and chewing characteristics of rice's grain; probably the air spaces present in chalky kernels swell up the starch's granules during cooking; so

the grain of cooked rice is softer than the crystalline grains. Furthermore the high presence of "chalk" increases the possibility of breakage during milling, thereby downgrading the quality assessment rating of rice (Ferrero *et al.*, 2008). Chalkiness has been reported to be influenced by both genetics and environment factors. Investigations by electron microscopy showed that the pearling is mainly due to three factors: a non-uniform deposition of the starch; a less ordered structure among cells of amyloplasts and starch's granules; the presence of air pockets within the endosperm (Ferrero *et al.*, 2008). Chalk measurements are most commonly made using subjective visualization of kernel placed in a light box (Champagne, 2004).

Rice eating and cooking qualities are highly related to some easily measurable physicochemical properties: apparent amylose content (AM), gelatinization time, rice texture. All of these parameters reflect the starch functionality of the rice grain, but AM is widely recognized as one of the most important determinants for various rice products (J.S. Bao, 2012).

Cooking and eating Characteristics

Gelatinization time

Starch gelatinization phenomena in a hot aqueous medium is influenced by various factors, such as time, temperature and components (moisture, salts, sugar, lipids). Starch gelatinization phenomenon is described as a kind of chemical reaction process in which ungelatinized part of starch is changed to a gelatinized part (Yamamoto, 2004). Physically, starch consists of amorphous and crystallite regions, and the gelatinization initially occurs in the former.

The gelatinization time (or gel-time) is defined as the time necessary for 90% of the kernels to pass from their natural state to the gel state (UNI ISO 14864). The gelatinization is the hydration process which conferring the jelly like state typical of the coagulated colloids, which are named "gels", on kernels (UNI ISO 14864). The gel state is the condition reached as a consequence of ge-

latinization, when the kernel is fully transparent and absolutely free from whitish and opaque granules after being squashed between two glass plates (UNI ISO 14864).

The gel-time is correlated with the hydration process of starch when rice is cooked in water at high temperature. This process, first slow and then quick, induce an irreversible change in physical structure of starch. Its crystalline granules became colloidal, losing the characteristic of crystallinity (Tinarelli, 1999).

Any Italian variety has a particular gel-time. Usually for rice Italian varieties is observed a gel time in a range of 14 - 24 minutes (Ferrero *et al.*, 2008).

Rice texture

Cooked rice texture has been shown to govern the acceptance of rice by consumers when consumed as the whole grain. Texture has been defined as a multidimensional characteristic that only humans can perceive, define, and measure.

Thus, sensory evaluation is critical although instrumental measurement of textural properties is also common practice (Zhoust Z., 2001).

Although texture is multidimensional, hardness and stickiness are critical and these textural characteristics govern palatability of cooked rice in Italian markets, with hardness being the most important and most commonly measured parameter. Rice texture is affected by factors such as variety, amylose content, gelatinization temperature processing factors and cooking method. For instance, cooked rice with low amylose content is soft and sticky, while rice with high amylose is firm and fluffy (Zhoust Z., 2001).

Chemical characteristics

Proteins

Protein plays an important role in cooked rice texture, because the protein forms a complex with starch that impairs starch granule swelling. Starch granule swelling affects both viscosity intensity and the rate of starch gelatinization. Protein content within the same rice variety varies

by degree of milling. Rice obtained from a higher degree of milling has a comparatively better sensory quality. High protein rice is less sticky and has a harder texture. It was found that rice protein consists mainly of glutelin and oryzenin which forms a complex with starch that decreases rice stickiness (Suwannaporn *et al.*, 2007).

Proteins are most concentrated in the outer layers of the rice kernel, but significant amounts are also present in the endosperm (Champagne, 2004).

Lipids

Lipids can contribute to the quality of rice, influencing the nutritional and sensory characteristics, although not abundant components such as carbohydrates and proteins. The total concentration of fat in the caryopsis of brown rice is between 2 and 4%, while concentration in the milled grain amounts to 0.3 to 0.6% (according to degree of milling). Lipids are present in the form of spherosomes or lipid droplets < 1,5 µm in diameter in the aleurone layer, and <0,7 µm in the embryo of rice grain; most of the lipids in the endosperm are associated with protein bodies, but starch granules also have bound lipids. Lipids are generally classified into nonstarch lipids, principally those in the spherosomes or lipid droplets of aleurone layer and embryo, and starch lipids. The first represent a little portion of total lipids, but can play a role in the synthesis of starch; they are the most difficult to extract. The nonstarch lipids are the most abundant and can be found in the aleurone layer and the embryo of brown rice; they're extracted with petroleum ether (Champagne, 2004).

Moisture

Moisture content is the amount of water in the rice grain. In post-harvest handling, grain moisture content is generally expressed as percentage of water contained in the wet grain. Moisture of 14% or less is considered safe for storing grains; paddy should be dried to safe moisture content within 24 hours after harvesting to avoid damage

and deterioration. Improper drying and storage practices lead to low grain or seed quality.

Amylose content

The eating quality of rice is strongly influenced by amylose content (Suwannaporn A., 2007).

Amylose content is considered the single most important characteristic for predicting rice cooking and processing behavior. Amylose content is directly related to water absorption, volume expansion, fluffiness, and separability of cooked rice. It is inversely related to cohesiveness, tenderness, and glossiness (Zhoust Z., 2001).

Amylose content is positively correlated with hardness and negatively correlated with stickiness (Suwannaporn A., 2007).

On the basis of amylose content, rice starch may be classified as waxy (0% to 2% amylose), very low (5% to 12% amylose), low (12% to 20% amylose), intermediate (20% to 25% amylose), or high (25% to 33% amylose); there are some rice mutants with higher levels of amylose in a range of 35% to 40% (Wani *et al.*, 2012).

The quality characterization of newly developed rice cultivars (from cereal chemistry approach and to find correlation between important properties) is mandatory to study their quality attributes and to compare their different properties with already studied cultivars for further improvement in quality characteristics of under development varieties of rice. The goal of this paper was to study chemical, textural and nutritional characterization of different new rice cultivars grown in Italy.

Materials and methods

Materials

Eleven rough rice samples (Apollo, Carnise, Cerere, CRLB1, Fragrance, Puma, Ronaldo, Sirio CL, Tigre, Ermes, Venere) were obtained from different Seed Companies. Nine of the eleven cultivars are consumed exclusively as milled rice, while Venere and Ermes only as husked rice.

They were recognized at the Italian National

Register of Varieties in the last five/ten years; they include: rice with high amylose content, aromatic rice, pigmented rice, or rice for parboiled market.

Samples of rough rice were dehulled; brown rice was polished with a uniform degree of processing. A dehusked "Universale" were used to remove hull and bran to obtain milled rice. Broken kernels and damaged grains were eliminated by sieving; samples obtained were subjected to analysis.

Physical Characterization

Aromaticity

The analysis is performed according to an internal method developed by LCM (MP23 rev.02, 2011). It is a kind of sensory analysis carried out for comparison between milled rice test and reference materials consisting of aromatic rice variety (Gange) and non-aromatic variety (Gladio), as indicated by CPVO protocol. The samples are cooked in the same test conditions on the stickiness (MP14) and evaluated by a trained panel. The test is aimed to describe the perception of the aroma and its intensity on a predetermined scale.

Length and width

100 grains of brown rice and milled rice kernels (counted by an automatic counter Contador) are measured with the image analyzer WinSEEDLE Pro. The analysis was performed in duplicate by the application of the UNI EN ISO 11746:2012 method. The value of the shape of kernel is given by the ratio between length and width.

1000 GrainWeight

500 grain weight was determined by weighing of a sample's portion, separation of the whole grains, weight of the residue and counts of

whole grains, by the application of UNI EN ISO 520:2011.

Chalkiness

The analytical determination is carried out following an internal method (MP13 rev.03, 2011) that involves the visual evaluation of the single grains and the identification of the pearl, if present (Cormegna *et al.*, 2011).

Cooking and eating Characteristics

Determination of gelatinization time

The UNI ISO 14864:2004 (which is the Italian version of ISO 14864:1998) specifies a method to evaluate the gelatinization time of rice kernels during cooking. It is applied only to milled rice. The principle of the method consist in a determination of the time span between the immersion of the sample of rice into boiling water; kernels becoming fully gelatinized and are evaluated by visual observation (ISO 14864). The method is the international version of the Italian *Ranghino test* (Ranghino, 1966).

Determination of instrumental textural analysis (hardness and stickiness)

Prepared rice samples were cooked in rice steam cooker (SPL, F.Ili Galli). Cooked rice texture was measured with a Texture Analyzer model TA.XT plus (Stable Micro Systems) using the compression test according to UNI EN ISO 11747:2012 method (resistance to extrusion: hardness) and an internal method (MP14 rev.07) for stickiness.

As reported in Table 2, X g of rice kernels in Y ml of distilled water are cooked for 30 minutes (20' with the steam cooker on and 10' off). Portions of Z g are analyzed in the texture analyzer; the result is the mean of K data and the determination is made in duplicate.

Table 2 – Parameters for the determination of hardness and stickiness

Analysis	X	Y	Z	K
Hardness	20 g	38 ml	17 g	6
Stickiness	8 g	12 ml	2 g	8

Chemical Characterization

Determination of the nitrogen content and calculation of the crude protein content.

Protein content was calculated from nitrogen content assessed by the Kjeldahl method using a 5.95 conversion factor. A test portion of milled rice (1 g) is digested by sulfuric acid 18 mol/l (20 ml) in the presence of a catalyst. The reaction products are made alkaline then distilled. The liberated ammonia is collected in a boric acid solution, which is titrated with a sulfuric acid solution, to determine the nitrogen content and calculate the crude protein content according to ISO 20483:2006.

Determination of crude fat

For crude fat, the Soxhlet extraction method with petroleum ether as solvent was used, according to AACC Method 30-25.01. 5 g of dried (in a vacuum oven: 100 mm Hg; 5 hours) grinded rice are extracted with 100 ml of petroleum ether (30-60°C) for 2 hours.

Moisture Content

Moisture content of brown and milled rice was determined by using the standard methods of analysis ISO 712:2009. 5 g of grinded rice are dried in a Memmert UFE 400 oven for 2 hours at 130-133°C.

Amylose Content

Rice is ground to a very fine flour to break up the endosperm structure in order to aid complete dispersion and gelatinization; the flour is then defatted. A test portion is dispersed in a sodium hydroxide solution, to an aliquot portion of which an iodine solution is added. The absorbance, at 720 nm, of the colour complex formed is then determined using a UV-VIS spectrophotometer (Lambda 25, Perkin Elmer). The amylose mass fraction of the sample is then read from a calibration graph, which is prepared using mixtures of potato amylose and amylopectin to make allowance for the effect of amylopectin on the color of the amylose-iodine complex of the test solution (UNI EN ISO 6647-1:2007).

Statistical Analysis

Replicate determination data were submitted to Shapiro-Wilk and Huber tests by a specific UNICHIM software.

Comparison of means was performed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Turkey's method; least significant differences were computed at $P < 0,05$.

In Table 3, 4 and 5 all data are a mean of values. Standard deviation of the mean is in parenthesis. Different letters within the same column indicate significant difference using Turkey's method.

Table 3 – Physical characteristics and grain type of nine new Italian rice varieties

Varieties	Length (mm) (n = 10)	Width (mm) (n = 10)	Grain Type	Mass 1000 grains (g) (n = 10)	Chalkiness
Apollo	7,33 (0,04) ^a	2,20 (0,00) ^f	Long B	22,64 (0,20) ^c	Pearled (nd)
Carnise	6,90 (0,01) ^c	3,20 (0,01) ^a	Long A	31,67 (0,28) ^a	Pearled (ve)
Cerere	4,83 (0,01) ^h	2,92 (0,01) ^b	Round	20,25 (0,63) ^d	Pearled (le)
CRLBI	7,08 (0,02) ^b	2,02 (0,01) ^h	Long B	19,08 (0,10) ^e	Vitreous
Fragrance	6,87 (0,06) ^c	2,30 (0,00) ^e	Long B	22,63 (0,18) ^c	Vitreous
Puma	6,23 (0,04) ^g	2,59 (0,02) ^d	Long B	22,92 (0,17) ^c	Vitreous
Ronaldo	6,43 (0,04) ^f	2,68 (0,00) ^c	Long A	25,30 (0,16) ^b	Pearled (le)
Sirio CL	6,54 (0,07) ^e	2,04 (0,01) ^g	Long B	17,57 (0,08) ^f	Vitreous
Tigre	6,78 (0,08) ^d	2,00 (0,01) ⁱ	Long B	17,40 (0,09) ^f	Vitreous
Ermes	8,01 (0,03)	2,12 (0,01)	-	23,41 (0,14)	nd
Venere	5,92 (0,04)	2,59 (0,01)	-	20,36 (0,21)	nd

ve = very extended; le = little extended

Results and discussion

Physical characteristics of rice grain

The mentioned physical characteristics of the milled grain rice were classified as medium, long A, long B and round (Regulation CE 1234/2007, Annex III, Part 1), respectively, where six of the nine cultivars analyzed were *long B* grain type, two were *long A*, one was *round* and none *medium* (Table 3).

All varieties of milled rice, even if in the same merceological group, are characterized by different length and width. Fragrance and Puma presented similar mass of 1000 grains such as Sirio CL and Tigre too.

For Hermes and Venere the length, width and mass of 1000 grains are measured on husked rice. Their biometric values are peculiar and mass of 1000 grains too.

Amylose content and Texture properties of milled rice

Rice was classified by its amylose content into three groups: low amylose content (less than 19

g/100g, such as Cerere, Puma and Ronaldo); medium amylose content (20-24 g/100g: Apollo, Carnise and Sirio CL); and high amylose content (over 24 g/100g: CRLB1, Fragrance and Tigre), as reported in Table 4. As written above, the content of amylose is correlated to texture properties, in particular with hardness and stickiness.

Ronaldo and Cerere have similar hardness, but different stickiness; the opposite of CRLB1 and Fragrance.

Apollo and Carnise have similar textural value of analysis of both characteristics (stickiness and hardness).

There are no significant differences between the three rice high amylose varieties (CRLB1, Fragrance and Tigre). Apollo and Sirio CL have similar content of amylose, not similar to Carnise.

Amylose content of Puma and Cerere are different and Cerere content is similar to Ronaldo.

These determination are not made on Hermes and Venere because these varieties are consumed as husked rice and not as milled rice.

Table 4 – Amylose content and texture properties of nine new Italian rice varieties

Varieties	Hardness (kg/cm ²) (n = 10)	Stickiness (g.cm) (n = 3)	Amylose (AM) (g/100g) (n = 2)	AM classification
Apollo	1,03 (0,02) ^d	1,55 (0,25) ^d	24,26 (0,40) ^b	Medium AM
Carnise	1,02 (0,05) ^d	1,63 (0,18) ^d	22,91 (0,33) ^c	Medium AM
Cerere	0,71 (0,04) ^f	4,98 (0,43) ^b	16,34 (0,13) ^e	Low AM
CRLB1	1,26 (0,03) ^a	0,53 (0,21) ^e	26,08 (0,20) ^a	High AM
Fragrance	1,20 (0,04) ^b	0,48 (0,04) ^e	26,83 (0,06) ^a	High AM
Puma	0,79 (0,01) ^e	3,35 (0,27) ^c	17,97 (0,06) ^d	Low AM
Ronaldo	0,71 (0,03) ^f	5,75 (0,22) ^a	15,87 (0,40) ^e	Low AM
Sirio CL	1,04 (0,06) ^d	1,09 (0,22) ^{d,e}	23,94 (0,19) ^b	Medium AM
Tigre	1,12 (0,02) ^c	1,00 (0,10) ^{d,e}	26,97 (0,13) ^a	High AM

Proximate Analysis

Table 5 depicts the chemical properties of different rice cultivars.

The moisture content of different rice varieties found to range from 12.64 to 14.21 g/100g (the analysis of this parameter was performed in single).

The protein contents and lipid contents ranged from 6.08 to 9.68 and 0.21 to 0.40 respectively (for milled rice). For husked rice (Hermes and Venere) the protein content is quite similar to milled rice, but, obviously, the lipid content is higher than milled.

Table 5 – Amylose content, Lipid, Protein and Moisture of nine new Italian rice varieties

Varieties	Amylose (g/100g) (n = 2)	Lipid (g/100g) (n = 6)	Protein (g/100g) (n = 10)	Moisture (g/100g) (n = 1)
Apollo	24,26 (0,40) ^b	0,31 (0,01) ^c	7,21 (0,05) ^d	13.99
Carnise	22,91 (0,33) ^c	0,29 (0,02) ^c	7,39 (0,05) ^d	14.21
Cerere	16,34 (0,13) ^e	0,40 (0,02) ^a	6,08 (0,08) ^e	13.44
CRLB1	26,08 (0,20) ^a	0,21 (0,03) ^d	9,15 (0,03) ^b	12.64
Fragrance	26,83 (0,06) ^a	0,30 (0,02) ^c	6,97 (0,07) ^d	13.47
Puma	17,97 (0,06) ^d	0,29 (0,03) ^c	9,68 (0,07) ^a	12.71
Ronaldo	15,87 (0,40) ^e	0,28 (0,02) ^c	6,40 (0,03) ^e	13.45
Sirio CL	23,94 (0,19) ^b	0,34 (0,03) ^{b,c}	7,59 (0,31) ^d	13.62
Tigre	26,97 (0,13) ^a	0,27 (0,01) ^c	8,55 (0,19) ^c	13.00
Ermes	nd	2,44 (0,03)	8,06 (0,06)	13.50
Venere	nd	2,61 (0,08)	7,26 (0,05)	13.75

Cooking properties of milled rice

The cooking characteristics of the different new Italian varieties of rice, are presented in Table 6. The gel-time of milled rice from different cultivars varied from 17'15" (Carnise) to 24'56" (Ronaldo).

There are some consideration on biometrics increase values. Varieties long B increase more width than length (except Puma which gives the same kind of increase in length and width).

Solid losses of all varieties varied from 11.10% (Puma) to 14.93% (Apollo).

Correlation Analysis: Amylose content and texture properties

Stickiness and Hardness analytical data are report-

ed in Fig.1 and it is possible to view the inversed correlation between the two properties. In particular: high amylose varieties (Tigre, Fragrance and CRLB1) are characterized by high hardness and low stickiness; low amylose varieties (Ronaldo, Cerere and Puma) have low hardness and high stickiness values. Apollo, Carnise and Sirio CL (medium amylose content varieties) are collocate between the other varieties for the texture properties.

In Fig. 2 hardness (with its standard deviation) is plotted in function to amylose content and the positive correlation between the properties is noted. The coefficient of correlation (R^2) is 0.94.

Stickiness is negatively correlated with amylose content (Fig. 3) with a R^2 of 0.93.

Table 6 – Cooking properties of milled rice

Varieties	Gel-time (min sec) (n = 1)	Length increase (%) (n = 3)	Width increase (%) (n = 3)	Solid loss (%) (n = 3)
Apollo	21'24"	32.10 (2.18)	70.97 (0.81)	14.93 (0.99)
Carnise	17'15"	50.43 (3.25)	21.77 (2.16)	13.23 (0.75)
Cerere	18'52"	80.27 (1.12)	25.25 (1.83)	13.33 (0.06)
CRLB1	21'47"	38.20 (1.31)	77.67 (3.25)	12.53 (1.60)
Fragrance	20'58"	43.50 (1.47)	79.97 (2.33)	12.53 (0.15)
Puma	23'48"	45.23 (1.03)	44.30 (2.82)	11.10 (1.74)
Ronaldo	24'56"	39.23 (0.59)	44.80 (2.95)	14.87 (0.31)
Sirio CL	19'10"	37.17 (1.36)	66.30 (1.73)	13.07 (1.10)
Tigre	18'32"	48.30 (3.20)	68.90 (6.93)	13.03 (0.21)

Figure 1 – Stickiness vs hardness in milled rice (new Italian varieties)

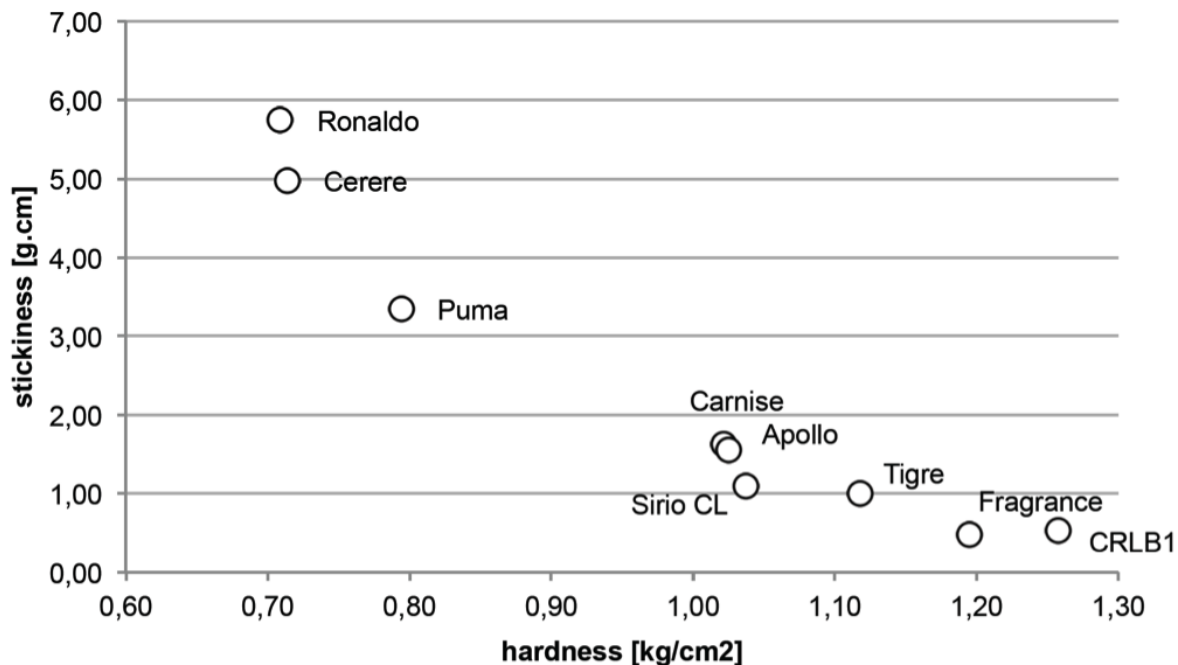


Figure 2 – Regression between hardness (HD) and amylose content (AM) in milled rice (new Italian varieties)

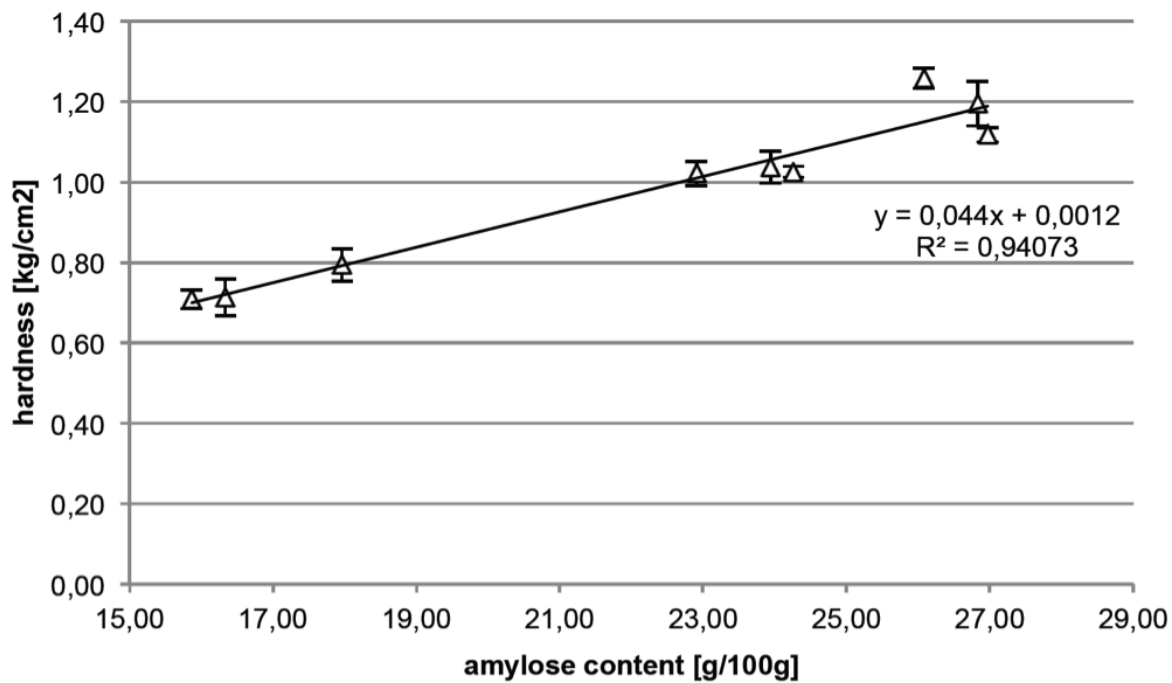
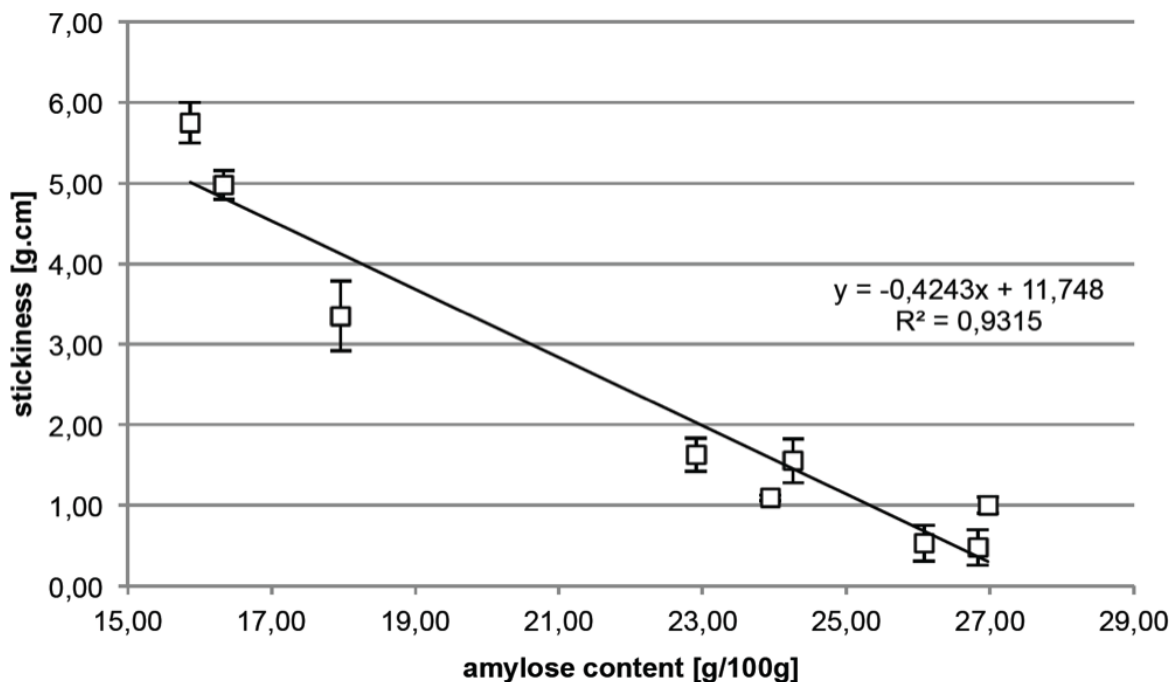


Figure 3 – Stickiness (ST) vs amylose content (AM) in milled rice (new Italian varieties)



Correlations among various physic-chemical and cooking properties

Pearson correlation coefficient for relationships among various physic-chemical and cooking properties of the new Italian varieties of rice are

reported in Table 7.

In the event that there is no correlation between the properties, the coefficient values will oscillate around zero and will sometimes be positive or negative. If, however, the correlation between

Table 7 – Pearson correlation between various physic-chemical and cooking properties of new Italian rice varieties

	L/W ratio	Mass 1000 grains	Hardness	Stickiness	Amylose	Gel-time	Solid loss	Length increase
Mass 1000 grains	-0,52							
Hardness	0,79	-0,24						
Stickiness	-0,76	0,23	-0,96					
Amylose	0,81	-0,28	0,97	-0,97				
Gel-time	0,05	0,01	-0,34	0,43	-0,42			
Solid loss	0,02	0,18	-0,20	0,29	-0,13	0,05		
Length increase	-0,75	0,00	-0,46	0,46	-0,45	-0,42	-0,16	
Width increase	0,92	-0,59	0,73	-0,67	0,74	0,19	-0,04	-0,65

the variables is strong, the coefficient will assume values close to +1 or -1, as in the following cases:

- Stickiness is inversely proportional to hardness (-0.96);
- The amylose content is directly proportional to hardness (0.97) and inversely to stickiness (-0.97);
- There is a direct correlation between the length increase in cooking and the length/width ratio (0.92);
- The amylose content and the length/width ratio give a fairly good direct correlation (0.81).

Discussion

As reported in Table 3, the new varieties of rice are characterized in according to the Reg. CE 1234/2007. These physical properties, together with amylose content, are primary quality factors in the breeding, drying, cleaning, marketing, and processing of end-use products. As described by Adair *et al.* (1973), and remarked by Tinarelli (1999), rice grain may be classified into grain-type categories based upon three physical quantities: length, shape and weight. Usually the grain weight (size) is determined by the analysis of the mass of 1000 grains.

To predict the cooking quality of rice, it's essential to understand the structure of the starch that composes it. As previously mentioned, there are two types of starch in rice grain: amylose and amylopectin. The first one has a huge impact in the cooking quality of rice and it's the linear form of the starch. Actually the determination of the amylose is made by the UNI EN ISO 6647-1:2007 method which involves the determination of apparent amylose (amylose and the long linear chain of amylopectin). INQR (International Network for Quality Rice) has developed a new method for the determination of amylose content using the technology SEC (Standard Exclusion Chromatography) for the preparation of standards for the calibration curve (Fitzgerald *et al.*,

2009). Last year, the ISO 6647 has been revised in this way and is therefore now available for analyzing the amylose content new ISO 6647:2015.

The differences in textural properties among the various rice cultivars may be attributed mainly to differences in the amylose content (Singh *et al.*, 2005).

The higher value of hardness in rice cultivars may also be attributed to differences in their granular structure. A higher hardness has been reported for rice cultivars having smaller size starch granules (Singh *et al.*, 2003).

As noted in several studies, even on Italian varieties (Sicheri and Martinotti), it appeared that the husked rice grains (Venere and Ermes) have a higher nutrient content than milled rice.

As reported in other studies (Kadan *et al.*, 1997; Singh *et al.*, 2005) there is a strong correlation between the amylose content and the hardness (Pearson index: 0.97).

In the literature, in addition to the correlation between stickiness and hardness with the amylose content, can be found interesting data, relating to the correlation between sensory factors (from the panel test) and the protein content (Lyon *et al.*, 1999).

The factors relating to the characterization of stickiness (manual and visual adhesiveness, stickiness to lip, initial starchy coating, surface slickness, roughness, self-adhesiveness, cohesiveness, hardness, cohesiveness of mass) identified through a panel test, give a coefficient of correlation $r = 0.32$ with amylose and $r = -0.67$ with the protein content (Lyon *et al.*, 1999).

With the work submitted in this context, it was possible to directly determine the stickiness as an individual parameter and identify distinct correlation coefficients with amylose ($r = -0.96$) and with the protein content ($r = -0.47$).

As regards the sensorial properties by panel tests that describe the hardness (chewiness and roughness), the coefficients of correlation with amylose and protein content, in the literature appear to be respectively $r = -0.27$ and $r = 0.05$ (Lyon *et al.*, 1999).

From the data shown in Table 5 it is possible to determine the correlation coefficients of hardness and stickiness respectively with amylose and protein content (Table 8 and Fig. 4, 5).

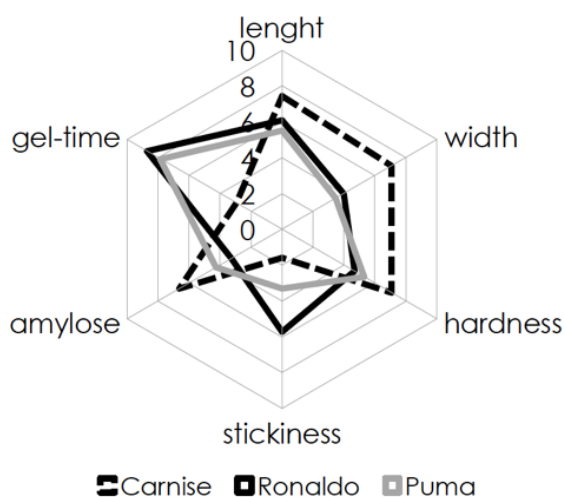
Certainly both for hardness and for stickiness there are significant correlations with amylose content, confirmed by the excellent values of r and R^2 ; the correlation between the protein content and the parameters of hardness and stickiness was also evaluated and appeared to be not particularly significant.

Conclusions

Taking into consideration the varieties grouped as defined in the EC Regulation 1234/2007, it is possible to analyze the long A group (Carnise, Puma and Ronaldo). There are two pearled varieties (Carnise and Ronaldo) and a crystalline one (Puma), respectively, in medium (Carnise) and low amylose (Ronaldo and Puma); characteristics of texture (hardness and stickiness) resulting therefrom accordingly. Also the gelatinization time (and subsequent cooking times) are very different from each other as well as the behavior of the grain during cooking (Table 6), in particular for the Carnise, as shown in Figure 4.

The Carnise is commercialized in the group of Carnaroli (DM October 1, 2015) such as Superfine

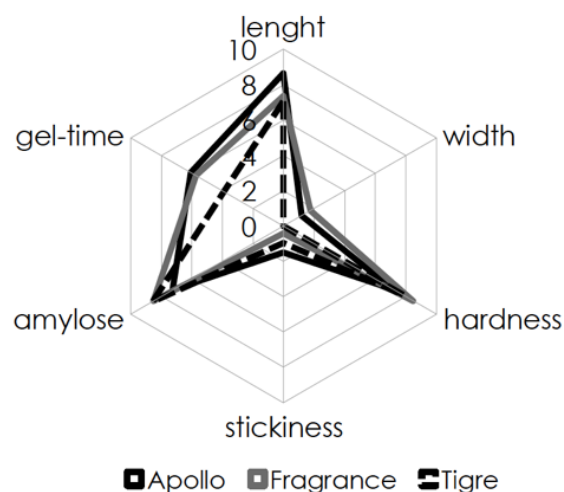
Figure 4 – Radar chart of long A varieties: Carnise, Puma and Ronaldo



rice and is therefore referred as a “risotto” rice. The Ronaldo is a variety mainly used for par-boiling analogous to Puma; this latter, unlike Ronaldo, is a so-called “early variety” from the agronomic point of view.

Within the group of the long B, there are three aromatic varieties (Apollo, Fragrance and Tigre); they have different aspect of the grain (the first pearled, the other two crystalline), amylose content (respectively a medium and two high amylose) and peculiar value of texture (hardness and stickiness).

Figure 5 – Radar chart of long B (aromatic varieties): Apollo, Fragrance and Tigre

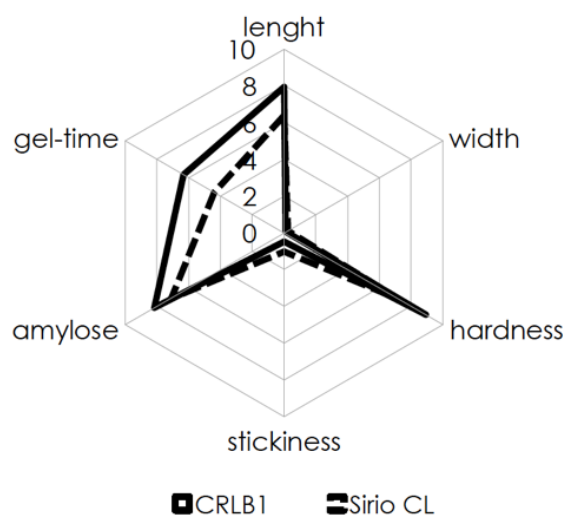


It is possible to note that, while maintaining the same conformation in the radar chart, the three long B varieties have different behaviors. Apollo, Fragrance and Tiger are within the same product group in the Superfine rices, all aromatics.

The other two long B (CRLB1, and Sirius CL) do not exhibit aromaticity, are crystalline at different amylose content (high and medium respectively), with not comparable texture properties (in particular the hardness) and different cooking behaviors (gel-time).

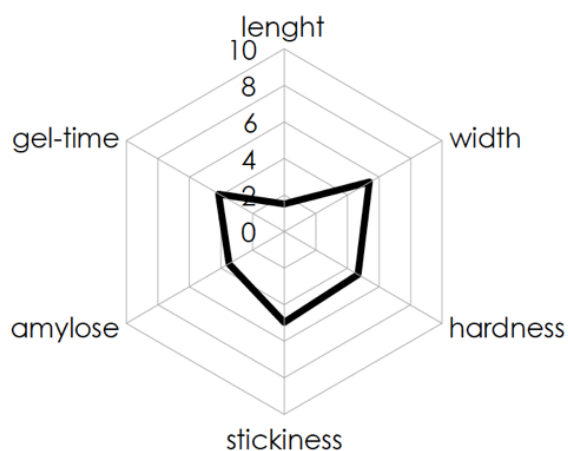
The Puma, in the normative of the Internal Market, is in the “Fino” group. CRLB1 and Sirio CL are in the same product group (Superfine), together with more historical Italian varieties as Gladio and Thaibonnet.

Figure 6 – Radar chart of long B (not aromatic varieties): CRLB1 and Sirio CL



Moreover there is a single variety, among those studied, classified as a “round”: the Cerere. Its radar chart is shown in Figure 7 and it is also possible to note from its conformation which is unique compared to all other varieties. In the normative of the Internal Italian Market belongs to “Comune” or “Originario”.

Figure 7 – Radar chart of round variety: Cerere



The study carried out showed that the varieties taken in consideration, even within to the same product group, have peculiarities that are reflected in the different chemical and physical characteristics and behaviors in cooking.

In addition to the usual correlations between amylose and textural properties, it was exam-

ined if there might be links among other physico-chemical properties. The study of the Pearson coefficient shows that rice that have a high length / width ratio (as long B) tend to have high values of increase in width in cooking and are characterized by high levels of amylose.

Acknowledgments

INRAN (Dr.ssa Acquistucci), SA.PI.SE., SIS, Lugano Leonardo, Dr. Gironi and Mr. Zone (Ente Nazionale Risi).

References

- AACC, Method 30-25.01:1999, “Crude fat in wheat, crn and soy flour, feeds and mixed feeds”.
- AA.VV. (2008), “*Il riso*”, coordinamento scientifico di A. Ferrero, Collana Coltura & Cultura, ideata e coordinata da R. Angelini, Bayer CropScience, Ed. Script, Bologna.
- Abbiati A. (2012), “Caratterizzazione nutrizionale e chimico-merceologica di nuove varietà di riso”, Università del Piemonte Orientale (Alessandria), Tesi di Laurea presso Ente Nazionale Risi.
- Adair C.R., Bollich C.H., Bowman D.H., Jodon N.E., Johnston T.H., Webb B.D., Atkins J.G. (1973), “Rice breeding and testing methods in the United States, Rice in the United States: Varieties and Production”, Handbook 289: 22-75.
- Bao J.S. (2012), “Toward understanding the genetic and molecular bases of the eating and cooking quality of rice”, *Cereal Food World*, 57(4): 148.
- Bienvenido O. Juliano (1972), “Rice: Chemistry and Technology”, 3rd ed.
- Champagne Elaine T. (2004), “Rice: Chemistry and Technology – Third Edition”, U.S. Department of Agriculture Research Service Southern Regional Research Center, New Orleans, Louisiana.
- Chávez-Murillo C.E., Wang Y., Quintero-Gutierrez A.G., and Bello-Pérez L.A. (2011), “Physicochemical, Textural, and Nutritional Charac-

- terization of Mexican Rice Cultivars", *Cereal Chemistry*, 88: 245-252.
- Cormegna M., Simonelli C. (2011), "Grani cristallini e tipo di perla: validazione del metodo analitico", *La Rivista di Scienze dell'Alimentazione*, anno 40, n° 4.
- CPVO-TP/016/2 (2013), "Protocol for distinctness, uniformity and stability tests", *Oryza sativa*, Rice.
- DM 01 ottobre 2015, GU n. 271 del 20-11-15, Denominazione delle varietà di risone e delle corrispondenti varietà di riso per l'annata agraria 2015/2016.
- ERSAF, Regione Lombardia, Ente Nazionale Risi (2011), "Progetto Grandi Colture e Reti dimostrative Cerealicole - Riso 2011", Quaderno della Ricerca.
- ERSAF, Regione Lombardia, Ente Nazionale Risi (2011), "Caratterizzazione sensoriale e chimico-merceologica di riso", Quaderno della Ricerca.
- Fitzgerald M.A., Bergman C. J., Resurreccion A.P., Möller J., Jimenez R., Reinke R.F., Martin M., Blanco P., Molina F., Chen M-H, Kuri V., Romero M.V., Habibi F., Umemoto T., Jongdee S., Graterol E., Reddy K.R., Bassinello P.Z., Sivakami R., Rani N.S., Das S., Wang Y.J., Indrasari S.D., Ramli A., Ahmad R., Dipti S.S., Xie L., Lang N.T., Singh P., Toro D.C., Tavasoli F., Mestres C. (2009), "Addressing the dilemmas of measuring amylose in rice", *Cereal Chemistry*, 86 (5): 492-498.
- Furukawa S., Tanaka K., Masumura T., Ogihara Y., Kiyokawa Y., Wakay Y. (2006), "Influence of Rice Proteins on eating quality of cooked rice and on aroma and flavor of Sake", *Cereal Chemistry*, 83: 439-446.
- Kadan K.S., Champagne E.T., Ziegler G.M., Richard O.A. (1997), "Amylose and protein contents of rice cultivars as related to texture of rice-based fries", *Journal of Food Science*, 62: 701-703.
- ISO 712:2009, "Cereals and cereal products - Determination of moisture content -- Reference method".
- ISO 6647:2015, "Rice - Determination of amylose content".
- ISO 20483:2006, "Cereals and pulses - Determination of the nitrogen content and calculation of the crude protein content - Kjeldahl method".
- Laboratorio Chimico Merceologico (ENR) - MP14 rev.06 (2010), "Riso - Determinazione della collosità dei grani dopo cottura", Metodo Interno.
- Laboratorio Chimico Merceologico (ENR) - MP13 rev.03 (2011), "Riso - Determinazione dei grani cristallini e perlato", Metodo Interno.
- Laboratorio Chimico Merceologico (ENR) - MP23 rev.02 (2011), "Riso - Valutazione dell'aroma", Metodo Interno.
- Losi E. (2015), "La filiera del riso si confronta sul collocamento della produzione", *Il Risicolto*, dicembre 2015, pp. 4-5.
- Lyon B.G., Champagne E.T., Vinyard B.T., Windham W.R., Barton F.E., Webb B.D., McClung A.M., Moldenhauer K.A., Linscombe S., McKenzie K.S., Kohlwey D.E. (1999), "Effects of degree of milling, drying condition, and final moisture content on sensory texture of cooked rice", *Cereal Chemistry*, 76: 56-62.
- Martin M., Fitzgerald M.A. (2002), "Proteins in rice grains influence cooking properties", *Journal of Cereal Science*, 36: 285-294.
- Meullenet J.C., Gross J., Marks B.P., Daniels M. (1998), "Sensory descriptive texture analysis of cooked rice and its correlation to instrumental parameters using an extrusion cell", *Cereal Chemistry*, 75: 714-720.
- MIPAAF, "Catalogo delle varietà delle specie di piante agricole", anno 2012.
- Ranghino F. (1966), "Valutazione della resistenza del riso alla cottura, in base al tempo di gelatinizzazione dei granelli", *Il Riso*, XV: 117-127.
- Reg. CEE 1234/2007 del 22 ottobre 2007, "Organizzazione comune dei mercati agricoli e disposizioni specifiche per taluni prodotti agricoli (regolamento unico OCM)".
- Roletto E., Castino M. (1991), "Statistica Applicata", Ed. Piccin.

- Sicheri G., Martinotti M., (2009), "Rice is Health for All", Litocopy Vercelli.
- Simonelli C., Cormegna M., Galassi L., Bianchi P. (2013), "Cooking time and gelatinization time of rice Italian varieties", *La Rivista di Scienze dell'Alimentazione*, anno 42, n° 2.
- Singh N., Sodhi N.S., Kaur M., Saxena S.K. (2003), "Physicochemical, morphological, thermal, cooking and textural properties of chalky and translucent rice kernels", *Food Chemistry*, 82: 433-439.
- Singh N., Kaur L., Sodhi N.S., Sekhon K.S. (2005), "Physicochemical, cooking and textural properties of milled rice from different Indian rice cultivars", *Food Chemistry*, 89: 253-259.
- Suwannaporn A., Pitiphunpong S., Champangern S. (2007), "Classification of rice amylose content by discriminant analysis of physicochemical properties", *Starch/Stärke*, 59, 171-177.
- Tinarelli A. (1999), "Appunti di Merceologia - Il Riso nelle sue caratteristiche e Qualità", Ed. Saviolo.
- UNI EN ISO 520:2011, "Cereali e legume - Determinazione della massa dei 1000 grani".
- UNI EN ISO 6647-1:2008, "Riso - Determinazione del contenuto di amilosio. Parte 1: metodo di riferimento".
- UNI EN ISO 11746:2012, "Riso - Determinazione delle caratteristiche biometriche dei grani".
- UNI EN ISO 11747:2012, "Riso - Determinazione della resistenza alla estrusione del riso dopo cottura".
- UNI ISO 14864:2004, "Riso - Valutazione del tempo di gelatinizzazione dei grani durante la cottura".
- Wani A.A., Singh P., Shah M.A., Scweigert-Weisz U., Gul K., Wani I.A. (2012), "Rice starch diversity: effects on structural, morphological, thermal and physicochemical properties - a review", *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety*, 11: 417-436.
- Yamamoto H., Makita E., Oki Y., Otani M. (2004), "Flow characteristics and gelatinization kinetics of rice starch under strong alkali conditions".
- Zhou Z., Robards K., Helliwell S., Blanchard C. (2001), "Ageing of Stored Rice: Changes in Chemical and Physical Attributes", *Journal of Cereal Science* 33.
- www.risoitaliano.org.
- www.enterisi.it.
- www.knowledgebank.irri.org.

Il microbiota umano: funzioni biologiche e interrelazioni con lo stile di vita e alimentare

S. Pacelli¹, E. Torti¹, N. Merendino^{1,2}

¹ Department of Ecological and Biological Sciences (DEB), University of Tuscia, Largo dell'Università snc, 01100 Viterbo (Italy)

² Corresponding author: Nicolò Merendino, Laboratory of Cellular and Molecular Nutrition, Department of Ecological and Biological Sciences, University of Tuscia, Largo dell'Università, 01100 Viterbo, Italy; Tel.: +39-0761-357133; fax: +39-0761357751. E-mail address: merendin@unitus.it

Riassunto

Il microbiota umano è l'insieme dei microrganismi simbiotici (virus, batteri, archea) che abitano l'organismo umano, distribuiti in molti tessuti e organi: dalla pelle alla cavità orale, dagli organi genitali ai diversi tratti delle vie aeree; inoltre ultime ricerche hanno evidenziato un microbiota anche in zone considerate sterili fino a qualche anno fa, come mammella e vescica. Il microbiota non è stabile nel corso della vita, ma subisce delle modificazioni, legate al periodo di vita e ovviamente all'alimentazione del soggetto. Il microbiota assolve numerose funzioni come: produzione di metaboliti, regolazione dell'assorbimento di diversi minerali, regolazione del sistema immunitario. Inoltre il microbiota sembra essere implicato in molte patologie, da quelle neurodegenerative a quelle metaboliche, sino al cancro. In questo lavoro di revisione abbiamo preso in considerazione l'insieme dell'ecosistema microbico umano e come esso possa essere modulato da differenti abitudini di vita e stili alimentari.

Parole chiave: Microbioma, Microbiota, Disbiosi, Sistema Immunitario, Probiotici.

Abstract

Human microbiota is the totality of the symbiotic microorganisms (virus, bacteria, archea) dwelling in the human body. They are located in a lot of tissue and organs: from skin to oral cavity, from sex organ to different portions of the breathing apparatus. New researches highlighted that microbiota is present also in areas evaluated sterile till few years ago, like breast and bladder. Microbiota undergoes some alterations during life, connected with life's phase and obviously to the nutrition of the subject. Microbiota performs copious functions as: production of metabolites, control of absorption of some minerals and regulation of immune system. Moreover some researches are declaring that it is involved in many pathologies, from neurodegenerative disease to metabolic disease, to cancer.

In this work of review, we evaluated the human microbic ecosystem and searched how it could be modulated by various lifestyles and nutrition ways.

Keywords: Microbiome, Microbiota, Gut dysbiosis, Immune System, Prebiotics.

Introduzione

Tutti i mammiferi, fin dalla loro comparsa sulla terra, hanno stretto alleanze simbiotiche vitali con i microrganismi attraverso un lunghissimo e costante processo di co-evoluzione. Anche l'uomo ha uno stretto rapporto con i microrganismi e questo, negli ultimi anni, sta acquisendo una valenza molto più ampia rispetto al vecchio concetto di contaminazione e sterilità. Se si considera che ognuno di noi è composto da circa 40 trilioni di cellule umane (Bianconi *et al.*, 2013) e circa 22.000 geni umani (Petrea *et al.*, 2010) ma ben 100 trilioni di cellule microbiche (Savage, 1977) e 2 milioni di geni microbici (Turnbaugh *et al.*, 2007) questo rende ancora più evidente l'importanza che hanno questi microorganismi nel nostro sistema biologico.

Molti studi hanno dimostrato che questi simbiotici sembrano svolgere un ruolo chiave nel regolare alcune importanti funzioni metaboliche e fisiologiche dell'ospite contribuendo all'omeostasi nel corso della vita (Tojo R., 2014). Inoltre disfunzioni nell'equilibrio tra questi microrganismi (disbiosi) sembrano essere causa d'importanti patologie come, ad esempio, la sindrome metabolica, patologie legate a disfunzioni immunologiche e tumori.

In questa revisione della letteratura scientifica prenderemo in considerazione l'insieme dell'ecosistema microbico umano e come esso possa essere modulato da differenti abitudini di vita e stili alimentari.

Il microbioma e il microbiota

Ogni distretto non sterile del nostro corpo è colonizzato da batteri, il pool dei microbi che convive nel nostro corpo è conosciuto con il termine di "microbiota", mentre il loro rispettivo genoma viene definito "microbioma". I phyla batterici Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria e Fusobacteria sono quelli che predominano in tutto il corpo. La relativa abbondanza tra questi phyla, varia tra i differenti siti del corpo e fra gli individui, in funzione

dell'età, della dieta e della distribuzione geografica (Yatsunenkeno T., 2012; Ursell L.K., 2012).

Il colon è l'organo del corpo umano più densamente popolato di microrganismi, in esso infatti, si riscontra il più alto numero di unità tassonomiche e contenuti genetici osservati nei campioni di feci (Methé B.A., 2012). La sola popolazione intestinale è costituita principalmente da oltre 4000 diverse specie batteriche, arrivando a 10^{14} cellule microbiche, che, come accennato precedentemente, è un numero circa 10 volte superiore a quello delle cellule umane del corpo. La densità raggiunge i livelli massimi nella porzione distale del colon, con una concentrazione di circa 10^{11} batteri/grammo di contenuto enterico, mentre una porzione più piccola è rappresentata da virus, miceti e archea (Ley R.E., 2006). La maggior parte del microbiota, nel tratto gastrointestinale (GI) è rappresentato da batteri anaerobi e, sebbene siano stati descritti più di 50 phyla batterici, sono 4 quelli che predominano: Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria e Proteobacteria. I primi due phyla sono presenti per oltre il 90% (Aroniadis O.C., 2014).

Altre zone, come pelle, mucosa vaginale o tratto respiratorio ospitano un proprio microbiota e più recentemente, alcune ricerche stanno evidenziando la presenza di microbi anche in zone come: ghiandola mammaria (Urbaniak C., 2014), rene (Whiteside S.A., 2015), vescica e uretra (Whiteside S.A., 2015), organi nei quali è stata riscontrata la presenza di microrganismi dagli effetti positivi sulla salute urologica e alcuni batteri sono stati utilizzati nella prevenzione del cancro alla vescica (Whiteside S.A., 2015).

Ruolo del microbioma in alcune delle patologie umane

L'intero microbiota ha un significativo effetto su molti aspetti della fisiologia umana: metabolismo e assorbimento di nutrienti, funzione di barriera, immunostimolazione e immunotolleranza, sintesi di vitamine, digestione e metabolismo di farmaci e tossine.

Sebbene ogni individuo abbia il suo caratteristico microbiota, tutti i soggetti hanno un pattern comune che probabilmente determina la risposta individuale alla dieta, alle terapie farmacologiche (Aziz Q., 2013) e la suscettibilità a sviluppare specifiche patologie (Bong-Soo K., 2013).

Ad esempio, alcune ricerche scientifiche, indicano che l'esposizione precoce agli antibiotici (i quali sono in grado di influenzare la composizione del microbiota) aumenterebbe il rischio di sviluppare allergie, asma e IBD (inflammatory bowel disease) (Kozyrskyj A.L., 2007; Hviid A., 2011; Russel S.L., 2012). Sebbene gli antibiotici siano i trattamenti più efficaci per le infezioni batteriche, il loro uso pone il rischio all'aumento della resistenza agli antibiotici stessi e indirettamente influenza i batteri non target (Jernberg C., 2010). Inoltre, un recupero incompleto del microbiota intestinale dopo l'esposizione agli antibiotici potrebbe influenzare l'omeostasi intestinale (Jernberg C., 2010; Dethlefsen L., 2011). Un esperimento effettuato su topi ha dimostrato che l'efficacia della terapia con ciclofosfamide (CP) è microbiota-dipendente. Il CP è un farmaco usato per patologie autoimmunitarie, cancro, trapianti di midollo e trasfusioni. I risultati di questo esperimento hanno mostrato che il trattamento con CP diminuiva la porzione di *Bacteroidetes* e aumentava quella dei *Firmicutes*.

Un'altra importante considerazione è che il microbiota è in grado di influenzare la concentrazione di minerali essenziali, come calcio, magnesio e ferro, quest'ultimo importante per il corretto funzionamento del sistema immunitario e come micronutriente per i batteri stessi. I commensali intestinali inoltre possono sintetizzare vitamine coinvolte nei diversi pathways metabolici, come le vitamine B12, B5, B3, biotina, tetraidrofolati e vitamina K (Andrew L. Kau, 2013). Cambiamenti nell'ecosistema microbico sono stati indicati come cruciali per lo sviluppo di molte patologie come diabete, obesità, malattie infiammatorie, sindrome metabolica ed alcune fra le patologie neurodegenerative e neurologiche (Candela M., 2014).

Uno dei sistemi maggiormente influenzati dal microbioma è il sistema immunitario. Questa influenza può avvenire sia direttamente nell'intestino, dove essi risiedono, e, in alcuni casi, si è dimostrato che riescono influenzare anche la risposta sistemica, ovvero nei comparti periferici del nostro organismo (e quindi non dove risiedono i batteri).

La mucosa intestinale assicura un'importante difesa immunitaria in virtù del tessuto linfoide associato all'intestino (GALT) il quale è uno dei tessuti immunologici più estesi del corpo. Il GALT si compone di varie strutture specializzate contro i patogeni, come plasmacellule capaci di secernere alte quantità di IgA, linfociti T (CD4, CD8), linfonodi mesenterici e noduli linfoidei singoli e aggregati. Il GALT protegge la mucosa dai patogeni attraverso due meccanismi: il primo è una risposta immunitaria aspecifica, mediata dai linfociti B che producono IgA in grado di riconoscere e rimuovere gli antigeni (Ag) dalla mucosa, senza attivare la risposta infiammatoria. Se gli Ag sfuggono alla prima linea di difesa e raggiungono la lamina propria, si attiva la risposta infiammatoria attraverso la secrezione di IgG e mediate l'attivazione del complemento. I linfociti T sono gli effettori cellulari che regolano la risposta immunitaria attraverso le citochine e la secrezione di chemochine, includendo le cellule T helper (Th) che si suddividono in due classi: Th1, Th2, cellule T citotossiche e T regolatorie. Inoltre l'intestino, considerando la grande quantità di antigeni con cui costantemente viene in contatto, ha sviluppato il meccanismo della tolleranza orale indotta per evitare ipersensibilità contro sostanze innocue, come cibo e Ag della flora intestinale (Britti M.S., 2006). Tutte le recenti ricerche stanno evidenziando che il microbiota intestinale può influenzare sia l'immunità innata che quella acquisita e perfino la tolleranza orale.

Tra le funzioni del microbiota, prima tra tutte collochiamo quella di protezione contro i patogeni, questa avviene mediante diversi meccanismi d'azione:

- 1) Mediante il "crowding out" e adesione alla mucosa e quindi attivando un'inibizione da contatto riguardo ai batteri patogeni (Louis P., 2010).
- 2) Attraverso l'elaborazione e la secrezione di peptidi antimicrobici (batteriocine e defensine), (Louis P., 2010).
- 3) Mediante un'azione favorente l'integrità dell'epitelio intestinale, infatti, affinché venga mantenuta la funzione di barriera intestinale, è necessario mantenere inalterato l'epitelio intestinale ed in particolare le *tight junctions*, le quali si oppongono fisicamente all'ingresso dei patogeni. Accanto alle *tight junctions*, riveste notevole importanza il layer mucoso, prodotto dalle goblet cells gastrointestinali, il quale coadiuva al mantenimento della funzione di barriera. Lo spessore di questo strato è relativamente costante, grazie all'equilibrio tra sintesi, secrezione e degradazione di muco, modulato a sua volta dagli enzimi glicosidasi e proteasi del microbiota intestinale. Nel layer mucoso esiste una "zona esterna" (*outer layer*), dove coabita il microbiota e una "zona interna" (*inner layer*), con funzione protettiva vera e propria. Le condizioni patologiche che favoriscono la circolazione dei batteri dalla zona esterna a quella interna, danneggiano la barriera interna, e quindi la funzione protettiva viene a mancare, soprattutto quando si tratta di batteri patogeni e non di semplici commensali che invece ne favoriscono l'integrità.
- 4) Attraverso la modulazione delle immunoglobuline della classe A (Marietta E., 2015).

Batteri anaerobi intestinali, fermentando i carboidrati complessi non digeribili, introdotti con la dieta, sono in grado di produrre dei metaboliti come gli acidi grassi a catena corta (SCFAs), tra i quali troviamo: butirrato, propionato e acetato. Piccole quantità di tali metaboliti sono stati riscontrati anche nel flusso sanguigno. Alcuni studi hanno dimostrato che butirrato, propionato influenzano la sensibilità all'insulina, mentre altri SCFAs costituiscono una fonte energetica per le cellule dell'epitelio intestinale (Cani P.D., 2013). Gli SCFAs controllano anche alcuni aspetti della risposta immunitaria, promuovendo

l'integrità della barriera intestinale. Il butirrato, è ben conosciuto come regolatore epigenetico dell'espressione genica attraverso l'inibizione dell'istone deacetilasi (HDACs) e la promozione dell'ipermetilazione degli istoni (Davie JR, 2003), meccanismo che sta alla base della produzione di cellule T regolatorie (T_{reg} cells), infatti il butirrato, prodotto a sua volta da commensali intestinali, precisamente dalla classe dei *Clostridia*, appartenenti al phylum dei Firmicutes, induce la differenziazione delle T_{reg} cells nel colon (Furusawa Y., 2013), le quali sono coinvolte nel contenere un eccesso di risposta infiammatoria (e quindi nelle malattie autoimmuni) e dall'inibizione diretta dell'attivazione di macrofagi e neutrofili (Maslowski K.M., 2009; Arpaia N., 2013; Furusawa Y., 2013; Smith P.M., 2013). I commensali residenti nel GI sono capaci di indurre l'attivazione delle cellule T, consentendo la tolleranza immunogenica (Guarnier F., 2006; MacDonald T.T., 2011; Konieczna P., 2012). L'acetato è in grado di contenere l'infiammazione intestinale attraverso il recettore accoppiato alla G protein (Gpr 43).

Il microbiota intestinale è quindi in costante equilibrio con il sistema immunitario ma se avviene una rottura a livello dei meccanismi regolatori dell'omeostasi, s'instaurano una serie di condizioni infiammatorie croniche caratterizzate da un danno alla parete gastrointestinale. Le due maggiori forme cliniche sono rappresentate da: Morbo di Crohn (CD) e Colite Ulcerativa (UC). Uno squilibrio tra microbiota e sistema immunitario è stato riscontrato anche tra le patologie a carattere autoimmune come la patologia infiammatoria nota con il termine inglese inflammatory bowel disease (IBD). L'eziologia dell'IBD è complessa e si pensa essere la conseguenza di fattori genetici, fattori ambientali e ma anche a una disbiosi che porta ad una disfunzione del sistema immunitario (Maloy K.J., 2011). Nell'IBD si osservano notevoli cambiamenti nella composizione del microbiota. Inoltre, numerosi studi hanno dimostrato che sia CD che UC sono associati ad una riduzione della complessità dei

commensali, accompagnati da una disbiosi: sia nella CD che nella UC sono compromessi i phyla dei Proteobacteria e, in particolare, dalla famiglia delle *Enterobacteriaceae* (Frank D.N., 2007). Soprattutto nel morbo di Crohn è stata osservata un'associazione con alcuni commensali a carattere infiammatorio, assottigliando la linea di confine tra commensale e patogeno. Ne sono un esempio *E. coli*, *Yersinia*, e *Clostridium difficile*, batteri altamente invasivi e comuni ai pazienti Crohn che sembrano essere i batteri chiave per l'IBD (Lamps L.W., 2003; Rohlhion N., 2007; Issa M., 2008;). È stato visto che questi commensali contribuiscono alla malattia grazie alla loro capacità di invadere e innescare la risposta immunitaria sia di tipo innato che adattativo (Packey C.D., 2008; Elson C.O., 2012). Infatti nel siero dei pazienti Crohn, spesso vengono ritrovati anticorpi contro antigeni del microbiota (Lodes M.J., 2004; Dubinsky M.C., 2006). Uno studio ha dimostrato che nei pazienti IBD c'è una riduzione dei batteri del phylum dei Firmicutes e, in particolare, la classe dei *Clostridia* (Frank D.N., 2007). Ciò è importante perché questa classe batterica è in grado di attivare i linfociti T_{regs} del colon, coinvolti nell'infiammazione del colon stesso (Atarashi K., 2013).

Tra le patologie autoimmuni anche l'artrite reumatoide (RA), che è caratterizzata dall'invasione delle cellule immunitarie a livello delle giunzioni articolari, sembra essere in qualche modo collegata al microbiota umano. Tra gli agenti infettanti della RA, riscontrati in molte etnie, compaiono: *Proteus mirabilis*, specifici *Escherichia coli*, *Mycoplasma fermentans*, *Klebsiella pneumoniae* e *Porphyromonas gingivalis* (de Pablo P., 2008; Newkirk M.M., 2010; Ebringer A., 2010; Sato N., 2010; Sato N., 2011). Studi condotti su animali da laboratorio hanno dimostrato che alcuni commensali sono coinvolti nella patogenesi dell'artrite reumatoide (Wu H.J., 2010) e l'analisi del microbioma di pazienti affetti da artrite ha rivelato una relazione tra la patologia e il clade potenzialmente infiammatorio delle *Prevotellaceae* (Belkaid Y., 2014).

Anche nel cancro c'è un'associazione tra alcuni ceppi microbici e stato del cancro. Lo stesso ceppo potrebbe essere patogeno oppure conferire protezione, in base alla sua localizzazione e al background genetico dell'host, come è noto ormai per *Helicobacter Pylori* (Atherton J.C., 2009). Forse la prima indicazione che il microbiota commensale potrebbe guidare lo sviluppo del cancro è stata fornita dalle osservazioni sulle ulcere gastriche e successivo cancro allo stomaco, causati dalla presenza di un solo tipo di batterio: *Helicobacter pylori* (Marshall B.J., 1984). Senz'altro, il cancro intestinale è legato all'infiammazione del tratto GI, ed i commensali guidano l'attivazione immunitaria, la quale è un'importante fattore per l'eziologia di questa patologia (Grivennikov S.I. and Karin, 2010). La progressione del cancro al colon può essere innescata dai radicali superossido che danneggiano il DNA, così come le genotossine, entrambi prodotti dai microbi intestinali (mucosa associati). Indirettamente, i batteri possono indurre proliferazione cellulare o pathways pro-carcinogenici attraverso cellule T-helper o recettori Toll-like (Andrew L. Kau, 2013). Studi hanno evidenziato marcate differenze nel microbioma di pazienti con cancro rispetto ai controlli sani, soprattutto a livello di alcuni ceppi. Nei pazienti con cancro al colon prevale la popolazione di *E. Coli* che induce coliti e sintesi di colibactin e in tal modo promuove prima l'infiammazione e successivamente il cancro (Wynendaele E., 2015). In un tale contesto, IBD e, in particolare, CD sono strettamente associate allo sviluppo di cancro al colon (Elinav E., 2011). Anche nel cancro al fegato è stata riportata un'associazione con il microbiota (Yoshimoto S., 2013). Numerosi lavori si sono occupati di approfondire il legame disbiosi-cancro, soprattutto per quanto riguarda le neoplasie del tratto gastrointestinale, nelle quali è noto che alcuni enterotipi (*Prevotella*, *Bacteroides Fragilis*, appartenenti al phylum dei *Fusobacteria*), sono coinvolti sia nella tumorigenesi che nella progressione del tumore.

La definizione di Sindrome Metabolica include: obesità, disordini, dell'omeostasi del gluco-

sio, (es. diabete di II tipo, intolleranza al glucosio e resistenza all'insulina), disordini dell'omeostasi dei lipidi (es. dislipidemia) e fattori di rischio per malattie cardiovascolari (es., ipertensione e fibrinolitici), che sono relativi all'aumento dell'adiposità ed a uno stile di vita sedentario. Un filo conduttore tra queste malattie sembra essere lo stato infiammatorio che sta alla base di esse, ed il microbioma ha un potenziale ruolo come fattore patogeno, in quanto riesce a influenzare l'equilibrio metabolico e lo stato della malattia (Cani P.D., 2007). Il diabete di II tipo (T2D) è una condizione infiammatoria nella quale aumenta l'adiposità e i difetti metabolici guidano la produzione di citochine infiammatorie, come TNF- α e IL-1 (Gregor M.F., 2011), queste citochine infiammatorie inibiscono il segnale dell'insulina, portando alla resistenza ed all'aumento dello zucchero nel sangue (Osborn O., 2012). Il microbiota contribuisce al diabete di tipo 2 in vari modi: è coinvolto nel meccanismo di deposito del grasso e nello sviluppo del basso grado infiammatorio, ha la capacità di modulare le vie di segnalazione dell'ospite che influenzano l'equilibrio energetico ed il metabolismo (coinvolte nel deposito di grasso, infatti il microbiota riesce ad aumentare l'energia proveniente dalla dieta). Alterazioni nella barriera intestinale portano alla distruzione della relazione simbiotica tra ospite e microbiota intestinale, favorendo l'instaurarsi di patologie. Uno dei meccanismi chiave implicato nello sviluppo precoce dell'infiammazione, potrebbe essere quello del LPS e delle malattie metaboliche. I livelli sierici di LPS (endotossiemia) sono circa il doppio nei soggetti obesi, diabetici e soggetti con una dieta ricca in grassi. L'aumento del LPS potrebbe verificarsi attraverso dei processi che implicano un aumento della formazione dei chilomicroni (alimentazione ricca di grassi), una riduzione dell'integrità della barriera intestinale e/o una diminuzione dell'attività della fosfatasi alcalina, enzima responsabile del taglio del LPS nell'intestino (Delzenne N.M., 2013). Anche uno squilibrio nei rapporti tra i due phyla dominanti: Firmicutes e Bacteroidetes sembra essere im-

plicato nello sviluppo del diabete di tipo II. Un aumento del genere dei Bacteroides e Prevotella è stato associato ad una diminuzione proporzionale dei Firmicutes e della classe dei Clostridia, rispetto ai gruppi di controllo (Larsen N., 2010). Studi condotti sull'uomo hanno rivelato che avvengono dei cambiamenti nel genere o nelle specie associate con obesità e diabete di II tipo. L'abbondanza di Bifidobacterium sembra essere più bassa nei soggetti in sovrappeso, o nei pazienti diabetici, rispetto ai soggetti magri (Wu X., 2010; Schwiertz A., 2010). Altre specie diminuiscono nel diabete di II tipo, come Faecalibacterium *prausnitzii* (Furet J.P., 2010). Bifidobacterium e Faecalibacterium *prausnitzii* sono correlati con effetti anti-infiammatori (Everard A., 2013). Un recente studio ha definito il ruolo protettivo del batterio Akkermansia muciniphila contro lo sviluppo di malattie metaboliche (Everard A., 2013). Questo batterio appartiene al phylum Verrucomicrobia, ed è un batterio muco-degradante, localizzato nello strato mucoso, è presente dall'1%-4% nella popolazione batterica del colon (Belzer C., 2012). L'abbondanza di questo batterio muco-degradante è inversamente correlata al peso corporeo sia nell'uomo che nei roditori (Everard A., 2013), mentre è negativamente associato sia al diabete di primo tipo (Hansen C.H., 2012) che di II tipo (Qin J., 2012). La normalizzazione dell'abbondanza di A. muciniphila attraverso l'uso di prebiotici correla con un miglioramento del profilo metabolico, riduzione della massa grassa, dell'endotossiemia metabolica, del tessuto adiposo, dell'infiammazione del tessuto adiposo e della resistenza all'insulina. Inoltre, sembra che la somministrazione di A. muciniphila porti ad un aumento dei livelli intestinali di endocannabinoidi che controllano l'infiammazione, l'integrità della barriera intestinale, e la secrezione di peptide intestinale (Everard A., 2013). Dunque, il microbiota intestinale è in grado di promuovere e sviluppare resistenza all'insulina e al diabete attraverso l'induzione dell'endotossiemia metabolica. Batteri con potenziali proprietà anti-infiammatorie, come A. muciniphila, Bifidobacte-

ria e Lactobacilli, esercitano un ruolo protettivo attraverso un potenziamento della funzione della barriera intestinale e prevenendo la traslocazione batterica (Festi D., 2014).

Un altro importante comparto che può essere in stretta relazione con il microbioma è il sistema nervoso. Il Sistema Nervoso Centrale (SNC) può influenzare il microbioma intestinale attraverso pathways neurali ed endocrini sia in maniera diretta che indiretta (Wang Y., 2014). Il SNC modula il tratto GI e il sistema nervoso enterico (ENS) attraverso le vie simpatiche e parasimpatiche del sistema nervoso autonomo (ANS), come pure attraverso l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene-(HPA), che modula la capacità di adattamento allo stress. Queste, influenzano il SNC che può, indirettamente, influenzare il microbiota enterico, attraverso alterazioni ambientali e direttamente attraverso un grande numero di molecole segnale. Entrambe le vie dell'ANS regolano le funzioni intestinali, come per esempio, la motilità e la secrezione di acido, produzione di bicarbonato e muco, il mantenimento del fluido epiteliale, permeabilità dell'intestino, e risposta immunitaria mucosale (Mayer E.A., 2015). Il gut brain axis provvede alla via di comunicazione omeostatica attraverso segnali immunologici, ormonali e neuronali. Una disfunzione di questo asse è stata associata alla patogenesi di alcune patologie sia dentro che fuori il tratto gastrointestinale. Molto studiate sono le patologie che coinvolgono il SNC, come i disordini dello spettro autistico (ASD) e patologie neurodegenerative come la malattia di Alzheimer. Sintomi gastrointestinali sono una comune comorbidità in pazienti con ASD nonostante i meccanismi di base non siano stati ancora chiariti. Le alterazioni nella composizione e nei prodotti metabolici del microbiota intestinale, sono state a lungo implicate come un possibile meccanismo coinvolto nella patofisiologia dell'ASD, e questa ipotesi è stata supportata dalle ultime ricerche su modelli di autismo (nel roditore) indotto prenatalmente alla madre. Studi su tali modelli hanno evidenziato infezioni materne implicate nelle alterazioni del

comportamento, nella fisiologia intestinale, nella composizione microbica e nel relativo profilo metabolico, suggerendo un possibile beneficio dal trattamento con probiotici su alcuni comportamenti anomali osservati (Mayer E.A., 2014). Anche nell'autismo si manifesta uno squilibrio tra Bacteroides e Firmicutes, ovvero si osserva un aumento dei Bacteroides e parallelamente una diminuzione dei Firmicutes (Iebba V., 2011), come osservato anche in IBD e nella malattia celiaca. I sintomi della malattia di Alzheimer (AD) iniziano con la perdita della capacità di formare nuovi ricordi, portando poi alla confusione. I cambiamenti neuro-patologici associati con AD sono simili, sia per la forma sporadica che per quella familiare. La malattia di Alzheimer influenza molte aree del cervello, includendo l'ippocampo, corteccia parietale, temporale e frontale. Le caratteristiche neuropatologiche distintive sono le placche amiloidi e i grovigli neurofibrillari che si trovano spesso in queste aree a più alta densità rispetto a quelle osservate nei cervelli dei soggetti cognitivamente normali per età. Il lavoro di Miklosy nel 1990 ha evidenziato il coinvolgimento di diversi tipi di Spirochetes nell'AD includendo specie orali, intestinali, o specie ancora non caratterizzate, e le zecche portate da *Borrelia burgdorferi* (Miklosy J., 1993; Miklosy J., 1995). Nel 2011, Miklosy pubblica una review indicando che i batteri orali sono presenti con una densità 7 volte più alta e con una maggiore varietà nel cervello di pazienti AD, comparato ai normali controlli cognitivi. Recenti ricerche suggeriscono che certi phyla batterici come *Porphyromonas gingivalis*, in questo caso anaerobi orali, sono stati strettamente associati con AD, (Riviere G.R., 2002; Miklosy J., 2011; Branton W.G., 2013; Poole S., 2013). Infatti nei pazienti AD sono stati ritrovati anticorpi contro batteri orali con un rapporto di 6-1 per i pazienti AD rispetto ai controlli. I ricercatori hanno suggerito che questo potrebbe essere usato come strumento sia per la diagnosi e la prevenzione sia per la terapia (Kamer A.R., 2009).

L'accordo, fra gli studiosi, è che la diversità

microbica è ridotta nei soggetti anziani, (sebbene esista) ma esiste una stabilità temporale. I due phyla dominanti nei gruppi di età più giovane rimangono Bacteroides e Firmicutes, e, possibili cambiamenti nel rapporto tra questi phyla, sono evidenti nell'età avanzata e per questo sono ancora oggetto di studio. C'è un trend verso una prominente presenza di batteri potenzialmente patogeni (patobionti) a spese di batteri benefici (simbionti). Questo si rispecchia in un aumento dell'abbondanza dei Proteobacteria e nella riduzione delle specie di Bifidobacteria. Esiste una riduzione connessa all'età, della produzione di acidi grassi a catena corta, del butirrato particolarmente importante, soprattutto per il mantenimento dell'integrità dell'epitelio intestinale e nell'infiammazione. I cambiamenti nella composizione microbica e nel metabolismo sono consistenti con il concetto di inflamm-aging (Franceschi C., 2000), il quale implica un'infiammazione di basso grado come base comune per l'ampio spettro di patologie dell'invecchiamento, includendo il declino cognitivo (Caracciolo B., 2014).

Microbioma, alimentazione e stile di vita

La composizione del microbioma intestinale può essere molto instabile poiché suscettibile sia allo stile di vita (dieta sbilanciata, alcool, stress), sia alle infezioni patogene; accanto a questo, non manca l'aspetto genetico dell'individuo.

La colonizzazione dell'intestino inizia alla nascita, infatti l'intestino del feto all'interno dell'utero è sterile e la prima "contaminazione" è ad opera di batteri anaerobi facoltativi. Successivamente una serie di fattori come: tipo di allattamento (al seno o latte artificiale), svezzamento e uso frequente di antibiotici entro i primi 3 anni di vita, influenzano la formazione e lo sviluppo del microbiota (Nicholson J.K., 2012). Anche la modalità del parto influenza la "diversità" del microbiota intestinale sia in termini di uniformità, di abbondanza nonché in composizione. Nel parto naturale avviene il primo contatto con *Bifi-*

dobacterium sp, *Bacteroides sp*, *E. Coli*, provenienti dall'intestino della madre, poiché spesso esso è accompagnato da defecazione materna. Tali batteri saranno i primi a colonizzare l'intestino del neonato, creando un ambiente di anaerobiosi per la successiva colonizzazione da parte di anaerobi stretti (Thompson-Chagoyan O.C., 2007). Nei neonati da parto cesareo sono stati riscontrati classi batteriche diverse rispetto ai nati da parto naturale, infatti il loro microbiota primordiale si compone maggiormente di *E. Coli*, Clostridia e batteri gram-negativi (Musilova S., 2015); la colonizzazione da parte dei Lactobacilli inizia dopo 10 giorni e quella da parte dei *Bifidobacteria* anche dopo 1 mese (Gronlund M.M., 1999). Basandosi su metodiche di coltura batterica, Gronlund *et al.* hanno trovato che i nati da parto naturale erano più spesso colonizzati da *Bacteroides fragilis* rispetto ai nati da parto cesareo (Gronlund M.M., 1999); altri autori hanno evidenziato *Escherichia Coli* come il più prevalente tra i nati da parto naturale, mentre l'uso di un approccio molecolare ha evidenziato come batterio dominante il *Bifidobacterium* (Dong L., 2015). In uno studio, usando una clone library del 16S rDNA, i batteri dominanti nei bambini nati da parto naturale erano *Acinetobacter sp*, *Bifidobacterium sp* e *Staphylococcus sp*, mentre *Citrobacter sp*, *E. Coli*, e *Clostridium difficile* erano più comuni nei bambini nati da parto cesareo (Pandey P.K., 2012). Dominguez-Bello *et al.* hanno studiato il microbiota del meconio dei neonati da parto naturale tramite pirosequenziamento, dimostrando una più alta presenza di *Lactobacillus*, *Prevotella* and *Sneathia spp*; mentre sono stati rilevati *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, e *Propionibacterium spp* nel meconio dei neonati da parto cesareo (Dominguez-Bello M.G., 2010). Un altro studio basato sul pirosequenziamento indicava che *Escherichia*, *Shigella* and *Bacteroides spp* erano sottorappresentati nei bambini nati da parto cesareo (Azad M.B., 2013). Nello studio pubblicato da Dong Li *et al.* nel 2015, le maggiori differenze tra i nati da parto naturale ed i nati da parto cesareo, emergevano il secondo giorno di vita per divenire più

evidenti al 4° giorno. Anaerobi facoltativi come *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp* e *Enterobacter sp* erano più prevalenti nel microbiota intestinale dei nati da parto cesareo, rispetto ai neonati da parto naturale (Dong L., 2015), confermando precedenti studi pubblicati da altri autori (Adlerberth I., 2006; Hallstrom M., 2004).

Il tipo di allattamento e successivamente lo svezzamento sono cruciali per la formazione e il consolidamento del microbiota. Infatti il genere dei *Bifidobacteria* è predominante nei neonati allattati al seno e la sua abbondanza diminuisce insieme all'aumento della diversità di altri generi, nei neonati allattati artificialmente; un microbiota simile a quello adulto inizia a svilupparsi in seguito all'introduzione dei cibi solidi (Xu J., 2003; Turnbaugh P.J., 2009). Durante il primo anno di vita, l'alimentazione è un altro fattore importante nello sviluppo del microbiota e, una volta che il bambino raggiunge i due anni di età, il microbiota ha già iniziato a subire delle trasformazioni che lo portano ad assomigliare sempre più a quello dell'adulto, il quale è considerato relativamente stabile prima di subire uno "shift" finale durante la terza età (O'toole P., 2007). Negli adulti, il microbiota intestinale sembra avere un core filogenetico dominante, individuato attraverso il sequenziamento del gene ribosomale 16S, che ha identificato come phyla dominanti: *Bacteroidetes* (Gram-negativi), *Firmicutes* e *Actinobacteria* (Gram-Positivi). Negli anziani, con l'avanzamento dell'età diminuisce la funzione immunitaria e in maniera concomitante, aumentano gli anaerobi facoltativi cambiando il rapporto fra le specie di *Bacteroides* e *Firmicutes*; nella popolazione degli ultra sessantenni è stata dimostrata una marcata diminuzione dei *Bifidobacteria* (Claesson M.J., 2011). Inoltre, negli anziani, la composizione e la diversità microbica, essendo guidate primariamente dalla dieta, che in questa fase di vita subisce notevoli modifiche, diversità e composizione influenzano in modo significativo il tono infiammatorio e lo status di salute (Claesson M.J., 2012). La dieta quindi, in tutte le fasi della vita, è considerato il

fattore ambientale che ha la maggior influenza sulla composizione e sul cambiamento delle microbiota intestinale ma non solo quello. Quindi, il microbiota intestinale è sia un target per interventi nutrizionali che un fattore che influenza l'attività biologica e la biodisponibilità di altri componenti alimentari. In effetti, come accennato precedentemente, il microbiota, oltre ad avere degli enzimi capaci di scindere carboidrati altrimenti non disponibili per l'uomo (come ad esempio i frutto oligosaccaridi, FOS), regola l'espressione di geni coinvolti nell'utilizzazione di carboidrati e lipidi. Inoltre l'attività glicosidasi presente nel microbiota del colon agisce sui glucosidi presenti nelle piante favorendo la loro biodisponibilità e l'azione benefica sull'uomo. Inoltre il microbioma favorisce il metabolismo del colesterolo e dei sali biliari. Da un punto di vista nutrizionale ci sono ancora poche indicazioni sull'effetto di specifiche diete sulla composizione del microbiota. I galatto-oligosaccaridi (GOS) e i derivati dell'inulina (FOS) sono i principali composti ad azione probiotica. I GOS sono polisaccaridi non digeribili derivati dal lattosio che si trovano naturalmente nel latte umano e consistono di catene di monomeri di galattosio. Questi prebiotici danno degli effetti benefici nel tratto gastrointestinale stimolando la crescita di specifici membri del microbiota intestinale (e.g. bifido-batteri). L'inulina e i suoi prodotti d'idrolisi (oligofruzzosi) sono fruttani legati da legami beta-(2-1) e si differenziano in base al numero di monomeri di fruttosio. L'inulina ha il più alto di unità di fruttosio (10-60) e i derivati oligofruzzosi hanno un basso numero di monomeri di fruttosio (3-7). Essi sono naturalmente presenti in vari alimenti vegetali come cipolle, asparagi, grano, carciofi ecc. Essi hanno la capacità di stimolare la crescita di batteri benefici (e.g. bifido-batteri e lattobacilli) nel colon e di aumentare la produzione di SCFAs che, come detto precedentemente, hanno numerosi effetti positivi sulla salute.

Il microbiota dell'adulto non sembra essere particolarmente ricco di geni coinvolti nel metabolismo degli acidi grassi (Kurokawa K., 2007);

tuttavia sono state riportate delle interazioni tra gli acidi grassi polinsaturi (PUFAs), il microbiota e i probiotici influenzando il metabolismo di entrambi. Studi *in vitro* sugli effetti di PUFAs (linoleico, gamma-linolenico, arachidonico, alfa-linolenico e acido docosaesaenoico) sulla crescita e adesione di diversi ceppi di *Lactobacillus* (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei* Shirota e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) hanno mostrato risultati diversi a seconda del ceppo. Elevate concentrazioni di PUFA (10-40 g/ml) hanno inibito la crescita e adesione di tutti i ceppi batterici testati, mentre basse concentrazioni di acido gamma-linolenico e acido arachidonico (5 g/ml) promossa la crescita e l'adesione di *L. casei* Shirota (Kankaanpää P.E., 2001). I PUFAs integrati nel mezzo di crescita possono anche essere utilizzati da ceppi di *Lactobacillus*, generando prodotti diversi. Ad esempio vari studi hanno dimostrato una conversione dei PUFAs in acidi Octadecanoic (18:1), loro derivati metilati (19:cyclorama), acido linoleico coniugato e proporzioni acido eicosapentaenoico. Questi risultati suggeriscono anche che *Lactobacillus* può avere un potenziale come regolatore dell'assorbimento PUFA in vivo. La somministrazione di PUFAs ha anche influenzato positivamente l'adesione del *Lactobacillus* alla mucosa digiunale di gnotobiotici suinetti, che indicano che l'assunzione di questi acidi grassi può influenzare i livelli intestinali di questo gruppo di batteri (Bomba A., 2002). Pertanto, l'evidenza suggerisce che alcuni effetti fisiologici probiotici potrebbero essere associati con le interazioni tra probiotici e PUFAs, anche se ulteriori studi sono necessari per confermare questa ipotesi in vivo.

Anche le Sostanze fitochimiche e i loro prodotti derivati possono influenzare l'ecologia intestinale. Ad esempio, l'assunzione di alimenti ricchi di flavonoidi ha dimostrato di modificare la composizione della flora intestinale, esercitano effetti simili a quelli dei prebiotici (Tzonuis X., 2008). Inoltre composti fenolici alimentari non assorbiti e i loro metaboliti hanno dimostrato di esercitare un'attività antimicrobica o batteriosta-

tica. Questi metaboliti inibiscono selettivamente la crescita dei patogeni e stimolano la crescita di batteri commensali, come accade per alcuni probiotici riconosciuti (Lee H.C., 2006), influenzando così la composizione del microbiota. Composti fenolici del tè hanno dimostrato di inibire la crescita di *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. (*perfringens* C. e C. *difficile*), *E. Coli* e *Salmonella typhimurium*. Il livello d'inibizione era collegato alla struttura chimica dei composti e specie batteriche. In questo senso, l'acido caffeico generalmente esercita un più significativo effetto inibitorio sul patogeno rispetto all'epicatechina, catechina, acido gallico 3-O-metile, e acido gallico. Un altro studio *in vitro* ha mostrato che (+) - catechina aumentato i livelli di *Clostridium coccooides-Eubacterium* e *E. Coli* al livello rettale, ma inibiscono quelle di *Clostridium histolyticum*. Gli effetti di (-) - epicatechina erano meno pronunciati aumentando la crescita del *Clostridium coccooides-Eubacterium rectale*. È interessante notare che la crescita di batteri benefici (*Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp.) è stato relativamente inalterata o addirittura favorita (Tzonuis X., 2008). Il resveratrolo, un potente antiossidante presente nel vino, favoriva l'aumento di *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e aboliva l'espressione di fattori di virulenza di *Proteus mirabilis* attraverso l'inibizione dell'invasione delle cellule uroteliali umane. Gli antociani da frutti di bosco hanno anche dimostrato di inibire la crescita di *Staphylococcus patogeni* spp., *Salmonella* spp., *Helicobacter pylori* e *Bacillus cereus*. Composti fenolici e flavonoidi possono anche ridurre la capacità di adesione di *L. rhamnosus* alle cellule epiteliali intestinali. Catechine del tè hanno anche dimostrato di modificare il contenuto mucina dell'ileo che potrebbe modulare l'adesione batterica e la colonizzazione (Ito Y., 2008). Perciò, polifenoli sembrano avere il potenziale di conferire effetti benefici per la salute anche attraverso una modulazione dell'ecosistema microbico dell'intestino umano. Tuttavia, gli effetti d'interazione tra i polifenoli e le funzioni specifiche flora intestinale rimangono in gran parte indefinite.

References

- Adlerberth I., Lindberg E., Aberg N. *et al.* (2006), *Reduced enterobacterial and increase staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle?*, *Pediatr Res*, 59:96-101.
- Aroniadis O.C., Brandt L.J. (2014), *Intestinal microbiota and the efficacy of fecal microbiota transplantation in gastrointestinal disease*, *Gastroenterol Hepatol (NY)*, 10(4):230-7.
- Arpaia N., Campbell C., Fan X., Dikiy S., van der Veeken *et al.* (2013), *Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation*, *Nature*, 504, 451-455.
- Atherton J.C., Blaser M.J. (2009), *Coadaptation of Helicobacter pylori and humans: ancient history, modern implications*, *J. Clin. Invest*, 119, 2475-2487.
- Azad M.B., Konya T., Maughan H. *et al.* (2013), *Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months*, *CMAJ*, 185:385-94.
- Aziz Q., Doré J., Emmanuel A., Guarner F., Quigley E.M. (2013), *Gut microbiota and gastrointestinal health: current concepts and future directions*, *Neurogastroenterol Motil*, 25(1):4-15.
- Belkaid Y., Hand T.W. (2014), *Role of the microbiota in immunity and inflammation*, *Cell*, 27;157(1):121-41.
- Belzer C., de Vos W.M. (2012), *Microbes inside--from diversity to function: the case of Akkermansia*, *ISME J*, 6: 1449-1458.
- Bianconi E., Piovesan A., Facchin F., Beraudi A., Casadei R., Frabetti F., Vitale L., Pelleri M.C., Tassani S., Piva F., Perez-Amodio S., Strippoli P., Canaider S. (2013), *An estimation of the number of cells in the human body*, *Annals Human Biol*, 40:463-471.
- Bomba A., Nemcová R., Gancarcíková S., Herich R., Guba P., Mudronová D. (2002), *Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids*, *Br J Nutr*, (Suppl 1):S95-9.
- Bong-Soo Kim, Yoon-Seong Jeon, Jongsik Chun (2013), *Current status and future promise of the human microbiome*, *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, 16(2):71-79.
- Branton W.G., Ellestad K.K., Maingat F., Wheatley B.M., Rud E., Warren R.L., Holt R.A., Surette M.G., Power C. (2013), *Brain microbial populations in HIV/AIDS: Alpha-proteobacteria predominate independent of host immune status*. *PLoS One*, 8, e54673.
- Britti M.S., Roselli M., Finamore A., Merendino N., Mengheri E. (2006), *Regulation of immune response at intestinal and peripheral sites by probiotics*, *Section Cellular and Molecular Biology*, 61/6: 735-740.
- Candela M., Turrone S., Biagi E. *et al.* (2014), *Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks*, *World J Gastroenterol*, 20(4): 908-922.
- Cani P.D., Everard A., Duparc T. (2013), *Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism*, *Curr Opin Pharmacol*, 13: 935-940.
- Cani P.D., Delzenne N.M. (2007), *Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis*, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 10:729-734.
- Caracciolo B., Xu W., Collins S., Fratiglioni L. (2014), *Cognitive decline, dietary factors and gut-brain interactions*, *Mechanisms of Ageing and Development*, 136-137, 59-69.
- Claesson M.J., Jeffery I.B., Conde S. *et al.* (2012), *Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly*, *Nature*, 488: 178-84.
- Claesson M.J., Cusack S., O'Sullivan O. *et al.* (2011), *Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 108(Suppl. 1):4586-91.
- Davie J.R. (2003), *Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate*, *J. Nutr. Suppl*, 133, 2485S-2493S.
- de Pablo P., Dietrich T., Mc Alindon T.E. (2008), *Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population*, *J. Rheumatol*. 35, 70-76.
- Delzenne N.M., Audrey M.N., Cani P.D. (2013), *Gut microbiota and metabolic disorders: how pre-*

- biotic can work?, *British Journal of Nutrition*, 109, S81-S85.
- Dethlefsen L., Relman D.A. (2011), *Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 Suppl 1:4554-61.
- Dominguez-Bello M.G., Costello E.K., Contreras M. et al. (2010), *Delivery mode shape the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 107:11971-5.
- Dong Liu, Jialin Yu, Luquan Li, Quing Ai, et al. (2015), *Bacterial Community Structure Associated With Elective Cesarean Section Versus Vaginal delivery in Chinese Newborns*, *JPGN*, 60:240-246.
- Dubinsky M.C., Lin Y.C., Dutridge D., Picornell Y., Landers C.J., Fariori S., Wrobel I., Quiros A., Vasilias E.A., Grill B. et al. (2006), *Western Regional Pediatric IBD Research Alliance, Serum immune responses predict rapid disease progression among children with Crohn's disease: immune responses predict disease progression*, *Am. J. Gastroenterol.* 101, 360-367.
- Ebringer A., Rashid T., Wilson C. (2010), *Rheumatoid arthritis, proteus, anti-CCP antibodies and Karl Popper*, *Autoimmun. Rev.*, 9, 216-223.
- Elinav E., Strowig T., Kau A.L., Henao-Mejia J., Thaiss C.A. et al. (2011), *NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis*, *Cell*, 145, 745-757.
- Elson C.O., Cong Y. (2012), *Host-microbiota interactions in inflammatory bowel disease*, *Gut Microbes* 3, 332-344.
- Everard A. (2013), M.Sc., Pharm, P.D. Cani, PhD, Professor, *Diabetes, obesity and gut microbiota*, *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 27, 73-83.
- Everard A., Belzer C., Geurts L., Ouwerkerk J.P., Druart C. et al. (2013), *Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 9066-9071.
- Festi D., Schiumerini R., Eusebi L.H., Marasco G., Taddia M., Colecchia A. (2014), *Gut microbiota and metabolic syndrome*, *World J Gastroenterol*, 20(43): 16079-16094.
- Frank D.N., St. Amand A.L., Feldman R.A., Boedeker E.C., Harpaz N., Pace (2007), *Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 13780-13785.
- Furet J.P., Kong L.C., Tap J., Poitou C., Basdevant A., Bouillot J.L. et al. (2010), *Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers*, *Diabetes*, 59:3049-57.
- Furusawa Y., Obata Y., Fukuda S., Takahashi A., Endo, Nakato G. et al. (2013), *Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells*, *Nature*, Dec. 19, 504(7480):446-50.
- Gregor M.F., Hotamisligil G.S. (2011), *Inflammatory mechanisms in obesity*, *Annu. Rev. Immunol*, 29, 415-445.
- Grivnitskiy S.I., Karin M. (2010), *Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer*, *Cytokine Growth Factor Rev.* 21, 11-19.
- Gronlund M.M., Lethonen O.P., Eerola E. et al. (1999), *Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery*, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 28:19-25.
- Guarnier F., Bourdet-Sicard R., Brandtzaeg P. et al. (2006), *Mechanisms of disease: the hygiene hypothesis revisited*, *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 3: 275-84.
- Hallstrom M., Eerola E., Vuento R. et al. (2004), *Effects of mode of delivery and necrotising enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 23:463-70.
- Hansen C.H., Krych L., Nielsen D.S., Vogensen F.K., Hansen L.H., Sørensen S.J., Buschard K., Hansen A.K. (2012), *Early life treatment with vancomycin propagates Akkermansia muciniphila and reduces diabetes incidence in the NOD mouse*, *Diabetologia*, 55: 2285-2294.

- Hviid A., Svanström H., Frisch M. (2011), *Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood*, *Gut*, 60:49-54.
- Iebba V., Aloï M., Civitelli F., Cucchiara S. (2011), *Gut microbiota and pediatric disease*, *Dig. Dis.*, 29(6):531-9.
- Issa M., Ananthakrishnan A.N., Binion D.G. (2008), *Clostridium difficile and inflammatory bowel disease*, *Inflamm. Bowel Dis.*, 14, 1432-1442.
- Ito Y., Ichikawa T., Iwai T., Saegusa Y., Ikezawa T., Goso Y. et al. (2008), *Effects of tea catechins on the gastrointestinal mucosa in rats*, *J Agric Food Chem*, 56:12122-6.
- Jernberg C., Löfmark S., Edlund C., Jansson J.K. (2010), *Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota*, *Microbiology*, 156:3216-23.
- Kamer A.R., Craig R.G., Pirraglia E., Dasanayake A.P., Norman R.G. et al. (2009), *TNF-alpha and antibodies to periodontal bacteria discriminate between Alzheimer's disease patients and normal subjects*, *J Neuroimmunol*, 216, 92-97.
- Kankaanpää P.E., Salminen S.J., Isolauri E., Lee Y.K. (2001), *The influence of polyunsaturated fatty acids on probiotic growth and adhesion*, *FEMS Microbiol Lett*, 194:149-53.
- Kau Andrew L., Ahern Philip P., Griffin Nicholas W. et al. (2013), *Human nutrition, the gut microbiome, and immune system: envisioning the future*, *Nature*, 474(7351): 327-336.
- Konieczna P., Groeger D., Ziegler M. et al. (2012), *Bifidobacterium infantis 35624 administration induces Foxp3 T regulatory cells in human peripheral blood: potential role for myeloid and plasmacytoid dendritic cells*, *Gut*, 61: 354-66.
- Kozyrskyj A.L., Ernst P., Becker A.B. (2007), *Increased risk of childhood asthma from antibiotic use in early life*, *Chest*, 131:1753-9.
- Kurokawa K., Itoh T., Kuwahara T., Oshima K., Toh H., Toyoda A. et al. (2007), *Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes*, *DNA Res*, 14:169-81.
- Lamps L.W., Madhusudhan K.T., Havens J.M., Greenson J.K., Bronner M.P. et al. (2003), *Pathogenic Yersinia DNA is detected in bowel and mesenteric lymph nodes from patients with Crohn's disease*, *Am. J. Surg. Pathol*, 27, 220-227.
- Larsen N., Vogensen F.K., van den Berg F.W., Nielsen D.S., Andreasen A.S., Pedersen B.K. et al. (2010), *Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults*, *PLoS One*, 5: e9085.
- Lee H.C., Jenner A.M., Low C.S., Lee Y.K. (2006), *Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota*, *Res Microbiol*, 157:876-84.
- Ley R.E., Peterson D.A., Gordon J.I. (2006), *Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine*, *Cell*, 124(4):837-848.
- Lodes M.J., Cong Y., Elson C.O., Mohamath R., Landers C.J. et al. (2004), *Bacterial flagellin is a dominant antigen in Crohn disease*, *J. Clin. Invest.*, 113, 1296-1306.
- Louis P., O'Byrne C.P. (2010), *Life in the gut: microbial responses to stress in the gastrointestinal tract*, *Sci Prog*, 93(Pt 1): 7-36.
- MacDonald T.T., Monteleone I., Fantini M.C., Monteleone G. (2011), *Regulation of homeostasis and inflammation in the intestine*, *Gastroenterology*, 140: 1768-75.
- Maloy K.J., Powrie F. (2011), *Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease*, *Nature*, 474, 298-306.
- Marshall B.J., Warren J.R. (1984), *Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration*, *Lancet* 1, 1311-1315.
- Maslowski K.M. et al. (2009), *Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43*, *Nature*, 461:1282-1286.
- Mayer E.A., Tillisch K., Gupta A. (2015), *Gut/brain axis and the microbiota*, *J Clin Invest*, Mar 2, 125(3):926-938.
- Mayer E.A., Padua D., Tillisch K. (2014), *Altered brain-gut axis in autism: comorbidity or causative mechanisms?*, *Bioessays*, 36(10):933-9.
- Méthé B.A., Nelson K.E., Pop M., Creasy H.H., Giglio M.G., Huttenhower C. et al. (2012), *Human Microbiome Project Consortium*, A

- framework for human microbiome research, *Nature*, 486:215-21.
- Miklossy J. (2011), *Alzheimer's disease – a neurospirochetosis. Analysis of the evidence following Koch's and Hill's criteria*, *J Neuroinflammation*, 8, 90.
- Miklossy J., Darekar G.L., Janzer P., Van der Loos R.C.H. (1995), *Senile plaques, neurofibrillary tangles and neuropil threads contain DNA?*, *J Spirochetal Tick Borne Dis*, 2, 1-5.
- Miklossy J. (1993), *Alzheimer's disease—a spirochetosis?*, *Neuroreport*, 4, 841-848.
- Musilova S., Rada V., Vlkova E., Bunesova V., Nevoral J. (2015), *Colonization of the gut by bifidobacteria is much more common in vaginal deliveries than Cesarean sections*, *Acta Paediatr*, 104(4):e184-6.
- Newkirk M.M., Zbar A., Baron M., Manges A.R. (2010), *Distinct bacterial colonization patterns of Escherichia coli subtypes associate with rheumatoid factor status in early inflammatory arthritis*, *Rheumatology (Oxford)*, 49, 1311-1316.
- Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J. et al. (2012), *Host-gut microbiota metabolic interactions*, *Science*, 336:1262-7.
- O'toole Palmer C., Bik E.M., Di Giulio D.B., Relman D.A., Brown P.O. (2007), *Development of the human infant intestinal microbiota*, *PLoS Biol*, 5 e 177.
- Osborn O., Olefsky J.M. (2012), *The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease*, *Nat. Med.*, 18, 363-374.
- Packey C.D., Sartor R.B. (2008), *Interplay of commensal and pathogenic bacteria, genetic mutations, and immunoregulatory defects in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases*, *J. Intern. Med.*, 263, 597-606.
- Pandey P.K., Verma P., Kumar H. et al. (2012), *Comparative analysis of fecal microflora of healthy full-term Indian infants born with different methods of delivery (vaginal or cesarean): Acinetobacter sp. Prevalence in vaginally born infants*, *J Biosci*, 37:989-98.
- Pertea M., Salzberg S.L. (2010), *Between a chick-*
- en and a grape: estimating the number of human genes*, *Genome Biol*, 11:206.
- Poole S., Singhrao S.K., Kesavalu L., Curtis M.A., Crean S. (2013), *Determining the presence of periodontopathic virulence factors in short-term postmortem Alzheimer's disease brain tissue*, *J Alzheimers Dis*, 36, 665-677.
- Qin J., Li Y., Cai Z., Li S., Zhu J., Zhang F., Liang S., Zhang W., Guan Y., Shen D., Peng Y., Zhang D. et al. (2012), *A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes*, *Nature*, 490: 55-60.
- Riviere G.R., Riviere K.H., Smith K.S. (2002), *Molecular and immunological evidence of oral Treponema in the human brain and their association with Alzheimer's disease*, *Oral Microbiol Immuno*, 17, 113-118.
- Rolhion N., Darfeuille-Michaud A. (2007), *Adherent-invasive Escherichia coli in inflammatory bowel disease*, *Inflamm. Bowel Dis.*, 13, 1277-1283.
- Russell S.L., Gold M.J., Hartmann M., Willing B.P., Thorson L., Wlodarska M. et al. (2012), *Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma*, *EMBO Rep*, 13:440-7.
- Sato N., El-Gabalawy H.S. (2011), *Infection and rheumatoid arthritis: still an open question*, *Curr. Opin. Rheumatol*, 23, 352-357.
- Sato N., Oizumi T., Kinbara M., Sato T., Funayama H., Sato S., Matsuda K. et al. (2010), *Promotion of arthritis and allergy in mice by aminoglycoglycerophospholipid, a membrane antigen specific to Mycoplasma fermentans*, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 59, 33-41.
- Savage D.C. (1977), *Microbial ecology of the gastrointestinal tract*, *Annu Rev Microbiol*, 31:107-133.
- Schwartz A., Taras D., Schafer K., Beijer S., Bos N.A., Donus C. et al. (2010), *Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects*, *Obesity (SilverSpring)*, 18:190-5.
- Smith P.M., Howitt M.R., Panikov N., Michaud M., Gallini C.A., Bohlooly Y. et al. (2013), *The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis*, *Science*, 341, 569-573.

- Thompson-Chagoyan O.C., Maldonado J., Gil A. (2007), *Colonization and impact of disease and other factors on intestinal microbiota*, *Dig Dis Sci*, 52:2069-77.
- Tojo R., Suárez A, Clemente M.G. *et al.* (2014), *Intestinal microbiota in health and disease: Role of bifidobacteria in gut homeostasis*, *World J Gastroenterol*, 20(41): 15163-15176.
- Turnbaugh P.J. *et al.* (2009), *The effect of diet on the human gut microbiome: A metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice*, *Science Transl Med*, 1:16ra14.
- Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M., Fraser-Liggett C.M., Knight R., Gordon J.I. (2007), *The human microbiome project*, *Nature*, 449:804-810.
- Tzonis X., Vulevic J., Kuhnle G.G., George T., Leonczak J., Gibson G.R. *et al.* (2008), *Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora*, *Br J Nutr*, 99:782-92.
- Tzonis X., Vulevic J., Kuhnle G.G., George T., Leonczak J., Gibson G.R. *et al.* (2008), *Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora*, *Br J Nutr*, 99:782-92.
- Urbaniak C., Cummins J., Brackstone M., Macklaim J.M., Gloor G.B., Baban C.K., Scott L. *et al.* (2014), *Microbiota of Human Breast Tissue*, Volume 80 Number 10 *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 3007-3014.
- Ursell L.K., Clemente J.C., Rideout J.R., Gevers D., Caporaso J.G., Knight R. (2012), *The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites*, *J Allergy Clin Immunol*, 129:1204-8.
- Whiteside S.A., Razvi H., Dave S., Reid G., Burton J.P. (2015), *The microbiome of the urinary tract – a role beyond infection*, *Nature Reviews Urology*, Feb, 12(2):81-90.
- Wu H.J., Ivanov I.I., Darce J., Hattori K., Shima T., Umesaki Y., Littman D.R., Benoist C., Mathis D. (2010), *Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells*, *Immunity*, 32, 815-827.
- Wu X., Ma C., Han L., Nawaz M., Gao F., Zhang X. *et al.* (2010), *Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes*, *Curr Microbiol*, 61:69-78.
- Wynendaele E., Verbeke F., D'Hondt M. *et al.* (2015 Feb.), *Crosstalk between the microbiome and cancer cells by quorum sensing peptides*, *Peptides*, 64: 40-48.
- Xu J. *et al.* (2003), *A genomic view of the human-Bacteroides thetaiotaomicron symbiosis*, *Science*, 299:2074-2076.
- Yan Wang, Lloyd H. Kasper (2014), *The role of microbiome in central nervous system disorders*, *Brain, Behavior, and Immunity*, 38: 1-12.
- Yatsunencko T., Rey F.E., Manary M.J., Trehan I., Dominguez-Bello M.G., Contreras M. *et al.* (2012), *Human gut microbiome viewed across age and geography*, *Nature*, 486:222-7.
- Yoshimoto S., Loo T.M., Atarashi K., Kanda H., Sato S., Oyadomari S., Iwakura Y., Oshima K., Morita H., Hattori M. *et al.* (2013), *Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome*, *Nature*, 499, 97-101.

Prodotti surgelati e consumatori

M. Sciarroni

Foro di Roma

e-mail: sciarroni.m@libero.it

Riassunto

La diffusione e l'acquisto di cibi surgelati è in continua crescita, i medesimi, infatti, rientrano a pieno titolo nell'alimentazione quotidiana. Tali cibi sviluppatasi, inizialmente, come rimedi veloci nei casi di emergenza in cui il tempo per cucinare veniva a mancare, sono divenuti dei prodotti elaborati e adatti alle diverse esigenze familiari e sociali. Il settore della surgelazione, pertanto, appare proliferare e divenire sempre maggiormente tecnologico. Nonostante ci siano, però, talune criticità relative alle mancate, oppure poco corrette informazioni riguardo le differenze intercorrenti tra i prodotti surgelati e i prodotti congelati che, molto spesso, vengono confusi dai consumatori. Di fondamentale importanza, per i prodotti in esame, risulta essere il mantenimento scrupoloso della "catena del freddo". Quest'ultima, invero, deve osservarsi e realizzarsi secondo precisi dettami scientifici e giuridici, al fine di conseguire una surgelazione ottimale per ottenere sia un buon sistema di conservazione e sia per fornire al consumatore l'offerta di un prodotto quanto più simile possibile all'alimento fresco. Peraltro, la normativa e la legislazione, oltre a disciplinare l'intera materia dei prodotti surgelati, sono anch'esse improntate alla regolamentazione delle modalità operative di conduzione della catena del freddo nelle procedure di surgelamento e delle modalità di corretta conservazione dell'alimento surgelato prima di essere posto in vendita. La sicurezza alimentare e l'igiene di siffatti prodotti viene assicurata mediante l'osservanza di specifiche prescrizioni inerenti: la temperatura, la quale deve essere mantenuta ad un valore pari o inferiore a -18°C ; la freschezza e la qualità delle materie prime; l'adeguatezza del confezionamento, volto ad impedire ogni eventuale contaminazione; l'idoneità dei mezzi di trasporto, nonché l'appropriatezza dei banchi frigoriferi.

Disamina normativa

La disciplina relativa alla produzione, alla distribuzione e alla vendita dei prodotti surgelati, destinati all'alimentazione umana, è stabilita dal Decreto Legislativo n. 110/1992, attuazione della Direttiva 89/108/CEE. Secondo tale normativa, tutti gli alimenti possono essere sottoposti a surgelazione, esclusi i gelati. Ai sensi dell'articolo 2 del suindicato Decreto si intendono come prodotti surgelati quelli: *"sottoposti ad un processo speciale di congelamento, detto "surgelazione", che permette di superare con la rapidità necessaria, in funzione della natura del prodotto, la zona di cristallizzazione massima e di mantenere la temperatura del*

prodotto in tutti i suoi punti, dopo la stabilizzazione termica, ininterrottamente a valori pari o inferiori a -18°C "; quindi, i prodotti, che rispecchiano siffatta tale definizione, vengono commercializzati come tali. Si sottolinea che la surgelazione non deve essere mai confusa con la congelazione, la quale è un metodo che conduce l'alimento a temperature inferiori allo zero con tempistiche molto lunghe.

Primaria importanza viene riservata alle materie prime oggetto di produzione e di realizzazione di prodotti surgelati. Le materie prime, invero, devono essere sane, in buone condizioni igieniche e di adeguata qualità merceologica,

inoltre devono possedere il necessario grado di freschezza. Simili criteri sono dettati in ragione della circostanza che il prodotto surgelato, essendo sottoposto a basse temperature, non può essere facilmente esaminato e valutato. Le suddette materie prime, altresì, possono essere sottoposte ad un precedente trattamento di conservazione e contenere alcuni additivi nei limiti stabiliti dai decreti ministeriali emanati ai sensi degli articoli 5, lettera g) e 22 della legge 30 aprile 1962, n. 283, ma non possono, però, contenere in nessun caso gli additivi conservanti.

Le attività dirette alla preparazione dei prodotti surgelati e alla stessa procedura di surgelazione devono essere svolte in breve tempo tramite attrezzature e dispositivi atti a ridurre al minimo le contaminazioni chimiche, biochimiche e microbiologiche per garantire l'estrema sicurezza dei consumatori. Il processo di surgelamento si snoda attraverso un percorso articolato in varie fasi che iniziano fin dalla produzione e arrivano al posizionamento sul banco di vendita. Durante le procedure tecniche gli operatori sono chiamati ad assicurare che la Catena del Freddo non subisca mai interruzioni o drastiche riduzioni. Ad esempio devono sempre essere esaminate le celle di stoccaggio, soprattutto in merito alla dotazione di adeguati strumenti di controllo della temperatura e della misurazione della stessa. Al proposito, l'articolo 4 del Dlgs 110/1992 stabilisce espressamente: *"La temperatura degli alimenti surgelati deve essere mantenuta in tutti i punti del prodotto ad un valore pari o inferiore a -18°C. 2) Sono tuttavia tollerate: a) durante il trasporto, brevi fluttuazioni verso l'alto non superiori a 3°C della temperatura del prodotto; b) durante la distribuzione locale e negli armadi e nei banchi frigoriferi per la vendita al consumatore, fluttuazioni verso l'alto della temperatura del prodotto non superiori a 3°C"*. Il successivo articolo 5 continua indicando i mezzi criogeni, i quali possono essere usati per contatto diretto con gli alimenti da surgelare per diminuirne la temperatura e sono: a) aria; b) azoto; c) anidride carbonica; viene, altresì specificato che *"i criteri di purezza dei mezzi criogeni sono stabiliti con de-*

creto del Ministro della sanità, sentito il Consiglio Superiore di Sanità, in attuazione di disposizioni comunitarie".

Nel ribadire la rilevanza del mantenimento della Catena del Freddo e delle necessarie precauzioni dirette a non interrompere la stessa, è opportuno segnalare che i mezzi di trasporto devono essere provvisti sia di dispositivi volti ad assicurare la corretta conservazione della temperatura e sia di idonei strumenti di registrazione delle temperature per consentire il continuo monitoraggio delle stesse, nonché gli appositi controlli da parte degli Enti preposti.

Viepiù, esigono molta cura le fasi della produzione e del confezionamento che avvengono in appositi locali autorizzati dalla Autorità Sanitarie competenti su territorio nazionale. Del pari, sono previste norme specifiche per la surgelazione del pesce, in particolare le "navi officina" devono ottenere il riconoscimento di idoneità dalle Autorità Sanitarie Locali. Ciò in base a precise disposizioni del Ministero della Salute e del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali (MIPAF).

Tutti i locali ove vengono compiute le operazioni di immagazzinamento e di conservazione degli alimenti surgelati sono dotati di adeguati strumenti di registrazione automatica della temperatura che misurano, spesso e ad intervalli regolari, la temperatura medesima. Le registrazioni devono essere datate e conservate dagli operatori almeno per un anno. Puntuale disposizione sono previste in merito al confezionamento dei prodotti surgelati destinati al consumatore e alla ristorazione collettiva. Le confezioni, infatti, oltre ad essere originali e accuratamente chiuse, devono essere predisposte con materiale adatto a proteggere il prodotto dalle contaminazioni microbiche o di altro genere, nonché dalla disidratazione.

I consumatori prestano molta attenzione alle diciture e alle informazioni indicate nelle etichette.

Questo atteggiamento consente loro una maggiore consapevolezza riguardo l'acquisto degli

alimenti surgelati, i quali a tutt'oggi sono oggetto di molte remore. In tema di etichettatura dei surgelati vengono mantenute ferme le regole generali dettate in materia per tutti i prodotti alimentari, con piccole modifiche e con talune integrazioni che comprendono, ai sensi dell'articolo 8 del Decreto Legislativo del 1992: "a) la denominazione di vendita, completata dal termine "surgelato"; b) il termine minimo di conservazione completato dalla indicazione del periodo in cui il prodotto può essere conservato presso il consumatore; c) le istruzioni relative alla conservazione del prodotto dopo l'acquisto completate dalla indicazione della temperatura di conservazione o dell'attrezzatura richiesta per la conservazione; d) l'avvertenza che il prodotto, una volta scongelato, non deve essere ricongelato e le eventuali istruzioni per l'uso; e) l'indicazione del lotto". Si osserva che vengono fissate norme meno stringenti e meno rigorose per l'etichettatura relativa ai surgelati non destinati al consumatore. In ogni caso siffatte etichette devono possedere, comunque, le seguenti diciture: a) la denominazione di vendita completata dal termine "surgelato"; b) la quantità netta espressa in unità di massa; c) l'indicazione del lotto; d) il nome o la ragione sociale e la sede del produttore o del confezionatore oppure di un venditore stabilito all'interno della comunità europea. Le inadempienze e le infrazioni relative alle statuizioni riguardanti l'etichettatura sono punite tramite sanzione amministrativa da € 774,00 a € 4648,00.

Appare opportuno segnalare alcune problematiche riscontrate in merito all'importazione da paesi extracomunitari dei prodotti surgelati. Quest'ultimi, infatti, devono rispettare determinate garanzie igienico-sanitarie espressamente stabilite dalla normativa comunitaria. Ciò allo scopo precipuo di evitare rischi sanitari per i consumatori. Pacifica l'importanza dei controlli e delle verifiche alle frontiere da parte degli organi preposti per valutare fattori di pericolo e per scongiurare epidemie. Simili controlli devono essere improntati al massimo rigore e i sistemi di allerta, altresì, devono essere tempestivi ed efficaci per permettere l'attivazione immediata

di procedure di ritiro e di richiamo di alimenti rischiosi.

L'articolo 10 del Decreto Legislativo 110/1992 riguardo l'ammissione sul territorio nazionale di surgelati provenienti da paesi extracomunitari, pur mantenendo ferme le disposizioni comunitarie relative alle condizioni per l'importazione dei medesimi, stabilisce specifici dettami, ovverosia: "a) siano prodotti secondo normative equivalenti a quelle del presente decreto; b) siano stati prodotti in stabilimenti riconosciuti idonei dalle competenti autorità nazionali ed inclusi in elenchi ufficiali notificati dalle autorità del Paese interessato".

Nel caso dell'Italia la competenza a provvedere alla distribuzione delle copie dei predetti elenchi alle dogane al fine della verifica della conformità è attribuita al Ministero della Salute.

La presente analisi normativa non può trascurare il riferimento al D.M. 493/1995 (Ministero Dell'Industria, Del Commercio e dell'Artigianato) relativo al Regolamento di attuazione delle direttive n. 92/1/CEE in tema di controllo delle temperature degli alimenti surgelati e n. 92/2/CEE sulle modalità di campionamento e il metodo di analisi per il controllo delle temperature.

Tale Decreto, in particolare nei propri allegati, specifica: le caratteristiche dei mezzi di trasporto di surgelati e dei strumenti di registrazione automatica della temperatura predisposti sui mezzi stessi; le modalità di misurazione della temperatura dei surgelati destinati all'alimentazione umana, nonché le modalità di campionamento per il controllo delle loro temperature. Durante la fase di commercializzazione e di esposizione sono stabilite regole dettagliate per la conservazione dei prodotti in esame. L'articolo 3 del D.M. del 1995 prevede, infatti: "L'apparecchiatura frigorifera dei punti vendita è costituita da banchi o da armadi chiusi, aventi cioè dispositivi di chiusura in materiale coibente incorporati ed inasportabili, ovvero da banchi o da armadi aperti, aventi cioè dispositivi di chiusura in materiale coibente non incorporati ed asportabili. I dispositivi di chiusura asportabili, di cui al comma 1, devono essere impiegati obbligatoriamente durante la chiusura dell'esercizio, nel caso di

disservizio delle apparecchiature frigorifere e nel caso di interruzione dell'erogazione di energia elettrica a qualsiasi causa imputabile". Al responsabile dell'esercizio commerciale di vendita è attribuita l'incombenza di adottare ogni necessaria misura e tecnica volta al mantenimento delle temperature previste dalla Legge, attivandosi, altresì, nei casi di sospensione programmata di energia elettrica, a porre in essere il funzionamento degli impianti e delle apparecchiature a regime massimo almeno due ore prima della suddetta sospensione. Molti consumatori si chiedono se, inoltre, sia legittimo da parte di taluni operatori commerciali introdurre nei banchi frigo insieme ai surgelati prodotti diversi da quest'ultimi. Ciò è possibile purché i prodotti diversi siano contenuti in appositi involucri protettivi e al momento del loro inserimento abbiano una temperatura non superiore a -18 C.

Discussione-conclusioni

"Il freddo è il conservante migliore per gli alimenti in quanto li protegge dal deterioramento della struttura, del sapore e dell'aroma senza interferire con le proprietà organolettiche e nutrizionali.

Quando il freddo è applicato rapidamente fino a raggiungere in breve tempo temperature inferiori a -18°C, fin nelle parti più interne, l'alimento viene surgelato. In queste condizioni è quasi bloccato nel suo spontaneo deterioramento; mantiene così le sue caratteristiche, compresa la freschezza, per lungo tempo e diviene disponibile anche oltre i ritmi stagionali. Tutto ciò consente non solo al nostro palato di beneficiare di una più ampia scelta alimentare durante tutto l'anno ma è anche di notevole beneficio per la nutrizione del nostro organismo" (Prof. Carlo Cannella).

La tecnica del surgelamento, dunque, si basa sul sistema di congelazione ultra-rapido. Le temperature dei prodotti vengono abbassate molto velocemente a -40/50°C tramite delle tecnologie evolute e particolarmente avanzate. Appare chiaro, pertanto, che la conduzione del freddo debba essere effettuata in maniera corretta e nel rispetto di specifici criteri, ovvero: materie pri-

me fresche e di buona qualità; confezionamento appropriato; mantenimento della catena del freddo dal momento della produzione fino alla commercializzazione. Ciò attraverso determinati accorgimenti relativi anche al trasporto e alla conservazione. Al proposito, si evidenzia che le differenti temperature e le diverse velocità di sottrazione del calore ai prodotti comportano forme di congelamento distinte, ovvero: di tipo lento, di tipo rapido e di tipo ultra-rapido. Dacché si è originato il distinguo tra i due processi di congelamento e quello di surgelazione.

Il metodo di congelamento lento si realizza attraverso l'utilizzo di temperature non inferiori a -20°C. Il procedimento viene posto in essere in maniera molto rallentata, originando all'interno degli alimenti la formazione di grossi cristalli ghiaccio, i quali generano un aumento della loro struttura cellulare. Una simile condizione, però, provoca seri danneggiamenti al cibo stesso, poiché al momento dello scongelamento l'acqua viene rilasciata con l'effetto della perdita di sostanze nutritive. L'esempio principale del metodo suddetto è rappresentato dal congelatore domestico, incorporato o meno, al frigorifero e la cui temperatura si aggira intorno ai -6°C e -18°C. Del pari, nel congelamento rapido le temperature vengono abbassate abbastanza velocemente a circa -40°C / -50°C, formando, così, delle cristallizzazioni molto più piccole rispetto al congelamento lento, in modo da danneggiare meno il cibo. La procedura di congelamento ultra-rapido, invece, consiste nel fenomeno della "surgelazione".

La diminuzione della temperatura, la quale all'inizio raggiunge anche i -80°C, avviene con tecniche rapidissime e veloci che permettono la formazione nei prodotti di cristalli di ghiaccio di dimensioni ancora più ridotte rispetto ai due metodi suindicati, mantenendo, pertanto, inalterate le loro proprietà nutritive e organolettiche. La grande rapidità nella tecnica di raffreddamento determina, quindi, la formazione di microcristalli che non provocano pregiudizi alla struttura biologica dell'alimento.

Peraltro, il costante mantenimento della temperatura inferiore ai -18°C , riducendo sensibilmente le reazioni chimiche ed enzimatiche non consente lo sviluppo di batteri e le caratteristiche nutrizionali dei cibi surgelati rimangono immutate rispetto al prodotto originale. Tutto ciò avviene soltanto nel caso in cui la "catena del freddo", durante ogni fase procedurale venga rispettata scrupolosamente, dacché il surgelamento assurge ad essere considerato un sistema di conservazione ottimale, in grado di ottenere un prodotto paragonabile al fresco.

Ulteriore differenziazione tra i alimenti surgelati e quelli congelati consiste nel fatto che, mentre i primi devono essere mantenuti sempre a temperature non inferiori a -18°C , di converso, i prodotti congelati vanno conservati a temperature non inferiori a -10°C . La legge prevede espressamente delle indicazioni relative sia alla temperatura di conservazione del prodotto surgelato e sia alla data entro la quale lo stesso deve essere consumato, ma nulla dice, purtroppo, in merito alle buone pratiche di scongelamento. Giova al riguardo osservare determinate regole al fine di una corretta tecnica di scongelamento.

In primis, tale processo deve avvenire lentamente, evitando, quindi, di immergere il prodotto in acqua calda che provocherebbe uno scongelamento troppo frettoloso; da preferire, invece, l'uso del forno a microonde, regolato alla potenza più bassa, oppure optando per la funzione "defrost". Le tecniche più opportune, comunque, per scongelare rimangono: lo spostamento del cibo surgelato in frigorifero o, come nel caso del pane e di svariati prodotti da forno, la loro esposizione alla temperatura ambiente. È doveroso precisare che certi alimenti non necessitano di essere scongelati ma possono essere cucinati direttamente (es. alcune verdure, cotolette di carne oppure preparati di pesce, frittiture). Massima attenzione deve essere conferita, altresì, alla conservazione del cibo scongelato in frigorifero soltanto per pochi giorni è da preferirsi, infatti, il suo consumo in tempi brevi, onde evitare lo sviluppo di cariche batteriche. Allo scopo di evitare scongela-

menti e ricongelamenti inopportuni dei prodotti, soprattutto nelle fasi di produzione, di trasporto, di stoccaggio e infine di commercializzazione, è necessario adoperare ogni accorgimento volto ad evitare improvvisi dislivelli e oscillazioni nelle temperature. Di grande rilievo, infatti, le circostanze che *"interruzioni significative della catena del freddo, variazioni dei livelli di umidità, un accatastamento irrazionale delle derrate, il mancato rispetto delle norme igienico sanitarie, sono tutti fattori critici che compromettono l'efficacia del processo conservativo e rendono gli alimenti al limite della soglia di salubrità al consumo"* (S. Ciappellano).

I consumatori sono assai cauti in merito alla tematica relativa al ricongelamento di prodotti e di cibo già scongelati, soprattutto riguardo eventuali rischi per la salute. Senz'altro non deve essere assolutamente effettuato il ricongelamento di un alimento già scongelato. Quando l'alimento è nella fase di scongelamento, infatti, i microrganismi e le cariche batteriche, rimasti inattivi durante le basse temperature, riprendono vita e contaminano il cibo. L'unico rimedio per evitare danni e per eliminare i batteri è la cottura dei prodotti.

In tal caso, solo in questa ipotesi, possono essere ricongelati alcuni alimenti, basti pensare, ad esempio, ai filetti di pesce surgelato, dopo averli acquistati vengono immediatamente cucinati e poi congelati per destinarli ad un consumo futuro. Il dubbio che si registra più spesso e che attanaglia i consumatori è quello relativo al mantenimento della catena del freddo e all'eventuale innalzamento e/ o variazione della temperatura dei prodotti surgelati durante le attività di produzione, di distribuzione e di commercializzazione, nonché nella ristorazione collettiva. Senza dubbio gli operatori del settore devono assicurare la non interruzione della predetta catena, rispettando la normativa vigente in tutta l'Unione Europea, utilizzando anche i piani HACCP, i quali permettono di valutare eventuali rischi e di determinare i punti critici da controllare e da esaminare con maggior rigore.

Nonostante una disciplina legislativa detta-

gliata continuano, però, a verificarsi episodi di truffa, di frode e di sottovalutazione dei rischi in danno dei consumatori. Eventi legati a interruzioni arbitrarie delle temperature, a trascuratezze igieniche, ad inidonee modalità di conservazione, ad inappropriate procedure di scongelamento e successivo ricongelamento e a mancate informazioni. A tale proposito, risale al 2014 l'emergenza, scaturita in tutta l'Unione Europea e inerente ai frutti di bosco surgelati e contaminati dalla presenza del virus dell'epatite A. Soltanto in Italia l'epidemia, causata dalla suddetta contaminazione, ha colpito ben 1.787 persone. A seguito della contaminazione l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA), di concerto con i Ministeri della Salute dell'UE, ha condotto un'indagine sulla tracciabilità dei frutti di bosco e dei prodotti derivati coinvolti nell'epidemia. Dacché è emerso che il virus dell'epatite A (HAV) veniva riscontrato analiticamente in 14 lotti di frutti di bosco misti surgelati e in 2 lotti di prodotti di pasticceria contenenti frutti di bosco misti in Italia, in Francia e in Norvegia. Le indagini epidemiologiche, altresì, hanno acclarato e appurato il ruolo di questi prodotti come origine dell'epidemia. Al contempo, pur se gli esperti e i tecnici europei non sono riusciti ad individuare il focolaio, si è evidenziato che i lotti da cui ha avuto causa l'epidemia, molto probabilmente, sono stati quelli dei ribes rossi provenienti dalla Polonia e quelli delle more di origine Bulgara. I consumatori hanno, però, da subito lamentato la scarsa diffusione di notizie e dei nomi dei prodotti ritirati, nonché l'inadeguatezza delle informazioni. Ulteriore caso di contaminazione, accaduto nel 2015, è quello relativo a tranci di pesce spada surgelato di un noto marchio industriale, il quale è stato costretto a ritirare dal mercato un

lotto, poiché conteneva quantitativi di mercurio superiore al limite previsto dalla legge. Seri rischi per la salute dei consumatori possono manifestarsi, qualora vengano poste in essere cattive modalità di conservazione di prodotti surgelati che costituiscono un reato da parte di coloro che praticano simili metodologie. La Corte di Cassazione Penale al proposito ha sentenziato "il reato sussiste anche nel caso di congelamento del prodotto effettuato in maniera inappropriata, in quanto il cattivo stato di conservazione è riferibile non soltanto alle caratteristiche intrinseche del prodotto alimentare, ma anche alle modalità estrinseche con cui si realizza. La modalità di conservazione inappropriata era consistita nel congelamento "ordinario" di un quantitativo di carne (modalità peraltro ritenuto rischiosa in quanto, tecnicamente, l'unico procedimento idoneo a conservare la carne nel tempo, alternativo alla surgelazione, è il congelamento mediante ricorso ad abbattitori di temperature)" (Cassazione Penale, III Sez., n. 245970 del 11.03.2010).

Bibliografia

- D.Lgs 110/1992.
 D.M. 493/1995.
 Ciappellano S. (2009), *Manuale della Ristorazione*, Casa Editrice Ambrosiana.
 Costato L., Borghi P., Rizzoli S. (2013), *Compendio di Diritto Alimentare*, Cedam.
 Sentenza Cassazione Penale, III Sez., n. 245970 del 11.03.2010.
 Sentenza Cassazione Penale, III Sez., n. 23632 del 09.01.2007.
www.istitutosurgelati.it.
www.politicheagricole.it.
www.salute.gov.it.
www.efsa.europa.eu.it.

Evoluzione del concetto di qualità alimentare

E. Toti

e-mail: elisabetta.toti@crea.gov.it

L'alimentazione è sempre stata lo strumento per una grande espansione e riproduzione della specie umana, difatti la disponibilità o meno di cibo, ha sempre portato con sé vari effetti, dalle carestie alla crescita esponenziale della popolazione. La sfida principale è sempre stata quella di poter disporre di una quantità sufficiente di cibo da sfamare l'intera popolazione mondiale e nella maggior parte dei casi, gli alimenti adibiti a questo compito sono rappresentati soprattutto da cereali, verdura e frutta, prodotti che hanno sempre fornito la base dell'alimentazione umana per migliaia d'anni e hanno offerto la soluzione in tempi di crisi o di carestia. L'allevamento di animali agli albori della nostra civiltà era di tipo pastorizio, dove molto raramente agricoltura e allevamento si fondevano dato il carattere sedentario dell'uno e nomade dell'altro. Con il passare dei secoli però anche l'allevamento ha assunto gradualmente un carattere sedentario e ciò ha coinciso con la necessità di produrre alimenti non solo per l'uomo, ma anche per gli animali. Questo ha influenzato particolarmente l'agricoltura, spingendo la ricerca ad attuare nuove tecniche volte sempre di più ad incrementare la produzione e contestualmente a portare un aumento della disponibilità di alimenti, sia ad uso umano che zootecnico. Per il fatto che oramai la produzione copriva ampiamente entrambi i fabbisogni, scongiurando del tutto lo spettro di eventuali carestie, il consumatore ha cominciato a voler differenziare la sua dieta, aver accesso ad alimenti provenienti da altri paesi e a selezionare specie in funzione delle proprie qualità organolettiche.

Da questa evoluzione dell'alimentazione e del consumo, si è arrivati a ricercare la sicurezza e soprattutto la qualità degli alimenti intesa general-

mente come *"l'insieme delle proprietà e caratteristiche di un prodotto o servizio che gli conferiscono l'attitudine a soddisfare bisogni espressi o impliciti"* (norma UNI EN ISO 8402), ma è il concetto che tende ad essere diverso tra produttore e consumatore.

I diversi concetti di qualità alimentare

Il concetto di qualità ha subito nel tempo una sostanziale evoluzione, operata dagli stessi consumatori che, richiedendo prodotti sani, sicuri, nutrienti e ottenuti nel rispetto dell'ambiente da parte dei processi produttivi e del benessere animale, hanno definito i parametri che caratterizzano la qualità. Accanto a quella percepita (quella richiesta dal consumatore) vi è anche una qualità oggettiva, definita dalle industrie e dalla grande distribuzione organizzata (GDO) e che riguarda la tecnologia e la sicurezza alimentare. Pertanto, alla base del concetto di qualità, sia per il consumatore sia per il produttore e il distributore, c'è la sicurezza alimentare. I fattori che contribuiscono a determinare la qualità totale di un alimento sono svariati, tanto è vero che è possibile individuare una qualità:

- chimico/nutrizionale
- organolettica
- legale
- d'origine
- igienico/sanitaria

È da sottolineare che la qualità oggettiva è ben definita, misurabile e verificabile, rispetto a determinati parametri standard (molto legata al concetto di sicurezza alimentare), mentre quella richiesta dal consumatore è determinata da fattori soggettivi e dipende dal momento e/o dalla situazione.

La qualità chimico/nutrizionale

La qualità chimico/nutrizionale di un alimento è data dalla sua capacità nutritiva determinata dal contenuto in macronutrienti. Essa può intendersi sotto l'aspetto quantitativo, che è dato dalla quantità di energia chimica che l'alimento apporta, e sotto quello qualitativo, che è dato dalla combinazione degli elementi nutritivi in esso contenuti. La scelta delle materie prime risulta di primaria importanza e va garantita a ogni livello del processo produttivo; inoltre alcuni trattamenti possono influenzare il contenuto in elementi nutritivi di un alimento, il calore ad esempio denatura le proteine con conseguente perdita delle proprietà biologiche delle stesse; anche un corretto processo di conservazione/distribuzione ha un ruolo fondamentale nella garanzia della qualità chimico/nutrizionale degli alimenti (Cappelli&Vannucchi, 2008).

La qualità organolettica

La qualità organolettica di un alimento è determinata dalla valutazione da parte del consumatore di alcune caratteristiche dell'alimento stesso, quali l'aspetto, l'aroma e la consistenza, percepite attraverso gli organi di senso (qualità sensoriale). Si tratta di valutazioni soggettive che sono notevolmente influenzate da fattori psicologici, sociali e culturali (Petrini, 2003). Con la vista l'alimento è valutato per il suo colore, la sua forma, la sua dimensione ed anche per il modo in cui è presentato. La vista è, tra i cinque sensi, quella che maggiormente influenza la scelta di un alimento e che condiziona a sua volta gli altri organi di senso. Con l'olfatto è percepito l'aroma e l'odore che può essere gradevole o sgradevole. Con il tatto è percepita la consistenza o texture (compattezza, durezza, densità, ecc) e, nel caso di cibi freschi, lo stato di conservazione e/o maturazione. Con il gusto sono percepiti l'amaro, il salato, il dolce e l'acido. Con l'udito sono percepite caratteristiche particolari che possono indicare la freschezza, attraverso il rumore collegato alla masticazione, di alcuni prodotti alimentari (biscotti, cereali, ecc.).

La qualità legale

La qualità legale è quella garantita dall'insieme di norme che interessano il settore alimentare: per essere definito "di qualità" un alimento deve rispondere a determinati requisiti minimi di legge poiché la legislazione tutela attraverso le leggi la salute del cittadino. A tal proposito, è stato messo a punto uno strumento d'autocontrollo igienico, il sistema HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points, Reg.CE 852/2004), che mira all'analisi dei rischi e dei punti critici di controllo delle varie fasi del ciclo produttivo: per ogni alimento sono individuati e valutati i pericoli specifici, che mirano all'igiene e alla sanità e sono stabilite le misure atte a prevenire tali rischi. L'autocontrollo costituisce il più innovativo approccio del legislatore relativo all'igiene, perché solo un sistema nel quale il controllo sia affidato a chi produce, commercializza e somministra alimenti, consente di raggiungere un'efficacia e una continuità nell'esercizio del controllo, superando i limiti dell'approccio tradizionale che invece si basava solo sul controllo esterno e che riguardava solo una parte limitata del prodotto messo in commercio. Il passaggio da un approccio basato sul controllo dei prodotti finiti con una lettura retrospettiva ad uno preventivo (comunque senza esclusione dei controlli ufficiali), costituisce un meta di ritrovata efficacia, per cui la produzione di alimenti è sostanzialmente affidata al titolare dell'azienda.

La qualità di origine

Nel 1992 la Comunità Europea ha istituito alcuni sistemi di denominazioni di vendita protette (noti come DOP-Denominazione di Origine Protetta, IGP-Indicazione Geografica Protetta e STG -Specialità Tradizionale Garantita) per promuovere e tutelare i prodotti agroalimentari. I marchi DOP e IGP tutelano ulteriormente il consumatore, garantendo che "Un prodotto agricolo o alimentare che beneficia di uno dei tipi di riferimento summenzionati dovrebbe soddisfare determinate condizioni elencate in un disciplinare" (Reg. CE 510/2006).

La qualità igienico/sanitaria

La qualità igienico-sanitaria di un alimento è data dalla rispondenza a requisiti d'igiene minimi, stabiliti per legge, relativi al "contenuto" in sostanze di natura chimica, di microrganismi e di loro metabolici (tossine). Secondo il Reg. CE 852/2004 per "igiene degli alimenti" s'intendono le misure e le condizioni necessarie per controllare i pericoli e garantire l'idoneità al consumo umano di un prodotto alimentare tenendo conto dell'uso previsto. I residui chimici presenti in un alimento possono derivare da una contaminazione primaria, all'origine del processo produttivo, dovuta alla presenza di residui di pesticidi e di metalli pesanti (specie per le coltivazioni poste lungo le strade), all'uso eccessivo di farmaci in allevamento, reso ancora più grave dal non rispetto dei tempi di sospensione previsti per legge e da una contaminazione secondaria, che può avvenire durante il trasporto, lo stoccaggio o la vendita dei prodotti alimentari se non sono rispettate le normali norme igieniche. La presenza di microrganismi all'interno degli alimenti oltre a determinare alterazioni quali putrefazione, irrancidimento, fermentazione degli zuccheri, con conseguente variazione delle caratteristiche organolettiche, può anche causare:

Intossicazioni alimentari: si hanno in seguito al consumo di alimenti contenenti tossine prodotte da microrganismi che si sono moltiplicati sull'alimento prima del suo consumo. Il microrganismo può anche essere morto o addirittura assente, quello che determina l'intossicazione è la tossina prodotta.

Infezioni alimentari: si hanno in seguito al consumo di alimenti contenenti microrganismi vivi, che raggiunto l'intestino si moltiplicano determinando appunto l'infezione.

Tossinfezioni alimentari: si hanno in seguito al consumo d'alimenti contenenti microrganismi vivi e le loro tossine.

Per garantire la qualità igienico/sanitaria degli alimenti, un ruolo fondamentale è rivestito

dall'operatore del settore alimentare, sia esso produttore, che distributore, che venditore: "La sicurezza degli alimenti va garantita lungo tutta la catena alimentare, a cominciare dalla produzione primaria" (Reg. CE 852/2004). Un altro regolamento comunitario afferma che "per garantire la sicurezza degli alimenti occorre considerare tutti gli aspetti della catena di produzione alimentare come un unico processo, a partire dalla produzione primaria inclusa, passando per la produzione di mangimi fino alla vendita o erogazione di alimenti al consumatore inclusa, in quanto ciascun elemento di essa presenta un potenziale impatto sulla sicurezza alimentare" (Reg. CE 178/2002). Come precedentemente accennato, lo strumento a garanzia della salute del cittadino, adottabile da tutti gli operatori del settore alimentare è il sistema HACCP.

Conclusioni

Il concetto di qualità e di sicurezza alimentare ai giorni nostri riveste un cardine fondamentale per la nostra società. Se guardiamo a pochi decenni fa, nei quali si ricercava la copertura alimentare di tutta la popolazione, le parole qualità, tracciabilità, rintracciabilità e trasparenza nella trasformazione non venivano mai menzionate. In questi ultimi anni però, tali concetti sono sempre più al centro dell'attenzione comune, essendo diventati cardini nella produzione e distribuzione delle derrate agricole.

Riferimenti bibliografici e normativi

Cappelli P., Vannucchi V. (2008), *Chimica degli Alimenti. Conservazione e trasformazione*, Zanichelli Ed.

Petrini C. (2003), *Slow Food. Le ragioni del gusto*, Laterza Ed.

Regolamento (CE) n.178/2002, del Parlamento europeo e del Consiglio del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare.

Regolamento (CE) n. 852/2004, del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 sull'igiene dei prodotti alimentari.

Regolamento (CE) n. 510/2006, del Consiglio del 20 marzo 2006 relativo alla protezione delle

indicazioni geografiche e delle denominazioni d'origine dei prodotti agricoli e alimentari.

UNI EN ISO 8402 (1994), Gestione per la qualità ed assicurazione della qualità - Termini e definizioni.

Nutrizione e salute

R. Pellati

Specialista in Scienza dell'Alimentazione

Specialista in Igiene

La prima colazione nei vari continenti

Un'indagine realizzata dall'Osservatorio Doxa e AIDEPI (Associazione delle Industrie Dolciarie e Produttori di Pasta) rivela che in Italia cresce la percentuale di coloro che iniziano la giornata con la colazione (circa 9 italiani su 10), e scendono quelli che non la fanno: negli ultimi 2 anni dal 14% al 9%.

Com'è noto, la colazione "dolce" risulta la preferita. Solo il 7% degli italiani consuma una colazione salata (si verifica in alcune zone liguri e pugliesi). Secondo la nutrizionista Valeria Del Balzo, la colazione dolce rappresenta il modello preferibile. Quella salata presenta un contenuto di grassi almeno doppio, un tasso di colesterolo e di sodio superiore, una quota sbilanciata di proteine di origine animale e un contenuto calorico pari a 415-440 kcal. La colazione dolce si colloca in un range di 230-315 calorie. Secondo l'antropologo alimentare Marino Niola il dolce al mattino ci permette di aumentare il tasso di serotonina, dandoci euforia e lo sprint necessario per affrontare la giornata.

La colazione "dolce" è preferita negli altri Paesi mediterranei (Francia Spagna e Grecia), mentre gli anglosassoni sono ancorati al tradizionale "egg and bacon", e in Turchia sono tipici formaggi, burro, uova, pomodori, cetrioli, peperoni, miele e marmellata.

Il periodico "Industrie Alimentari" riporta anche un excursus ideato da AIDEPI relativo alle colazioni consumate in altri continenti.

Negli USA un must della prima colazione sono i pancakes, i muffin, le ciambelle ricoperte di cioccolato o glassa di zucchero. Tuttavia sono numerosi gli statunitensi che non disdegnano il

salato (prosciutto, formaggio, uova, pane) oltre al caffè, tè, dolci, burro, torte.

In Cina, protagonista della colazione è il riso con tè bianco accompagnato dai "fan" (un piatto a base di cereali, come orzo, riso, granturco) o dai "cai" (un contorno cucinato con pesce, carne e verdure). Stranamente sono esclusi latte e caffè.

Gli indiani benestanti prediligono il tipico pane "chapati", gli involtini di riso e altri cereali. Nel Nord dell'India si prediligono i legumi.

Anche in Giappone la giornata inizia con il riso, uova, pesce, verdure e zuppe varie.

Nel Sud Est asiatico è molto apprezzato l'abbinamento riso-pesce, diffuso anche nelle Filippine e a Singapore, con l'aggiunta di latte e cocco.

In Africa, nei Paesi magrebini, al mattino si consuma il tè verde alla menta con fette di pane bianco abbinato al cous-cous con gocce di olio argan, dal sapore di nocciola e dal colore dorato.

In Senegal e nel Gambia, si prediligono invece le arachidi accompagnate da un impasto di miglio, pomodori e verdure.

La prima colazione in Sud America è quella più vicina alla nostra: comprende infatti caffèlatte, tè, pan dolce o piccoli croissant in formato mignon. Fa eccezione il Perù, dove si gustano piatti a base di mais, carne e olive oppure pesce fritto e cipolle. Tuttavia di primo mattino non mancano mai il burro, marmellata e un caratteristico pasticcio di carne, cipolle e pomodoro con tè e caffè come conclusione.

Acquacoltura in espansione

Oggi l'acquacoltura è una delle attività produttive con il più alto tasso di crescita ed è in grado di

fornire un soddisfacente prodotto ittico come risposta alla crescente domanda di proteine nobili non soddisfatta dalla pesca ottenuta con risorse marine naturali.

Un articolo di Dario Cianci segnala sul periodico dell'Accademia dei Georgofili che, mentre la pesca tradizionale è in calo, l'acquacoltura cresce ogni anno del 10% e, con il 40% del pesce alimentare, è il comparto delle produzioni animali con la maggior crescita a livello mondiale.

L'Italia nei passati decenni ha avuto un forte sviluppo in questo settore, ma se negli anni ottanta era in Europa il primo produttore di specie pregiate (soprattutto spigole e orate), oggi è il quinto, per il forte tracollo subito negli ultimi anni. Inoltre i Paesi del Sud Mediterraneo (Tunisia, Egitto, Libia e Turchia) stanno investendo in acquacoltura e saranno forti concorrenti per l'Italia che già dipende dalle importazioni per l'aumento del consumo interno e la stagnazione della pesca.

Il pesce è sempre stato un componente fondamentale nell'alimentazione umana. Le sue proteine sono di alto valore biologico e grazie al basso contenuto di purine e pirimidine determinano una bassa produzione di acido urico. In grassi sono presenti in misura variabile, ma sono apprezzati per gli acidi polinsaturi omega-3 omega-6 e il basso contenuto di colesterolo, per non dire dei fosfolipidi, vitamine e minerali. I pesci appaiono nella storia dell'alimentazione non solo come cibo, ma anche per il valore simbolico loro attribuito: in affreschi tombali egizi e nei mosaici romani sono stati simbolo di sessualità. Basta pensare alle sirene di Omero che incantavano i marinai e il delfino che era simbolo di Afrodite. Il Cristianesimo attribuisce al pesce un significato mistico infatti Gesù cerca i discepoli tra i pescatori e compie il miracolo dei pani e dei pesci.

Il consumatore frequentemente chiede se il pesce allevato è paragonabile a quello pescato. Ovviamente non è possibile una risposta valida per tutti i prodotti: le qualità bionutrizionali ed organolettiche dei prodotti di allevamento variano in relazione alla specie ed alle tecnologie adottate. Per di più il pesce di allevamento ha una minore

concentrazione di sali minerali e il rischio di possibili sofisticazioni dei mangimi con i quali viene alimentato, ma quello selvatico è esposto al rischio di scorie tossiche (metalli pesanti come il mercurio, ma anche diossina, e policlorobifenili).

Ci sono dubbi anche sulla possibilità di riconoscere il pescato dall'allevato, perché l'offerta di soggetti di taglie omogenee non significa che la scelta sia avvenuta in un impianto di acquacoltura. Può essere di aiuto l'etichetta sulla quale, per legge dell'UE devono essere precisati: la specie, se si tratta di pesce pescato o allevato, lo Stato membro o il Paese terzo in cui si è svolta la fase finale dell'allevamento, l'eventuale zona di cattura dei giovani esemplari.

Le specie più consigliate sono le carpe (comune, erbivora, testa grossa, argentata), la spigola (nota anche come branzino), l'orata, il cefalo, il merluzzo, il rombo, la trota, lo storione, la sogliola. La triglia e la spigola compensano il leggero eccesso di grassi con la ricchezza di fosforo e potassio. L'orata raccoglie molti consensi per il ridotto numero di lische.

Qualche dubbio rimane sul salmone perché concentra nelle carni le sostanze nocive prese dalle acque e per le scorie che rilascia nell'ambiente. I gamberi tropicali che arrivano dall'Asia e dall'America Latina lasciano qualche perplessità per il sistema intensivo e lo stesso dubbio rimane per il pangasio allevato in Vietnam in acque ad alto tasso di inquinamento (frequentemente scelto dalle mense aziendali e scolastiche per il basso costo e per la polpa priva di lische) e frequentemente importato surgelato e trattato con tripolifosfato di sodio.

Comunque va sottolineato che l'acquacoltura è una valida alternativa alla pesca per consentire la disponibilità di alimenti pregiati. Rimane il problema che le specie acquatiche sono stimate in 250.000 specie e, secondo la FAO, ne vengono utilizzate poco più di 1.200 delle quali 20 coprono l'80% della produzione mondiale. Di conseguenza c'è uno spazio enorme per studi bromatologici con l'aiuto della tecnologia alimentare e dell'inventiva gastronomica.

Cibi vegetali e prevenzione dei tumori

Sono sempre più numerose le evidenze del ruolo importante attribuito a tutti quei metaboliti secondari presenti in molti prodotti vegetali tipici della dieta mediterranea. Nel periodico "Farmacista 33" Francesca De Vecchi segnala che le piante producono composti (polifenoli, carotenoidi, terpeni, glucosinolati) che svolgono ruoli di difesa contro alcuni predatori o nei confronti di stress ambientali come temperatura o stress idrico.

Le Crucifere o Brassicacee famiglia di cui fanno parte broccoli, cavolfiori, rape, cavolini di Bruxelles, sono la principale fonte alimentare di glicosinolati, un gruppo di fitocomposti ai quali viene riconosciuta una spiccata attività di chemoprevenzione nell'uomo. Si tratta di composti solforati che vengono idrolizzati a isotiocianati e indoli dall'enzima mirosina (presente sia nei tessuti vegetali ma anche prodotto dai batteri intestinali) ed è a questi metaboliti bioattivi che si deve l'azione protettiva verso lo sviluppo di alcune forme tumorali.

I vegetali in questione, a cui proprio i glucosinolati conferiscono l'aroma caratteristico, vengono per lo più consumati cotti e il trattamento termico in seguito alle modificazioni fisico-chimiche che induce, può alterare la biodisponibilità delle molecole bioattive (che però dipende anche dal transito intestinale e dalla composizione della flora batterica).

La concentrazione dei glucosinolati può essere ridotta sia per azione dell'enzima suddetto (che comincia ad agire quando le pareti cellulari, in cui è contenuto, tendono a disgregarsi), sia per l'inattivazione indotta dal calore.

Di conseguenza un ruolo fondamentale viene giocato anche dal metodo di cottura: nella bollitura, per esempio, una prima perdita di composti si ha già in seguito al contatto con l'acqua (quindi più liquido, più perdita) e in seguito all'azione meccanica che questa esercita sulle strutture cellulari durante la cottura.

Secondo uno studio dell'Università di Parma, il vapore è la tipologia di cottura che meglio

preserva i glucosinolati presenti nei broccoli, cavolfiori e cavolini di Bruxelles. La perdita di elementi e il danno termico sono infatti contenuti con questa tecnica culinaria perché i vegetali non sono a contatto con il liquido di cottura, come avviene invece nella bollitura.

Anche le microonde garantiscono una maggior ritenzione di glucosinolati (rispetto alla bollitura), soprattutto quando si parte dal prodotto fresco rispetto a quello surgelato.

La NFI (Nutrition Foundation of Italy) segnala invece l'effetto protettivo nei confronti dei tumori del cavo orale, faringe e laringe ottenuto con aglio e cipolla consumati regolarmente dato che questi vegetali, oltre alle vitamine e ai sali minerali, contengono interessanti composti organo solforati. L'efficacia delle suddette sostanze era già stata messa in luce nei processi biologici focalizzati sull'apparato gastroenterico (stomaco e colon retto). Un'analisi eseguita dal

"INHANCE consortium" ha preso in esame gli effetti del consumo regolare di aglio, una o più volte al giorno (otto studi caso-controllo) ed è emersa una riduzione significativa (-26%) del rischio complessivo dei tumori a carico delle sedi suddette. Per quanto riguarda la cipolla, invece, il dato risulta significativo solo per un consumo di oltre 3 porzioni alla settimana (una porzione è intesa come una cipolla media di 80 g) e la protezione è significativa (con una riduzione del rischio del 30%)

solo per il tumore della laringe. Gli autori sottolineano inoltre che le abitudini alimentari che comprendono l'utilizzo di aglio con pomodori e olio evo sia in cottura (sughi, salse, preparazioni varie), sia a crudo, possono aver influito positivamente sul risultato. Ovviamente l'astensione dal fumo e la riduzione del consumo di alcoolici a livelli moderati restano comunque le principali strategie preventive nei confronti di tumori del cavo orale, faringe e laringe.

Tuttavia, analizzando separatamente vegetariani e vegani in due grandi studi effettuati in Inghilterra (Oxford Vegetarian Study-OVS ed European Prospective Investigation into Cancer

and Nutrition - EPIC Oxford) non è emersa alcuna differenza statisticamente significativa nella mortalità per le prime 6 maggiori cause di morte fra vegani e consumatori abituali di carne.

I dati sono risultati sovrapponibili anche confrontando la mortalità prima dei 75 anni e a 90 anni.

Questi risultati, riferibili a una popolazione britannica, suggeriscono che tra gruppi omogenei di vegetariani e di non vegetariani (escludendo persone che consumano pesce, ma non carne e i consumatori di carne 5 volte alla settimana in media) la mortalità per tutte le cause risulta praticamente comparabile.

La situazione è diversa per quanto riguarda le cause di morte: un tema che, suggeriscono i ricercatori, merita ulteriori approfondimenti.

Aumento di peso e flavonoidi

Uno studio condotto da Monica Bertola della Harvard T.C. Chan School of Public Health di Boston e pubblicato su *BMJ* del 2016 per determinare quali tipi di frutta e verdura siano migliori nel prevenire l'aumento di peso (in un determinato periodo di tempo) al fine di perfezionare le linee guida dietetiche, in estrema sintesi si può dire che bisogna rivolgersi ai cibi ad alto contenuto di flavonoidi.

Dei diversi tipi di flavonoidi, le classi associate con un miglior mantenimento del peso sono i flavonoli, gli antociani (provenienti dai consumi di mirtillo e fragole) e i polimeri flavonoidi (provenienti dai consumi di tè e mele).

La frutta come mele, pere, bacche rosse, rappresentano le principali fonti di flavonoidi, ma possono anche essere assunti in alcune verdure come i peperoni rossi.

Il sondaggio si è rivolto a 124.000 operatori sanitari statunitensi (provenienti da tutti gli stati degli Stati Uniti) e i partecipanti hanno riportato il loro peso ogni 2 anni compilando dei questionari dietetici, abitudini di vita, diagnosi mediche, età compresa fra i 27 e i 65 anni.

I risultati sono stati aggiustati per i fattori del-

lo stile di vita legati alla variazione di peso, le ore trascorse a guardare la TV, la sedentarietà, l'assunzione di bevande zuccherate, cibi fritti, bevande alcoliche, caffè, carni trasformate, cereali integrali, cibi ricchi di grassi provenienti da prodotti lattiero-caseari.

Lo studio presenta alcuni limiti che riguardano soprattutto i possibili errori dei partecipanti nel riportare con precisione i consumi e le variazioni del peso, ma anche il fatto di non aver indagato tutti i tipi di flavonoidi consumati.

È anche possibile che le persone che mangiano più frutta e verdura possono avere una più facile gestione del loro peso nel tempo, perché consumano una dieta più sana e introducono meno calorie.

Complessivamente, considerando tutti i dati raccolti, si è visto che la metà dei partecipanti ha consumato almeno 224-247 milligrammi di flavonoidi al giorno in un periodo di 4 anni. I partecipanti hanno guadagnato una media di 2,2-4,4 chili. Ma l'aumento di peso delle persone con un più alto consumo di cibi ricchi di flavonoidi si è stabilizzato ai limiti inferiori.

L'esperienza dei crocoburger e del latte di cammella

L'esperienza alimentare più originale vissuta nel corso di Expo recentemente svolto a Milano è stata senz'altro la possibilità di assaggiare i famosi "crocoburger" dello Zimbabwe, confezionati con carne di coccodrillo, un animale che ha sempre alimentato la fantasia nel cinema, nelle canzonette dei bambini, nelle leggende metropolitane, ma nella tavola italiana non è mai stato presente. Per indicare un rimpianto sono famose le "le lacrime di coccodrillo" che esistono davvero, dato che l'animale non suda e dovendo espellere i sali dall'organismo utilizza i propri globi oculari. Essendo un animale a rischio di estinzione si sono sviluppati gli allevamenti soprattutto per la produzione di scarpe, borse, cinture ed altri accessori del mercato del lusso.

Sulle proteine di origine esotica il periodico

Eurocarni riporta un articolo di Josette Baverez Blanco che ricorda come il cocodrillo è sempre stato utile alla sopravvivenza di certi popoli e quindi è una preda da cacciare per la sua carne bianca, gustosa, dal sapore di pollo. Il suo basso contenuto di grassi e colesterolo, e il suo alto valore proteico ne fanno invece una carne raccomandabile dal punto di vista dietetico. Girando il mondo, la sua carne si trova abbastanza facilmente, in particolare in Florida, dove bistecche e hamburger sono di uso comune, forse un cascame degli usi gastronomici degli indiani Seminole, ma anche in Sud Africa e Australia, o nelle Filippine, che esporta la carne per "l'upper class" russa.

Il console dello Zimbabwe, Georges El Badaoui, si è stupito che solo nel nostro Paese sia ancora vietata la vendita di questa carne così interessante e garantita a livello di salubrità, dato che è solo di allevamento. A Milano, nel corso di Expo si è potuto offrirgli al pubblico dopo severi controlli. Si tratta di una carne che si presta a vari metodi di cottura, fritta, alla brace. Volendo si può cucinare anche al ragù, con cipolla di Tropea, pomodorini di Pachino, aglio di Vessalico, per utilizzarla anche nei nostri menù.

Il console dello Zimbabwe ha anche dato una buona notizia: vengono reinseriti 3 cocodrilli in natura per ogni 100 uova messe in incubatrice. Quindi la conservazione della specie è garantita.

Un'altra notizia relativa ai cibi ancora da valorizzare è fornita dagli esperti del NutriCentre di Londra e riportata dall'Accademia dei Georgofili riguarda il latte di cammella e dromedaria: si tratta di un concentrato di benessere. Rispetto al latte vaccino infatti "l'oro bianco" del deserto, tanto amato dalle popolazioni Tuareg, è 5 volte più ricco di calcio e 3 volte di vitamina C, povero di caseina, ricco di acidi grassi polinsaturi. Cento ml contengono solamente 53 calorie rispetto alle 62 del latte intero di mucca. Il latte di cammella è leggero e digeribile al punto tale che può essere un ottimo sostituto del latte materno.

Dal punto di vista della salute, si ritiene anche che il latte di cammella e dromedaria tende a

migliorare l'attività del sistema immunitario. Si può acquistare anche in Italia in provincia di Catania dove Santo Fragalà alleva dromedarie che a regime producono fino a 20 litri al giorno.

Il problema sarcopenia

Com'è noto, la sarcopenia si caratterizza per la presenza di 3 criteri: ridotta massa muscolare, ridotta forza muscolare, ridotta performance fisica (cui si aggiungono disabilità fisica e ridotta qualità di vita). Si tratta di un tema attuale dato che in Italia la longevità è in progressivo aumento, con tutte le conseguenze che ne derivano (nutrizione inadeguata, inattività fisica, malattie neurovegetative, prolungato allettamento, problemi psicologici, ridotta funzione immunitaria e funzionalità degli organi vitali).

Le possibilità di valutazione oggi sono diverse, dalla tomografia assiale computerizzata alla risonanza magnetica nucleare, alla forza di contrazione della mano, alla velocità del cammino per una breve distanza.

Un gruppo di ricercatori diretti da Nicolaas E.P. Deutz della University of Arkansas for Medical Science, a Little Rock (USA) ha effettuato un trial randomizzato in doppio cieco in 24 soggetti anziani (pubblicato su *Clinical Nutrition*) ed ha rilevato che il trattamento con Hmb ha prevenuto il declino della massa muscolare magra.

La sostanza denominata Hmb (beta-idrossi-beta-metilbutirrato) è un metabolita dell'aminoacido leucina che riesce a contrastare la progressiva perdita dovuta all'età della massa magra corporea. In altre parole l'Hmb svolge a livello muscolare, attraverso meccanismi anticatabolici, una diretta influenza sulla sintesi proteica.

Per ottenere un'azione integrata sulla struttura e sulla funzione muscolare delle persone anziane è stato messo a punto un supplemento nutrizionale orale e bilanciato caratterizzato da una miscela di Hmb, vitamina D e proteine nobili, tutti nutrienti che contribuiscono al mantenimento della salute dell'apparato scheletrico e della normale funzionalità muscolare.

Obesità e genetica

Secondo Hermann Toplak, dell'European Association for the Study of Obesity, il sovrappeso e l'obesità sono il problema di salute più importante del 21° secolo.

Il fenomeno è di portata mondiale, ma interessa soprattutto 10 Paesi: USA (13%), Cina e India (15%), Russia, Brasile, Messico, Egitto, Germania, Pakistan e Indonesia. Com'è noto, l'Italia è molto interessata a questo problema.

Benché nella maggior parte dei casi dipenda da comportamenti poco salutari (diete ipercaloriche ed esagerata sedentarietà), in una percentuale piccola ma significativa la causa è nei geni. In altre parole è la manifestazione primaria di una malattia genetica. Infatti esiste una percentuale di persone obese (circa il 6%) in cui adottare uno stile di vita salutare non è sufficiente per evitare il sovrappeso.

Emilio Hirsch, professore di biologia applicata presso il Centro di biotecnologie molecolari dell'Università di Torino, che ha ricevuto un finanziamento da Telethon, (per studiare i meccanismi delle forme genetiche di obesità) afferma che la forma più comune di obesità congenita fino ad oggi identificata è dovuta ad un deficit di una proteina presente nel cervello: il recettore

della melanocortina-4 (MC4R). Questi soggetti presentano un aumento incontrollato dell'appetito già nel primo anno di vita e fin dall'infanzia sviluppano problemi ossei, eccessiva produzione di insulina che presto porta al diabete e successivamente anomalie della funzione riproduttiva.

Spiega il prof. Emilio Hirsch: "mentre studio con la mia equipe una famiglia di enzimi che nella cellula funzionano come dei megafoni, amplificando cioè dei segnali stimolati da altri, pensavamo che potessero essere sfruttati nella lotta ai tumori, ma come spesso accade nelle ricerche, ci siamo imbattuti in tutt'altro: se provavamo a "spegnerli" nel modello animale osservavamo un dimagrimento significativo, con perdita della massa grassa senza che venisse intaccato il muscolo. Successivamente si è notato che questi enzimi facevano da freno per un particolare recettore presente in alcune zone del cervello che normalmente regola la produzione di adrenalina. Gli individui che hanno questo recettore "difettoso" secernono poca adrenalina nel tessuto adiposo e quindi sono naturalmente resistenti al dimagrimento. I farmaci in grado di modulare l'attività del recettore MC4R saranno oggetto di future ricerche.

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

Gli autori devono inviare per posta elettronica il file contenente l'articolo all'indirizzo email: segreteria.fosan@gmail.com

Tutti gli articoli saranno valutati e quelli ritenuti idonei per la Rivista, saranno sottoposti all'esame dei *referee*. Se necessario gli autori dovranno dare risposte e chiarimenti ai quesiti posti dai *referee* e completare le informazioni mancanti.

L'articolo deve essere accompagnato da una dichiarazione, nella quale sia riportato che il materiale sottoposto per la pubblicazione non è stato presentato o pubblicato altrove e che lo stesso non è sottoposto per la pubblicazione su altre riviste scientifiche italiane o internazionali.

Il file contenente l'articolo deve includere al suo interno tutte le eventuali tabelle, figure e grafici: ogni tabella, figura, grafico deve essere identificato mediante un numero e un titolo esplicativo. Le tabelle, figure, grafici devono essere realizzate in modo da consentire una chiara lettura in stampa bianco e nero; qualora sia necessario, ai fini della comprensibilità dell'articolo, l'uso di tabelle o figure a colori, gli autori dovranno specificarlo al momento della richiesta di pubblicazione. Tutte le pagine devono essere numerate. Gli autori devono curare la battitura del testo, l'ortografia e la grammatica.

La rivista accetta i lavori sia in lingua italiana che in inglese con l'unica accortezza di redigere il riassunto in entrambe le lingue.

1.1 Regole redazionali per la presentazione di lavori originali

- a) titolo, nome ed indirizzo dell'autore o degli autori;
- b) riassunto (redatto in lingua italiana e in inglese)
- c) introduzione;
- d) scopo del lavoro
- e) materiali e metodi;
- f) risultati;
- g) discussione;
- h) conclusioni;
- i) eventuali note e ringraziamenti;
- l) bibliografia

1.2. Regole redazionali per la presentazione di di review

- a) titolo, nome ed indirizzo dell'autore o degli autori;
- b) riassunto (redatto in lingua italiana e in inglese)
- c) introduzione;
- d) testo della review;
- e) conclusioni;
- f) eventuali note e ringraziamenti,
- g) bibliografia

1.3. Regole redazionali per la presentazione di articoli di attualità scientifica (short communication)

- a) Testo libero

Regole generali per i lavori proposti.

Devono essere strutturati come segue:

- Titolo dell'articolo.
- Cognome degli autori e iniziale del nome.
- Affiliazione di ogni autore.
- Indicazione dell'autore al quale deve essere inviata la corrispondenza con indirizzo, telefono, fax, e-mail.
- Riassunto in italiano e *Abstract* in inglese (max 250 parole ciascuno); riportare lo scopo dello studio, la metodologia utilizzata, i principali risultati con le osservazioni, e le conclusioni del lavoro. Poiché il riassunto deve essere esplicativo al massimo, le abbreviazioni debbono essere ridotte al minimo e spiegate. Nel riassunto non devono comparire citazioni biografiche.
- Parole chiave in italiano e in inglese (max 4).
- Il testo esteso degli articoli deve contenere: una *introduzione* che descriva brevemente la materia in oggetto e fornisca al lettore una rassegna dei più recenti lavori sull'argomento; lo *scopo del lavoro* che deve indicare gli obiettivi preposti o gli effetti che vengono determinati dallo studio; i *metodi*, che devono dare una chiara e concisa descrizione del materiale e/o dei soggetti utilizzati nello studio, indicare gli strumenti e i metodi usati e descrivere l'eventuale analisi statistica impiegata; i *risultati*, che devono descrivere ciò che lo studio ha prodotto e possono essere esposti in tabelle o grafici o figure, evitando di riportare gli stessi risultati in più modi di presentazione. Tabelle, grafici e figure devono potersi spiegare in modo autonomo con legende e spiegazione

dei simboli; la *discussione* dei risultati, che deve riportare anche le *conclusioni* dedotte dallo studio e deve essere corredata con le citazioni bibliografiche più rilevanti della letteratura.

- I ringraziamenti possono essere riportati solo a fine testo e devono essere brevi. Possono essere ringraziate le Istituzioni e le Organizzazioni che hanno fornito i sostegni finanziari. I nomi devono essere scritti per esteso e le eventuali sigle in parentesi.
- La bibliografia deve includere soltanto i lavori citati nel testo e che siano stati pubblicati o in corso di stampa (*in press*) citando la rivista sulla quale saranno pubblicati. La citazione nel testo va posta con il nome del primo autore e anno di pubblicazione. La bibliografia va elencata a fine testo in ordine alfabetico. Per i lavori con più di sette autori verranno riportati soltanto i nomi dei primi tre autori seguiti da "et al". I titoli delle riviste scientifiche dovranno essere abbreviati secondo l'Index Medicus.
- La bibliografia va elencata come segue:
- **Per gli articoli delle riviste:** Autore/i. Titolo dell'articolo. Nome della rivista ed anno di pubblicazione, volume: pagine.
BRYAN F.L., DOYLE M.P., *Health risk and consequences of Salmonella and Campylobacter jejuni raw poultry*, J. Food Protect, 1995, 58: 326-344.
- **Per i libri:** Autore/i. Titolo del libro. Editore, anno di pubblicazione.
KLEINBAUM D.G., KUPPER L.L., *Applied regression analysis and other multivariable methods*, Duxbury Press Boston USA, 1985.
- **Per i capitoli dei libri:** Autore/i. Titolo del capitolo. In: Autore/i. Titolo del libro ed anno di pubblicazione, pagine
OLSON J.A., *Molecular action of carotenoids*, In: Caufield L.M., Olson J.A. (Eds.) Carotenoids in human health, annals of the New York Academy of Science 1993, vol. 691, 156-166.
- **Per i riferimenti legislativi:** Abbreviazione (D.L., D. Lgs., D.M., D.P.R., L., R.D., D.G.R., L.R., Reg.), numero (n.), del GG mese AAAA, in materia di "Titolo".
Reg. CE 852/2004 del 29/04/2004 in materia di "Igiene dei prodotti alimentari".
- **Per i siti web:**
per citare un intero sito web, senza specificare un particolare documento al suo interno, indicare l'URL del sito, aggiungendo la data di accesso.
<http://www.fosan.it/>, accesso 15 dicembre 2010;
per citare pagine web specifiche (o loro gruppi) indicare: Autore/i. Titolo. URL del sito, data di accesso.
TRUNCELLITO M. Gli esperti della FoSAN assolvono la frittura. Se fatta bene e consumata con moderazione.
<http://www.ilfattoalimentare.it/>, accesso 18 dicembre 2010.

LA RIVISTA DI SCIENZA DELL'ALIMENTAZIONE

Journal of Food Science and Nutrition

Abbonamenti 2016

Abbonamento standard carta + on line	Euro 130	<input type="checkbox"/>
Abbonamento solo carta	Euro 120	<input type="checkbox"/>
Solo accesso testi on line	Euro 80	<input type="checkbox"/>

- Scegliere il tipo di abbonamento sbarrando la casella corrispondente
- Segnalare eventuali promozioni, sbarrando la casella corrispondente
- Compilare il modello .
- Inviare via fax al numero 06 4880635 unitamente alla copia del pagamento o via e-mail: segreteria.fosan@gmail.com

Dati dell' abbonato

Il / la signor/a			
Funzione			
Ragione sociale Ente /società			
Settore attività			
Partita IVA Codice Fiscale			
Indirizzo fatturazione Via/piazza			CAP Città
Inviare la rivista presso Via/piazza			CAP Città
Telefono		Fax	cellulare
e-mail			

Modalità di pagamento

Segnare la modalità prescelta

Bonifico bancario	Conto Banco Posta n.000092508001 ABI07601 CAB03200 CIN 0 Codice BIC BPPIITRRXXX Codice IBAN IT 37 0 076 0103 2000 0009 2508 001	<input type="checkbox"/>
Versamento su c/c postale	N. 92508001 Intestato a : Fondazione Studio degli Alimenti e della Nutrizione, Via Varese, 46 - 00185 Roma – Causale: Abbonamento 2016, Rivista	<input type="checkbox"/>

Timbro _____
Firma _____

Informativa ai sensi dell'art. 3 D. Lgs. 196/2003

Titolare del trattamento dei dati personali è Fondazione Studio degli Alimenti e della Nutrizione, P.zza Esquilino 29, 00185 Roma, che potrà utilizzare i dati forniti dall'utente per finalità di marketing, newsletter, attività promozionali, offerte commerciali, analisi statistiche e ricerche di mercato. Qualora non desiderasse ricevere alcuna comunicazione la preghiamo di barrare la casella
Non desidero alcuna comunicazione

Fo.S.A.N. Fondazione per lo Studio degli Alimenti e della Nutrizione
Via Varese, 46- 00185 Roma- P.I. 01853241006 C.F. 07728550588 - www.fosan.it
Tel e Fax 06-4880635 E-mail: segreteria.fosan@gmail.com

Promozione Speciale per Librerie e Nuovi Clienti Abbonamenti 2016

	Prezzo al pubblico	Prezzo libreria	Promozione nuovi clienti*
Abbonamento standard carta + on line	€130	€ 110	€ 55
Abbonamento solo carta	€120	€ 100	€ 50
Solo accesso testi on line	€ 80	€ 70	€ 35

- La promozione si applica alle librerie selezionate che invino nuove sottoscrizioni entro 30/06/2016

- Compilare il modello con i dati della Libreria
- Inserire per ogni abbonamento i dati dell'abbonato, indicando il tipo di abbonamento
- Inviare via fax il modello compilato al numero 06 4880635 o via E-Mail (segreteria.fosan@gmail.com) unitamente alla copia della ricevuta di pagamento.

Dati della Libreria

Libreria			Partita IVA	
			Codice Fiscale	
standard carta + on line	<input type="checkbox"/>	solo carta	<input type="checkbox"/>	solo on line <input type="checkbox"/>
Indirizzo fatturazione Via/piazza			CAP Città	
Persona da contattare	Tel	Fax	Cell.	
e-mail				

Dati dei destinatari degli abbonamenti

Destinatario abbonamento			
Inviare la rivista presso Via/piazza		CAP Città	
Persona di riferimento destinatario		tel	e.mail

Modalità di pagamento

Segnare la modalità prescelta

Bonifico bancario	Conto Banco Posta n.000092508001 ABI07601 CAB03200 CIN 0 Codice BIC BPPIITRRXXX Codice IBAN IT 37 0 076 0103 2000 0009 2508 001 – causale:abbonamento 2016	<input type="checkbox"/>
Versamento su c/c postale	N. 92508001 Intestato a : Fondazione Studio degli Alimenti e della Nutrizione, Via Varese, 46 - 00185 Roma. Causale: Abbonamento 2016, Rivista	<input type="checkbox"/>
Assegno circolare	Intestato a : Fondazione Studio degli Alimenti e della Nutrizione,	<input type="checkbox"/>

Timbro _____ Firma _____

Informativa ai sensi dell'art. 3 D. Lgs. 196/2003

Titolare del trattamento dei dati personali è Fondazione Studio degli Alimenti e della Nutrizione, P.zza Esquilino 29, 00185 Roma, che potrà utilizzare i dati forniti dall'utente per finalità di marketing, newsletter, attività promozionali, offerte commerciali, analisi statistiche e ricerche di mercato. Qualora non desiderasse ricevere alcuna comunicazione la preghiamo di barrare la casella

___ Non desidero alcuna comunicazione

Finito di stampare nel mese di maggio 2016
con tecnologia *print on demand*
presso il Centro Stampa "Nuova Cultura"
p.le Aldo Moro n. 5, 00185 Roma
www.nuovacultura.it
per ordini: ordini@nuovacultura.it

[Int_STAMPE00325_205x285col_LM02]

IN QUESTO NUMERO

- Alimenti prebiotici: caratteristiche nutrizionali e salutistiche
- Physicochemical Characterization of some Italian rice varieties
- Il microbiota umano: funzioni biologiche e interrelazioni con lo stile di vita e alimentare
- Prodotti surgelati e consumatori
- Evoluzione del concetto di qualità alimentare
- Nutrizione e salute

FOSAN 

WWW.FOSAN.IT