



Fo.S.A.N.

FONDAZIONE PER LO STUDIO  
DEGLI ALIMENTI E DELLA NUTRIZIONE

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



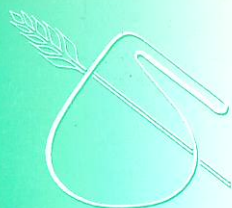
Organo Ufficiale della  
*Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione (S.I.S.A.)*

ISSN 0391-4887

3

Luglio - Settembre 2005  
Anno 34  
pubblicazione trimestrale

Sped. in abb. post. 70%  
Filiale di Roma



Fo.S.A.N.

FONDAZIONE PER LO STUDIO  
DEGLI ALIMENTI E DELLA NUTRIZIONE

LA RIVISTA DI  
**SCIENZA**  
DELL'

**ALIMENTAZIONE**

*Journal of Food Science and Nutrition*

ISSN 0391-4887

**3**

Luglio - Settembre 2005  
Anno 34  
pubblicazione trimestrale

Sped. in abb. post. 70%  
Filiale di Roma



Organo Ufficiale della  
*Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione (S.I.S.A.)*

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

*Direttore Responsabile: Dott. Amleto D'Amicis*

Il campo di interesse della Rivista è la Scienza dell'Alimentazione nel suo complesso. Le discipline scientifiche che confluiscono in questo vasto settore sono molte, dalle scienze agrarie, alla chimica e tecnologia, dalle scienze biologiche alla medicina ed alle scienze sociali. Tutte mirano, attraverso lo sviluppo di migliori tecniche di produzione, di controllo, di trasformazione, di conservazione e di distribuzione, al miglioramento della qualità degli alimenti destinati a soddisfare i bisogni nutrizionali dell'uomo e garantirne il buono stato di salute psico-fisico.

In questo ampio contesto, la rivista offre un punto di riferimento per la pubblicazione di ricerche originali e di nuove applicazioni nelle varie discipline delle Scienze dell'Alimentazione e della Nutrizione Umana. Inoltre, la rivista ospita rassegne critiche, note tecniche e lettere di commento ad articoli precedentemente pubblicati. Tutti gli articoli, lettere incluse, saranno sottoposti al controllo di qualificati referees. Ogni numero riporta anche notizie di attualità scientifica e recensioni di libri. I Supplementi ai numeri ordinari sono di natura monografica o raccolgono atti di congressi.

Periodico trimestrale pubblicato da:



Fo.S.A.N. Fondazione per lo Studio degli Alimenti e della Nutrizione  
Piazza dell'Esquilino, 29 - 00185 Roma - Tel. 06.4881972 - Fax 06.4744714



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

**Direttore Scientifico**

*Editor-in-chief*

A. D'Amicis

**Comitato Scientifico**

*Scientific Board*

Andreis G. (Torino)  
Arrigo L. (Genova)  
Aureli P. (Roma)  
Ballarini G. (Parma)  
Battistini N. (Modena)  
Bellomonte G. (Roma)  
Bottazzi V. (Piacenza)  
Bonomi A. (Parma)  
Blundell J.E. (Uk)  
Brighenti F. (Milano)  
Caldarone G. (Roma)  
Cannella C. (Roma)  
Carnovale E. (Roma)  
Cialfa E. (Roma)  
Corrao G. (Milano)  
Defrancesco F. (Trento)  
De Giovanni G. (Roma)  
Ducimetiere (Fr)  
Duco G. (Messina)  
Fedeli E.  
(S. Michele All'Adige)  
Ghiselli A. (Roma)  
Lanzola E. (Pavia)  
Liberatore F. (Roma)  
Lupien J.R. (Roma)  
Maggioni G. (Roma)  
Marabelli R. (Roma)  
Mariani Costantini A.  
(Roma)  
Martelli A. (Torino)  
Monacelli R. (Roma)  
Montedoro G. (Perugia)  
Olson J.A. (Usa)  
Pizzoferrato L. (Roma)  
Quaglia G.B. (Roma)  
Raimondi A. (Trieste)  
Riboli E. (Lione)  
Rotilio G. (Roma)  
Salvatori C. (Parma)  
Schaafsma G. (NL)  
Strata A. (Parma)  
Tateo F. (Milano)  
Ticca M. (Roma)  
Tomassi G. (Viterbo)  
Turrini A. (Roma)



## ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

Gli autori devono spedire il manoscritto in tre copie incluse tabelle, figure e grafici, di cui almeno una copia in originale, al seguente indirizzo:

Direzione e Redazione  
di "La Rivista di Scienza dell'Alimentazione" c/o Fo.S.A.N.  
Piazza dell'Esquilino, 29 - 00185 Roma  
e-mail fosan.rivista@tin.it

Tutti i manoscritti saranno valutati e quelli ritenuti idonei per la Rivista, saranno sottoposti all'esame dei *referees*. Se necessario gli autori dovranno dare risposte e chiarimenti ai quesiti posti dai *referees* e completare le informazioni mancanti sul manoscritto. Agli autori verrà quindi richiesto di spedire il testo in versione definitiva anche su dischetto 3.5" *high density* scritto con un programma di scrittura comune. Ai grafici va sempre allegato il foglio dati. Per i grafici stampati da strumenti (cromatografi, ecc.) si richiede una stampa molto marcata su carta bianca (allegare il foglio dati se possibile).

I manoscritti devono essere scritti in italiano o in inglese (quest'ultima lingua è preferita), il riassunto di non più di 250 parole deve essere scritto sia in italiano sia in inglese, qualunque sia la lingua usata nel testo esteso. Il manoscritto deve essere accompagnato da una lettera nella quale siano riportati:

- il nome, l'indirizzo, il telefono, il fax ed eventuale e-mail, dell'autore al quale va indirizzata la corrispondenza;
- una dichiarazione sottoscritta da tutti gli autori, 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 manoscritto, la bibliografia e la leggenda delle figure, devono essere scritti in doppio spazio, su un solo lato della pagina senza giustificare a destra. Tutte le pagine devono essere numerate. Il testo deve avere la numerazione delle righe. Gli autori devono curare la battitura del testo, l'ortografia e la grammatica.

Il manoscritto deve essere strutturato come segue:

- Una pagina con il titolo, il nome degli autori, l'affiliazione di ognuno, un titolo breve di non più di 40 caratteri, 3 o 4 parole chiave e il nome con l'indirizzo completo di telefono e fax dell'autore al quale deve essere inviata la corrispondenza.
- Un riassunto in italiano ed uno in inglese di 250 parole ciascuno nei quali siano riportati lo scopo dello studio, la metodologia utilizzata, i principali risultati con le osservazioni, e le conclusioni del lavoro. Poiché il riassunto deve essere esplicito al massimo, le abbreviazioni debbono essere ridotte al minimo e spiegate. Nel riassunto non devono comparire citazioni biografiche.
- Il testo esteso degli articoli originali deve contenere: una *introduzione* che descriva brevemente la materia in oggetto e fornisca al lettore una rassegna dei più recenti lavori sull'argomento; i *metodi* 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* devono descrivere ciò che lo studio ha prodotto e possono essere esposti in tabelle o in grafici o in figure, si deve evitare di riportare gli stessi risultati in più modi di presentazione. Tabelle, grafici e figure devono potersi spiegare in modo autonomo con leggende e spiegazione dei simboli; la *discussione* dei risultati deve riportare anche le *conclusioni* dedotte dallo studio e deve essere corredata con le citazioni bibliografiche della letteratura più rilevante.
- 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 e 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 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

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

Kleinbaum D.G., Kupper L.L. Applied regression analysis and other multivariable methods. Duxbury Press Boston USA, 1985

- per i capitoli dei libri

Olson J.A. Molecular action of carotenoids. In: Caufield L.M. Krinsky N.I. Olson J.A. (Eds) Carotenoids in human health. annals of the New York Academy of Science 1993, vol 691, 156-166.



# Fonti alimentari di nutrienti in un campione della popolazione italiana: proteine, lipidi, glucidi ed aminoacidi

Patrizia Gnagnarella<sup>1</sup>, Maria Parpinel<sup>2</sup>, Ettore Bidoli<sup>3</sup>

*1* Divisione di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Europeo di Oncologia - via Ripamonti, 435, 20141 Milano;

*2* Istituto di Igiene ed Epidemiologia, Università degli Studi di Udine, via Colugna 40 - 33100 Udine;

*3* Servizio di Epidemiologia, Centro di Riferimento Oncologico, Istituto Nazionale Tumori, via Pedemontana Occ.le, 33081 Aviano (PN)

**Riassunto.** La conoscenza delle abitudini dietetiche e delle maggiori fonti dei componenti alimentari è essenziale per meglio interpretare i risultati di indagini epidemiologiche e per fornire migliori linee guida nutrizionali in ambito preventivo. Con questo obiettivo, abbiamo analizzato il gruppo di controllo di un grande studio caso-controllo sul cancro svolto in sei aree italiane. Le abitudini dietetiche di 6101 persone prive di cancro, di cui 2811 maschi di età compresa tra i 19-79 anni (mediana 57) e 3290 femmine di età compresa tra 20-74 anni (mediana 56), sono state raccolte tra il 1991 e 1999 per mezzo di un questionario alimentare per frequenza di consumo somministrato da un'intervistatrice. In questo lavoro verranno presentati l'introito medio giornaliero e le maggiori fonti alimentari di proteine, lipidi, carboidrati, alcol e aminoacidi. Il pane risulta la principale fonte di proteine e amido per entrambi i sessi, mentre principale fonte di lipidi sono i contorni crudi, perché includono il condimento. I diversi tipi di frutta fresca sono risultati la prima fonte di glucidi solubili (26.1% nei maschi e 30.3% per le femmine). La carne e il pesce rappresentano le maggiori fonti di aminoacidi, mentre i legumi figurano tra le principali fonti di aminoacidi solo come minestrone e mai come contorno. Il consumo di latte e derivati predomina tra le femmine. I nostri risultati sono apparsi complessivamente in linea con quelli ottenuti da studi analoghi (studio INN-CA 1994-96, studio sulla dieta totale e Seven Countries Study) compiuti in Italia negli scorsi anni. Questo lavoro vuole fornire un ulteriore contributo alla conoscenza delle modalità di assunzione e della particolarità delle fonti dietetiche di alcuni componenti alimentari nella popolazione italiana.

*Summary.* In order to interpret the results of epidemiological researches and to provide better nutritional guidelines as regards prevention, it is essential to thoroughly investigate both food habits and the main sources of food components. For this purpose, we have analysed the control group of a large case-control study on cancer carried out in six Italian areas. The dietary habits of 6101 cancer-free subjects (2811 males aged 19-79 years (median age 57) and 3290 females aged 20-74 years (median age 56)) were recruited between 1991 and 1999 by means of an interviewer-administered food frequency questionnaire. The mean daily intake and the major food sources of proteins, fats, carbohydrates, alcohol and aminoacids are presented in this paper. Bread was found to be the first contributor to proteins and starch for both sexes; whereas the first sources of fats were raw vegetables, since these food items include oil (Italian dressing). The first contributors to sugars were fresh fruit (26.1% in males, and 30.3% in females). Meat and fish represented the most important source of aminoacids, while pulses represented a source of aminoacids only if consumed in vegetable soups and never as side dish. The consumption of milk and milk by-products is a prevailing habit in females. These results seem to be in line with those from similar studies (INN-CA study 1994-96, Total diet study and Seven Countries Study) carried out in Italy in the last few years. This work further highlights the modality of assumption and the specificity of dietary sources of some food components in the Italian population.

*Key words:* food consumption, diet, adults, macronutrients, aminoacids, food sources.

*Parole chiave:* consumi alimentari, dieta, adulti, macronutrienti, aminoacidi, fonti alimentari.

## Introduzione

La globalizzazione e l'espansione del mercato alimentare hanno provocato un cambiamento dei pattern alimentari di molti Paesi e la combinazione tra stile di vita sedentario, elevati consumi di grassi e di carboidrati semplici, e

scarsi consumi di fibra, ha determinato un aumento degli introiti calorici complessivi (Briefel & Johnson, 2004; D'Amicis, 2000). L'eccesso di energia risulta altresì associato (Willett, 1998), in modo più o meno forte, alle patologie croniche più diffuse, quali l'obesità, il

\*Indirizzo per la corrispondenza: Patrizia Gnagnarella, Divisione di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Europeo di Oncologia - via Ripamonti, 435, 20141 Milano - Tel. +39-02-57489823/15-16 (segr) Fax. +39-02-57489813 e-mail: patrizia.gnagnarella@ieo.it



diabete, le malattie cardiovascolari, l'ipertensione, l'infarto ed alcuni tipi di cancro, principali cause di disabilità permanente e di morti premature (WHO, 2003).

Le abitudini alimentari possono essere considerate uno dei determinanti modificabili delle malattie croniche, e il loro studio in gruppi di popolazione ben definite tramite la stima dell'assunzione di alimenti e di componenti alimentari rimane uno degli elementi cruciali per meglio ottimizzare le procedure di analisi degli studi epidemiologici e sostenere una giusta interpretazione dei risultati (Willett, 1998). L'insieme delle informazioni fornite dagli studi epidemiologici (dati primari) unitamente a dati secondari di varia origine, permettono inoltre di attuare interventi nutrizionali di prevenzione più mirati (Bevilacqua et al, 2003).

In questo articolo verranno presentati l'introito medio e le maggiori fonti alimentari di proteine, lipidi, glucidi, alcol e diciotto aminoacidi calcolati su un gruppo di soggetti coinvolti in un vasto studio di tipo caso-controllo italiano che ha investigato l'eziologia di alcune tra le neoplasie più frequenti nel nostro Paese (Bidoli et al, 1999).

#### **Materiali e metodi**

Sono state analizzate le abitudini alimentari dei 6101 controlli arruolati in uno studio di tipo caso-controllo, retrospettivo e multicentrico, condotto in Italia tra il 1991 ed il 1999 (Franceschi et al 1996, 1998, 2000; Bidoli et al, 2001, 2003). Di questi, 2811 erano maschi, con un'età compresa tra 19-79 anni (mediana 57) e 3290 femmine, con un'età compresa tra i 20-74 anni (mediana 56). I partecipanti provenivano da sei diverse aree geografiche: le province di Pordenone, Gorizia, Forlì, Genova e le aree urbane di Milano, per l'Italia settentrionale; Roma e Latina per l'Italia centrale e Napoli per l'Italia meridionale. Le abitudini dietetiche sono state rilevate utilizzando un questionario alimentare per frequenza di consumo (QAFC) somministrato da un'intervistatrice esperta e sviluppato per raccogliere informazioni relative alla dieta abituale dei soggetti arruolati, sia per quanto riguarda alcuni aspetti delle abitudini

alimentari che l'introduzione di energia totale, di macronutrienti, e di alcuni micronutrienti di particolare interesse. Il QAFC, descritto in dettaglio altrove (Parpinel et al, 1995, Decarli et al, 1999), è stato valutato sia per verificarne la riproducibilità (Franceschi et al 1993, 1995), che per verificarne la validità (Decarli et al, 1996), ottenendo buoni risultati.

#### **Calcolo del valore nutrizionale degli alimenti del QAFC**

Per questo studio l'introito giornaliero medio di energia e dei diversi componenti alimentari sono stati calcolati utilizzando un database alimentare sviluppato ad hoc contenente 298 alimenti semplici e complessi; per ciascuno di essi è riportata la composizione relativa a 24 componenti alimentari (Decarli et al, 1996) più 18 aminoacidi. Questo database è derivato da uno più ampio ed articolato (Salvini et al, 1998), utilizzato anche per studi internazionali (Charrondiè et al, 2002). I dati di composizione relativi agli aminoacidi sono stati integrati al database seguendo la medesima metodologia di compilazione (Salvini et al, 1996).

L'introito alimentare giornaliero medio dei nutrienti è stato calcolato sommando, per ogni singolo nutriente, il prodotto ottenuto moltiplicando il peso di ogni singola porzione di ogni voce del QAFC per la frequenza di consumo riportata dal soggetto. La percentuale di consumo per ciascun nutriente, espressa come percentuale assoluta e cumulativa, è stata calcolata in proporzione rispetto all'introito totale dello stesso nutriente nell'intero campione per ogni singola domanda del questionario (alimento semplice, gruppo di alimenti o ricette) ed ordinata separatamente per maschi e femmine.

#### **Risultati e discussione**

In tabella 1 è presentato l'introito medio giornaliero dei componenti alimentari per i soggetti inclusi nello studio. L'introito medio di energia per tutti i soggetti (incluso l'alcol) è di 9641 kJ (2304 kcal) (non presente in tabella) di cui il 15.6% proveniente dalle proteine, il 32.4% dai lipidi, il 44.4% dai carboidrati ed il 7.7% dall'al-



col. Nei maschi si riscontra un apporto energetico di 10954 kJ (2618 kcal) più alto che nelle femmine (8520 kJ, 2036 kcal) (dati non riportati in tabella): tale differenza è dovuta ai differenti fabbisogni nutrizionali dei due sessi, e riflette la

diversa distribuzione dei componenti alimentari energetici. Per i maschi infatti si nota la presenza, peraltro attesa, di un maggior consumo di alcol rispetto alle femmine (11.3% e 3.7% dell'energia totale complessiva rispettivamente).

Tab. 1: Introito medio giornaliero dei componenti alimentari in un campione della popolazione italiana. (Italia 1991-1999).

Componenti alimentari	Totali n. 6101		Maschi n. 2811		Femmine n. 3290	
	Media (%*)	DS	Media (%*)	DS	Media (%*)	DS
Proteine totali (g)	89.7 (15.6)	26.97	95.6 (14.6)	28.48	84.8 (16.7)	24.55
Lipidi totali (g)	83.0 (32.4)	33.58	89.2 (30.7)	35.82	77.7 (34.4)	30.58
Amido (g)	185.0	76.22	212.7	79.97	161.3	63.97
Glucidi solubili (g)	87.4	99.57	90.7	41.05	84.6	37.77
Glucidi disponibili (g)	272.5 (44.4)	39.43	303.5 (43.5)	104.47	246.0 (45.3)	86.83
Fibra alimentare (g)	21.5	7.58	22.9	7.68	20.3	7.30
Alcol (g)	25.2 (7.7)	34.25	42.2 (11.3)	41.5	10.7 (3.7)	15.75
Triptofano (mg)	947	291	998	307	904	270
Treonina (mg)	3399	1044	3585	1106	3240	960
Isoleucina (mg)	3960	1218	4204	1289	3752	1112
Leucina (mg)	7167	2204	7591	2333	6805	2019
Lisina (mg)	5795	1840	6051	1962	5575	1699
Metionina (mg)	2068	644	2175	686	1977	591
Cistina (mg)	1257	394	1372	415	1160	346
Fenilalanina (mg)	4015	1219	4271	1285	3796	1113
Tirosina (mg)	3121	986	3272	1042	2993	916
Valina (mg)	4600	1416	4869	1496	4370	1300
Arginina (mg)	4263	1320	4530	1404	4035	1198
Istidina (mg)	2434	749	2574	798	2315	681
Alanina (mg)	4018	1239	4270	1320	3803	1122
Acido aspartico (mg)	7281	2199	7657	2329	6960	2027
Acido glutammico (mg)	18730	5782	20319	6087	17372	5134
Glicina (mg)	3380	1048	3624	1115	3171	937
Prolina (mg)	6420	2066	6892	2172	6018	1880
Serina (mg)	4195	1280	4455	1348	3973	1175

\* Percentuali calcolate rispetto all'energia totale incluso l'alcol.

In tabella 2 sono riportate le dieci maggiori fonti alimentari di proteine, lipidi, amido e glucidi solubili. Principale fonte di proteine risulta essere il pane sia per i maschi, 12.5%, che per le femmine, 8.1%; la carne si posiziona al secondo posto nei maschi con la voce "Pollo/tacchino o coniglio arrosto, fritto o in umido" per il 6.6%, mentre nelle femmine sono gli "Altri formaggi come secondo piatto" a posizionarsi al secondo

posto per il 7.1%. Principale fonte di lipidi risulta essere "Insalata verde/radicchio rosso", che include nella ricetta il condimento, mentre la voce "Altri formaggi come secondo" si posiziona al secondo posto per entrambi i sessi. Il pane, insieme ai suoi sostituti, è il responsabile dell'apporto del 47.1% di amido per i maschi e del 43.2% per le femmine, mentre la pasta e il riso preparati con i diversi condimenti sono al secon-



Tab. 2: Le prime dieci maggiori fonti alimentari di proteine, lipidi, amido e glucidi solubili in un campione della popolazione italiana. (Italia 1991-1999)

<i>Maschi (2811 soggetti)</i>			<i>Femmine (3290 soggetti)</i>		
<i>Macronutrienti/domande questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>	<i>Macronutrienti/domande questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>
<b>Proteine</b>			<b>Proteine</b>		
Pane	12.5	12.5	Pane	8.1	8.1
Pollo/tacchino/coniglio arrosto...	6.6	19.1	Altri formaggi come secondo	7.1	15.3
Altri formaggi come secondo	6.1	25.2	Pollo/coniglio/coniglio arrosto ...	6.6	21.9
Bistecca/carne magra	5.9	31.1	Pollo/tacchino o coniglio lesso	6.2	28.1
Pasta/riso ragù	5.8	36.8	Bistecca/carne magra	6.1	34.2
Pollo/tacchino o coniglio lesso	4.3	41.1	Pesce/molluschi lessi	4.3	38.5
Pasta/riso pomodoro	3.8	44.9	Ricotta/mozzarella secondo	3.4	42.0
Pesce/molluschi lessi	3.6	48.5	Pasta/riso pomodoro	3.4	45.4
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.2	51.6	Pasta/riso ragù	3.4	48.8
Minestrone/pasta fagioli	2.9	54.5	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.1	51.8
<b>Lipidi</b>			<b>Lipidi</b>		
Insalata verde/radicchio rosso	7.7	7.7	Insalata verde/radicchio rosso	8.3	8.3
Altri formaggi come secondo	6.2	13.8	Altri formaggi come secondo	6.9	15.2
Pollo/coniglio/coniglio arrosto ....	4.4	18.2	Pollo/coniglio/coniglio arrosto ....	4.2	19.4
Pasta/riso ragù	4.0	22.2	Pomodori	3.9	23.4
Pasta/riso pomodoro	3.9	26.1	Ricotta/mozzarella secondo	3.8	27.2
Pomodori	3.8	29.9	Pasta/riso pomodoro	3.3	30.5
Latte intero	3.0	32.9	Latte intero	3.1	33.6
Prosciutto crudo/bresaola/speck	2.9	35.8	Patate bollite	2.9	36.5
Patate bollite	2.9	38.7	Prosciutto crudo/bresaola/speck	2.8	39.3
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	2.6	41.3	Risotto	2.5	41.8
<b>Amido</b>			<b>Amido</b>		
Pane	42.7	42.7	Pane	32.9	32.9
Pasta/riso pomodoro	11.0	53.7	Pasta/riso pomodoro	11.7	44.6
Pasta/riso ragù	6.6	60.3	Cracker/grissini/fette biscottate	7.4	52.0
Cracker/grissini/fette biscottate	4.4	64.7	Pasta/riso bianco	5.7	57.7
Risotto	4.2	68.9	Biscotti secchi	5.1	62.8
Pasta/riso bianco	4.2	73.1	Risotto	5.1	67.9
Biscotti secchi	4.1	77.2	Minestrone/pasta fagioli	4.6	72.5
Minestrone/pasta fagioli	3.9	81.0	Pasta/riso ragù	4.6	77.1
Pizza	2.6	83.6	Pizza	3.1	80.2
Lasagne/cannelloni/tortellini	2.1	85.7	Pane integrale	2.9	83.1
<b>Glucidi solubili</b>			<b>Glucidi solubili</b>		
Mele/pere	16.4	16.4	Mele/pere	16.4	16.4
Zucchero	12.4	28.8	Zucchero	10.0	26.5
Bibite gassate	6.0	34.8	Aranci/pompelmi/mandarini	7.1	33.6
Aranci/pompelmi/mandarini	5.9	40.7	Bibite gassate	4.2	37.8
Latte intero	4.2	44.9	Latte intero	4.2	42.0
Uva	3.8	48.7	Uva	4.0	46.0
Pane	3.3	52.0	Latte parzialmente scremato	3.6	49.6
Crostata alla frutta o marmellata	3.2	55.2	Crostata alla frutta o marmellata	2.9	52.5
Latte parzialmente scremato	3.1	58.3	Pesche/pesche noci/albicocche ...	2.8	55.3
Biscotti secchi	2.7	61.0	Biscotti secchi	2.7	58.0

do posto, con circa il 32% per entrambi i sessi. Relativamente ai glucidi solubili, la frutta rappresentata dalle voci "Mele/pere", "Aranci/pompelmi/mandarini" e "Uva" nei maschi rappresenta complessivamente il 26.1%, nelle femmine invece a queste si aggiungono anche le "Pesche/pesche noci/albicocche ...", per un totale di 30.3%. Lo zucchero si posiziona in entrambi i sessi al secondo posto, con una leggera prevalenza nei maschi.

Confrontando questi risultati con quelli ottenuti dall'indagine nazionale dei consumi INN-CA 1994-96 (Turrini et al, 2001), si vede che il QAFC è in grado di raccogliere in modo adeguato le informazioni per i gruppi alimentari, in modo particolare per quello che riguarda il gruppo dei cereali, dominato da pane e pasta. Entrambe le indagini evidenziano inoltre la maggiore inclinazione da parte del campione femminile a consumare i sostituti del pane rispetto ai maschi.

Per il gruppo degli alimenti proteici, lo studio INN-CA (Turrini et al, 2001) e uno studio sulla dieta di riferimento di una popolazione nel nord Italia -Total Diet (Ciappellano et al, 1998), mettono al primo posto nei consumi la carne di bovino, seguita dalla carne di pollo e il pesce, mentre dai nostri dati la carne di pollo risulta essere maggiormente consumata rispetto alla carne di bovino, sia nei maschi (16.8% pollo vs 14.8% bovino) che nelle femmine (18.7% pollo vs 13.5% bovino). Questa situazione è dovuta probabilmente alla diversa distribuzione geografica dei soggetti coinvolti negli studi e da alcune caratteristiche specifiche del campione esaminato (età, ospedalizzazione). Da segnalare inoltre, per le femmine, la presenza di un consumo significativo di "Ricotta/mozzarella come secondo piatto" e del "Latte parzialmente scremato", quasi completamente assenti nei maschi. Questo potrebbe essere dovuto alla diffusione, negli ultimi anni, di alcune indicazioni nutrizionali specifiche legate all'età relativamente alta del campione stesso ed allo stato menopausale.

In tabella 3 sono riportate le prime dieci fonti alimentari dei diciotto aminoacidi. Le voci alimentari "Pollo/tacchino o coniglio lesso", "Pollo/tacchino/coniglio arrosto" e la "Bistecca/

carne magra" sono sempre presenti tra le prime dieci fonti di tutti i diciotto aminoacidi. La voce "Pesce/molluschi lessi" è anch'essa sempre presente tra i primi tranne che nel caso della prolina, e sia nei maschi che nelle femmine, e dell'acido glutammico, solo nel caso nei maschi. Il pane è stabile tra le prime dieci maggiori fonti di aminoacidi, eccetto nel caso della lisina (il suo aminoacido limitante) nelle femmine. Tra gli altri cereali, solo in un caso troviamo la voce "Crackers/grissini/fette biscottate", come fonte di acido glutammico nelle femmine, e la voce "Lasagne/cannelloni/tortellini", come fonte di cistina nei maschi. I legumi sono presenti tra le maggiori fonti di aminoacidi solo come "Minestrone/pasta fagioli" e mai come contorno. Per quanto riguarda il gruppo del latte ed i suoi derivati, la voce "Altri formaggi come secondo piatto" è stabilmente presente tra le prime dieci voci alimentari più consumate e questo è probabilmente legato alla presenza di un numero elevato di individui provenienti dal nord dell'Italia, regioni ove il consumo dei derivati del latte è più alto rispetto al centro e sud Italia (Turrini et al, 2001).

Per concludere, in tabella 4, è riportato un confronto tra l'introito medio giornaliero di nutrienti del nostro campione, rispetto a quello rilevato in tre studi italiani: INN-CA (D'Amicis, 2000), Total Diet (Ciappellano et al, 1998) e Seven Country Studies - SCS (Alberti-Fidanza et al, 1999). Il consumo di proteine totali si attesta, mediamente, sui 89.7g/die, confrontabile sia con i valori riportati nello studio INN-CA (D'Amicis, 2000), 87.1g/die, che rispetto a quelli dello studio Total Diet (Ciappellano et al, 1998), 89.4g/die. Maggiori scostamenti si rilevano nel confronto con i risultati del SCS (Alberti-Fidanza et al, 1999), dove i valori delle proteine sono decisamente superiori, rispettivamente di 11.3g/die nei confronti di Crevalcore e 15.9g/die nei confronti di Montegiorgio. Per quanto riguarda l'introito di grassi (83g/die) differenze si rilevano nei confronti dello studio Total Diet (93.4g/die) e del SCS (78.4g/die per Crevalcore e 72.5g/die per Montegiorgio), nel primo caso lo scostamento sembrerebbe dovuto al tipo di studio, che prevedeva le analisi chimiche della dieta di riferi-



Tab. 3: Le prime dieci maggiori fonti alimentari di aminoacidi in un campione della popolazione italiana. (Italia 1991-1999)

<b>Maschi (2811 soggetti)</b>			<b>Femmine (3290 soggetti)</b>		
<i>A/</i> domanda questionario	%	% cum	<i>A/</i> domanda questionario	%	% cum
<b>Triptofano</b>			<b>Triptofano</b>		
Pane	8.6	8.6	Altri formaggi come secondo	7.3	7.3
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.9	15.5	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.8	14.1
Altri formaggi come secondo	6.3	21.8	Pollo/tacchino o coniglio lesso	6.6	20.7
Pasta/riso ragù	6.0	27.7	Bistecca/carne magra	6.0	26.7
Bistecca/carne magra	5.9	33.6	Pane	5.5	32.1
Pollo/tacchino o coniglio lesso	4.7	38.3	Pesce/molluschi lessi	4.7	36.8
Pesce/molluschi lessi	4.0	42.2	Latte intero	3.8	40.7
Latte intero	3.7	45.9	Latte parzialmente scremato	3.6	44.3
Pasta/riso pomodoro	3.6	49.4	Pasta/riso ragù	3.4	47.7
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.2	52.6	Ricotta/mozzarella secondo	3.1	50.9
<b>Treonina</b>			<b>Treonina</b>		
Pane	8.7	8.7	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.9	7.9
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	8.0	16.6	Pollo/tacchino o coniglio lesso	7.7	15.6
Bistecca/carne magra	6.6	23.2	Bistecca/carne magra	6.8	22.3
Pasta/riso ragù	5.9	29.1	Altri formaggi come secondo	6.1	28.5
Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.4	34.5	Pane	5.5	34.0
Altri formaggi come secondo	5.3	39.8	Pesce/molluschi lessi	5.1	39.2
Pesce/molluschi lessi	4.3	44.1	Latte intero	3.5	42.7
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.6	47.7	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.4	46.1
Latte intero	3.3	51.1	Pasta/riso ragù	3.4	49.5
Pasta/riso pomodoro	2.9	54.0	Latte parzialmente scremato	3.3	52.8
<b>Isoleucina</b>			<b>Isoleucina</b>		
Pane	11.1	11.1	Altri formaggi come secondo	7.3	7.3
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.2	18.4	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.3	14.6
Altri formaggi come secondo	6.3	24.6	Pane	7.2	21.8
Bistecca/carne magra	6.0	30.7	Pollo/tacchino o coniglio lesso	6.8	28.6
Pasta/riso ragù	5.8	36.5	Bistecca/carne magra	6.2	34.9
Pollo/tacchino o coniglio lesso	4.7	41.2	Pesce/molluschi lessi	4.7	39.5
Pesce/molluschi lessi	3.9	45.1	Latte intero	3.6	43.1
Latte intero	3.3	48.4	Pasta/riso ragù	3.4	46.5
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.3	51.8	Latte parzialmente scremato	3.4	49.9
Pasta/riso pomodoro	3.3	55.1	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.2	53.1
<b>Leucina</b>			<b>Leucina</b>		
Pane	11.4	11.4	Altri formaggi come secondo	7.9	7.9
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.8	18.2	Pane	7.3	15.2
Altri formaggi come secondo	6.7	24.9	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.8	22.0
Bistecca/carne magra	6.1	31.0	Pollo/tacchino o coniglio lesso	6.4	28.3
Pasta/riso ragù	5.6	36.6	Bistecca/carne magra	6.4	34.7
Pollo/tacchino o coniglio lesso	4.4	41.0	Pesce/molluschi lessi	4.3	39.0
Pesce/molluschi lessi	3.6	44.6	Latte intero	3.6	42.6
Latte intero	3.4	48.0	Latte parzialmente scremato	3.4	46.0
Pasta/riso pomodoro	3.3	51.3	Ricotta/mozzarella secondo	3.4	49.4
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.3	54.6	Pasta/riso ragù	3.2	52.7

(Continua)



Tab. 3: (continua). Le prime dieci maggiori fonti alimentari di aminoacidi in un campione della popolazione italiana. (Italia 1991-1999)

<b>Maschi (2811 soggetti)</b>			<b>Femmine (3290 soggetti)</b>		
<i>Aa/domanda questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>	<i>Aa/domanda questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>
<b>Lisina</b>			<b>Lisina</b>		
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	9.0	9.0	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	8.7	8.7
Bistecca/carne magra	8.3	17.3	Pollo/tacchino o coniglio lesso	8.6	17.3
Altri formaggi come secondo	7.2	24.5	Bistecca/carne magra	8.3	25.6
Pollo/tacchino o coniglio lesso	6.2	30.6	Altri formaggi come secondo	8.1	33.8
Pasta/riso ragù	5.7	36.4	Pesce/molluschi lessi	5.9	39.7
Pesce/molluschi lessi	5.1	41.4	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	4.0	43.7
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	4.3	45.8	Ricotta/mozzarella secondo	3.5	47.2
Pane	3.8	49.6	Latte intero	3.4	50.6
Formaggio grattugiato	3.3	52.9	Pasta/riso ragù	3.2	53.8
Latte intero	3.3	56.2	Latte parzialmente scremato	3.2	57
<b>Metionina</b>			<b>Metionina</b>		
Altri formaggi come secondo	8.0	8.0	Altri formaggi come secondo	9.2	9.2
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.9	15.9	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.8	17.0
Pane	7.6	23.6	Pollo/tacchino o coniglio lesso	7.5	24.5
Bistecca/carne magra	7.1	30.7	Bistecca/carne magra	7.3	31.7
Pasta/riso ragù	5.5	36.2	Pane	4.9	36.6
Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.3	41.5	Pesce/molluschi lessi	4.8	41.4
Pesce/molluschi lessi	4.1	45.6	Ricotta/mozzarella secondo	4.4	45.8
Formaggio grattugiato	3.7	49.3	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.4	49.2
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.6	52.9	Pasta/riso ragù	3.1	52.4
Latte intero	2.7	55.7	Formaggio grattugiato	3.1	55.4
<b>Cistina</b>			<b>Cistina</b>		
Pane	22.7	22.7	Pane	15.6	15.6
Pasta/riso ragù	6.2	28.9	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.1	21.7
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	5.8	34.7	Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.5	27.2
Pasta/riso pomodoro	5.1	39.8	Bistecca/carne magra	5.1	32.3
Bistecca/carne magra	4.6	44.4	Pasta/riso pomodoro	4.9	37.2
Pollo/tacchino o coniglio lesso	3.6	48.1	Pasta/riso ragù	3.8	41.0
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	2.7	50.8	Cracker/grissini/fette biscottate	3.4	44.5
Pesce/molluschi lessi	2.7	53.5	Pesce/molluschi lessi	3.4	47.9
Lasagne/cannelloni/tortellini	2.5	56.0	Altri formaggi come secondo	2.9	50.8
Altri formaggi come secondo	2.3	58.3	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	2.8	53.5
<b>Fenilalanina</b>			<b>Fenilalanina</b>		
Pane	13.6	13.6	Pane	8.9	8.9
Altri formaggi come secondo	6.7	20.3	Altri formaggi come secondo	7.8	16.7
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	5.9	26.2	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	5.9	22.6
Pasta/riso ragù	5.5	31.7	Bistecca/carne magra	5.6	28.2
Bistecca/carne magra	5.3	37.0	Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.5	33.7
Pollo/tacchino o coniglio lesso	3.8	40.8	Pesce/molluschi lessi	4.0	37.7
Pasta/riso pomodoro	3.8	44.6	Pasta/riso pomodoro	3.4	41.1
Pesce/molluschi lessi	3.3	47.9	Ricotta/mozzarella secondo	3.3	44.4
Minestrone/pasta fagioli	3.1	51.0	Pasta/riso ragù	3.3	47.6
Formaggio grattugiato	3.1	54.1	Latte intero	3.2	50.9

(Continua)

Tab. 3: (continua). Le prime dieci maggiori fonti alimentari di aminoacidi in un campione della popolazione italiana. (Italia 1991-1999)

<b>Maschi (2811 soggetti)</b>			<b>Femmine (3290 soggetti)</b>		
<i>Aa/domanda questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>	<i>Aa/domanda questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>
<b>Tirosina</b>			<b>Tirosina</b>		
Altri formaggi come secondo	9.5	9.5	Altri formaggi come secondo	10.8	10.8
Pane	7.3	16.8	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.3	17.1
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.4	23.2	Pollo/tacchino o coniglio lesso	6.0	23.1
Bistecca/carne magra	5.9	29.1	Bistecca/carne magra	6.0	29.0
Pasta/riso ragù	5.4	34.5	Pane	4.6	33.6
Formaggio grattugiato	4.5	38.9	Ricotta/mozzarella secondo	4.5	38.1
Pollo/tacchino o coniglio lesso	4.2	43.2	Pesce/molluschi lessi	4.1	42.2
Pesce/molluschi lessi	3.5	46.7	Formaggio grattugiato	3.6	45.9
Latte intero	3.2	49.9	Latte intero	3.3	49.2
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.2	53.1	Latte parzialmente scremato	3.1	52.3
<b>Valina</b>			<b>Valina</b>		
Pane	10.7	10.7	Altri formaggi come secondo	7.8	7.8
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.9	17.6	Pane	6.9	14.7
Altri formaggi come secondo	6.7	24.3	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	6.9	21.6
Pasta/riso ragù	5.7	30.0	Pollo/tacchino o coniglio lesso	6.6	28.2
Bistecca/carne magra	5.7	35.7	Bistecca/carne magra	5.8	34.0
Pollo/tacchino o coniglio lesso	4.6	40.3	Pesce/molluschi lessi	4.2	38.1
Latte intero	3.5	43.8	Latte intero	3.7	41.9
Pasta/riso pomodoro	3.5	47.3	Latte parzialmente scremato	3.5	45.3
Pesce/molluschi lessi	3.5	50.7	Pasta/riso ragù	3.3	48.7
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.1	53.9	Pasta/riso pomodoro	3.1	51.8
<b>Arginina</b>			<b>Arginina</b>		
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	8.6	8.6	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	8.6	8.6
Pane	7.9	16.5	Pollo/tacchino o coniglio lesso	8.4	17.0
Bistecca/carne magra	7.8	24.3	Bistecca/carne magra	8.1	25.1
Pasta/riso ragù	6.5	30.8	Pesce/molluschi lessi	5.2	30.3
Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.8	36.6	Pane	5.1	35.4
Pesce/molluschi lessi	4.3	40.9	Altri formaggi come secondo	4.0	39.4
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	4.2	45.1	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	4.0	43.4
Altri formaggi come secondo	3.5	48.5	Pasta/riso ragù	3.8	47.3
Minestrone/pasta fagioli	3.3	51.8	Minestrone/pasta fagioli	3.3	50.6
Prosciutto crudo/bresaola/speck	3.1	54.9	Prosciutto crudo/bresaola/speck	3.1	53.6
<b>Istidina</b>			<b>Istidina</b>		
Pane	8.7	8.7	Pollo/tacchino o coniglio lesso	8.0	8.0
Bistecca/carne magra	7.8	16.5	Bistecca/carne magra	8.0	16.1
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.8	24.3	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.7	23.8
Altri formaggi come secondo	5.9	30.2	Altri formaggi come secondo	6.9	30.7
Pasta/riso ragù	5.7	36.0	Pane	5.6	36.2
Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.6	41.6	Pesce/molluschi lessi	4.6	40.9
Pesce/molluschi lessi	3.9	45.5	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.6	44.5
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.8	49.2	Pasta/riso ragù	3.3	47.8
Prosciutto crudo/bresaola/speck	3.2	52.5	Prosciutto crudo/bresaola/speck	3.2	51.0
Pasta/riso pomodoro	2.9	55.4	Ricotta/mozzarella secondo	3.1	54.0

(Continua)



Tab. 3: (continua). Le prime dieci maggiori fonti alimentari di aminoacidi in un campione della popolazione italiana. (Italia 1991-1999)

<i>Maschi (2811 soggetti)</i>			<i>Femmine (3290 soggetti)</i>		
<i>Aa/domanda questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>	<i>Aa/domanda questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>
<b>Alanina</b>			<b>Alanina</b>		
Pane	8.3	8.3	Bistecca/carne magra	8.3	8.3
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	8.1	16.4	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	8.1	16.4
Bistecca/carne magra	8.0	24.4	Pollo/tacchino o coniglio lesso	7.8	24.2
Pasta/riso ragù	6.4	30.8	Pesce/molluschi lessi	5.9	30.1
Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.4	36.2	Pane	5.4	35.5
Pesce/molluschi lessi	4.8	41.1	Altri formaggi come secondo	4.6	40.0
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	4.2	45.3	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	4.0	44.1
Altri formaggi come secondo	3.9	49.2	Pasta/riso ragù	3.7	47.8
Prosciutto crudo/bresaola/speck	3.4	52.6	Prosciutto crudo/bresaola/speck	3.4	51.2
Pasta/riso pomodoro	2.9	55.5	Minestrone/pasta fagioli	2.6	53.9
<b>Acido aspartico</b>			<b>Acido aspartico</b>		
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.9	7.9	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	7.7	7.7
Bistecca/carne magra	7.1	14.9	Pollo/tacchino o coniglio lesso	7.4	15.1
Pasta/riso ragù	6.1	21.0	Bistecca/carne magra	7.2	22.3
Pane	6.0	27.0	Altri formaggi come secondo	5.7	28.0
Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.2	32.2	Pesce/molluschi lessi	5.2	33.2
Altri formaggi come secondo	5.0	37.2	Pane	3.8	37.0
Pesce/molluschi lessi	4.4	41.6	Minestrone/pasta fagioli	3.7	40.7
Minestrone/pasta fagioli	3.8	45.3	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.5	44.3
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	3.8	49.1	Pasta/riso ragù	3.5	47.7
Pasta/riso pomodoro	3.1	52.2	Prosciutto crudo/bresaola/speck	2.8	50.5
<b>Acido glutammico</b>			<b>Acido glutammico</b>		
Pane	21.8	21.8	Pane	14.7	14.7
Pasta/riso ragù	6.1	27.8	Altri formaggi come secondo	6.0	20.7
Pasta/riso pomodoro	5.9	33.7	Pasta/riso pomodoro	5.5	26.2
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	4.9	38.6	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	5.2	31.4
Altri formaggi come secondo	4.9	43.5	Bistecca/carne magra	4.8	36.2
Bistecca/carne magra	4.5	48.0	Pollo/tacchino o coniglio lesso	4.5	40.7
Pollo/tacchino o coniglio lesso	3.0	50.9	Pasta/riso ragù	3.7	44.4
Latte intero	2.7	53.6	Cracker/grissini/fette biscottate	3.5	47.9
Minestrone/pasta fagioli	2.5	56.1	Latte intero	3.0	50.9
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	2.5	58.6	Pesce/molluschi lessi	3.0	53.9
<b>Glicina</b>			<b>Glicina</b>		
Pane	11.3	11.3	Bistecca/carne magra	8.9	8.9
Bistecca/carne magra	8.4	19.7	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	8.1	17.0
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	8.0	27.7	Pollo/tacchino o coniglio lesso	7.5	24.5
Pasta/riso ragù	6.5	34.2	Pane	7.4	32.0
Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.1	39.3	Pesce/molluschi lessi	5.6	37.6
Pesce/molluschi lessi	4.5	43.8	Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	4.3	41.9
Spezzatino/brasato/polpette/arrosto	4.5	48.3	Pasta/riso ragù	3.9	45.8
Pasta/riso pomodoro	3.1	51.4	Altri formaggi come secondo	3.6	49.4
Altri formaggi come secondo	3.0	54.4	Prosciutto crudo/bresaola/speck	2.9	52.3
Manzo lesso	2.9	57.2	Pasta/riso pomodoro	2.8	55.1

(Continua)



Tab. 3: (continua). Le prime dieci maggiori fonti alimentari di aminoacidi in un campione della popolazione italiana. (Italia 1991-1999)

<b>Maschi (2811 soggetti)</b>			<b>Femmine (3290 soggetti)</b>		
<i>Aa/domanda questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>	<i>Aa/domanda questionario</i>	<i>%</i>	<i>% cum</i>
<b>Prolina</b>			<b>Prolina</b>		
Pane	21.0	21.0	Pane	13.9	13.9
Altri formaggi come secondo	8.5	29.4	Altri formaggi come secondo	10.2	24.1
Pasta/riso ragù	4.9	34.3	Latte intero	4.3	28.3
Pasta/riso pomodoro	4.5	38.8	Pasta/riso pomodoro	4.1	32.5
Formaggio grattugiato	4.1	42.9	Ricotta/mozzarella secondo	4.1	36.6
Latte intero	3.9	46.8	Latte parzialmente scremato	4.0	40.6
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	3.9	50.7	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	4.0	44.7
Bistecca/carne magra	3.6	54.3	Bistecca/carne magra	3.8	48.5
Latte parzialmente scremato	3.2	57.5	Formaggio grattugiato	3.5	52.0
Pollo/tacchino o coniglio lesso	2.3	59.8	Pollo/tacchino o coniglio lesso	3.4	55.4
<b>Serina</b>			<b>Serina</b>		
Pane	13.0	13.0	Pane	8.4	8.4
Altri formaggi come secondo	6.7	19.7	Altri formaggi come secondo	7.9	16.3
Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	5.8	25.6	Pollo/tacchino/coniglio arrosto ...	5.9	22.2
Pasta/riso ragù	5.4	31.0	Pollo/tacchino o coniglio lesso	5.5	27.7
Bistecca/carne magra	5.0	36.0	Bistecca/carne magra	5.2	32.9
Pasta/riso pomodoro	3.9	39.9	Pesce/molluschi lessi	4.0	37.0
Pollo/tacchino o coniglio lesso	3.8	43.7	Latte intero	3.6	40.5
Pesce/molluschi lessi	3.3	47.0	Ricotta/mozzarella secondo	3.5	44.0
Latte intero	3.3	50.3	Pasta/riso pomodoro	3.5	47.5
Formaggio grattugiato	3.3	53.6	Latte parzialmente scremato	3.3	50.8

Tab. 4: Confronto dell'introito medio giornaliero in macronutrienti del nostro campione rispetto ai risultati ottenuti in altri studi.

<i>Nutrienti / Energia</i>	<i>Studio</i>	<i>Studio</i>	<i>Studio Total</i>	<i>SCS</i>	<i>SCS</i>
	<i>Caso-controllo</i>	<i>INN-CA*</i>	<i>Diet^</i>	<i>Crevalcore\$</i>	<i>Montegiorgio\$</i>
	<i>1991-99</i>	<i>1994-96</i>	<i>1998</i>	<i>1991</i>	<i>1991</i>
	<i>n. 6101</i>	<i>n. 1978</i>	<i>n. 352</i>	<i>n. 231</i>	<i>n. 190</i>
<i>Proteine (g/die)</i>	89.7	87.1	89.4	78.4	73.8
<i>Lipidi (g/die)</i>	83	81.7	93.4	78.4	72.5
<i>Glucidi tot disponibili (g/die)</i>	272.5		271~	269.9	289.4
<i>Glucidi solubili (g/die)</i>	87.4	86.2		81.8	64.2
<i>Amido (g/die)</i>	185	179.4		182.3	220.7
<i>Fibra (g/die)</i>	21.5	19.7	22.5	20.8	20.7
<i>Alcol (g/die)</i>	25.2	9.9	26	36.3	45.8

\*D'Amicis, 2000

^ Ciappellano et al, 1998

\$ Alberti-Fidanza et al, 1999

~ Calcolati per differenza

mento, mentre nel secondo caso potrebbe essere dovuto a caratteristiche specifiche del campione in studio (sesso, età e area geografica di appartenenza). Se si confrontano i consumi di carboidrati, distinti in disponibili totali, solubili, amido e fibra, le differenze sono lievi, e le più marcate si evidenziano nel confronto con SCS-Montegiorgio per l'amido (-35.7g/die) e per i glucidi solubili (+23.2g/die). Per quanto riguarda l'alcol invece, da segnalare sia la netta differenza in senso positivo rispetto allo studio INN-CA (+15.3g/die), sia quella in senso negativo rispetto allo studio SCS (-11.1g/die e -20.6g/die per Crevalcore e Montegiorgio, rispettivamente). In entrambi i casi, tali differenze possono essere imputabili alle diverse caratteristiche dei campioni studiati.

Per quanto riguarda l'introito medio giornaliero dei singoli aminoacidi, allo stato attuale non è stato possibile confrontare i nostri dati con altri simili in letteratura, ma è da rilevare che riflettono nel complesso le principali fonti proteiche del campione. Il rapporto FAO del 1991 (FAO, 1991) ha proposto l'adozione del pattern della fascia dei prescolari come pattern unico di riferimento per tutte le età, compresi gli adulti, in considerazione del fatto che i precedenti fabbisogni fisiologici minimi per l'adulto sottostimavano i relativi fabbisogni. Nel nostro campione i fabbisogni in aminoacidi essenziali sono coperti in maniera soddisfacente sia rispetto ai pattern di riferimento dei bambini in età prescolare, copertura media pari al 129%, che a quello degli adulti, copertura media pari al 329%. Si potrebbe pensare ad un'eccessiva ingestione di proteine ed aminoacidi, ma su questi livelli di assunzione non sono rilevati al momento rischi per la salute (LARN 1996; Institute of Medicine, 2002), anche se i fabbisogni degli aminoacidi rappresentano a tutt'oggi un complesso e controverso campo di ricerca, che necessita di ulteriori approfondimenti (Fürst & Stehle, 2004).

### Conclusioni

La conoscenza delle abitudini alimentari di una popolazione è condizione importante ed essenziale per interpretare i risultati di studi

epidemiologici che indagano la relazione tra dieta e patologie croniche. Uno studio analogo a questo era già stato compiuto in Italia (Favero et al, 1997) ma aveva riguardato un campione di sole donne. Da qui la necessità di avere a disposizione dati sui consumi alimentari di entrambi i sessi e contemporaneamente verificare l'evoluzione nelle scelte alimentari.

I risultati di questo lavoro possono essere ben confrontati con quelli provenienti da altri studi compiuti sulla popolazione generale, e appaiono senza importanti sovra o sottostime, nonostante alcune limitazioni dello studio. Queste sono dovute principalmente alla bassa rappresentatività del campione esaminato, (predominanza di individui arruolati nei centri del Nord rispetto a quelli del Centro e del Sud Italia), alle modalità di arruolamento ed allo strumento utilizzato per il rilevamento delle informazioni. Il QAFIC, pur presentando un limitato numero di domande e basandosi sul ricordo, ha comunque dimostrato di essere in grado di delineare bene i comportamenti alimentari di un vasto numero di individui e rendere obiettivo il confronto con altri studi, soprattutto con quello INN-CA (di popolazione), che rileva i consumi sia a livello individuale che di famiglia (diario alimentare misto di 7 giorni). Recentemente, un altro studio italiano ha dimostrato che i dati raccolti con un questionario alimentare per frequenza sviluppato nel contesto di uno studio prospettico europeo (Pisani et al, 1997), sono ragionevolmente comparabili con quelli dello studio INN-CA (Bartali et al, 2004). Inoltre, queste stime ribadiscono che le principali fonti dei componenti alimentari considerati variano, tra i due sessi, più in relazione alla frequenza e la quantità di cibo consumato che per quanto riguarda le scelte alimentari vere e proprie.

Questo lavoro vuole fornire un contributo alla conoscenza delle modalità di assunzione dei componenti alimentari in un vasto campione della popolazione italiana adulta, e può essere d'aiuto, oltre che nell'analisi dei risultati del singolo studio al quale fa riferimento, anche nell'interpretazione di studi di epidemiologia nutrizionale compiuti su campioni con caratteristiche simili.



## Bibliografia

- Alberti-Fidanza A, Fidanza F, Chiuchiu MP et al. Dietary studies on two rural Italian population groups of the Seven Countries Study. 3. Trend of food and nutrient intake from 1960 to 1991. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53 (11): 854-860.
- Bartali B, Turrini A, Salvini S et al. Dietary intake estimated using different methods in two Italian older populations. *Arch Gerontol Geriatr* 2004; 38 (1): 51-60.
- Bevilacqua N, Branca F, Cairella G et al. Manuale di sorveglianza nutrizionale (2003). Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, Roma.
- Bidoli E, Franceschi S, Redivo A et al. Atlante della Mortalità per Tumore nelle Regioni e Province del Nord-Est e in Italia, 1990-1994. (1999) Aviano, Centro di Riferimento Oncologico.
- Bidoli E, La Vecchia C, Talamini R et al. Micronutrients and ovarian cancer: a case-control study in Italy. *Ann Oncol* 2001; 12(11):1589-93.
- Bidoli E, Bosetti C, La Vecchia C et al. Micronutrients and laryngeal cancer risk in Italy and Switzerland: a case-control study. *Cancer Causes Control* 2003; 14(5):477-84.
- Briefel RR & Johnson CL. Secular trends in dietary intake in the United States. *Annu Rev Nutr* 2004; 24:401-31.
- Charrondière UR, Vignat J, Møller A et al. The European Nutrient Database (ENDB) for Nutritional Epidemiology. *J Food Comp Anal* 2002; 15:435-451.
- Ciappellano S, Roggi C, Baggio C et al. Study design of a total reference diet for a population in northern Italy. *Ann Nutr Metab* 1998; 42:127-137.
- D'Amicis A. Il quadro nutrizionale della popolazione in Italia. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione* 2000; Suppl n. 3 anno 29: 3-11.
- Decarli A, Franceschi S, Ferraroni M et al. Validation of a food-frequency questionnaire to assess dietary intakes in cancer studies in Italy. Results for specific nutrients. *Ann Epidemiol* 1996; 6 (2): 110-118.
- Decarli A, La Vecchia C, Gnagnarella P et al. (Letter) Effects of additional questions about fat on the validity of fat estimates. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 245-246.
- Favero A, Salvini S, Russo A, et al. Sources of macro- and micronutrients in Italian women: results from a food frequency questionnaire for cancer studies. *Eur J Cancer Prev* 1997; 6(3):277-87.
- Food and Agriculture Organization (1991) Protein Quality Evaluation. Report of Joint FAO/WHO Expert consultation. FAO (Food and Nutrition paper n. 51), Roma.
- Franceschi S, Negri E, Salvini S et al. Reproducibility of an Italian food frequency questionnaire for cancer studies: results for specific food items. *Eur J Cancer* 1993; 29A (16):2298-2305.
- Franceschi S, Barbone F, Negri E et al. Reproducibility of an Italian Food Frequency Questionnaire for cancer studies: results for specific nutrients. *Ann Epidemiol* 1995; 5:69-75.
- Franceschi S, Favero A, Decarli A et al. Intake of macronutrients and risk of breast cancer. *Lancet* 1996; 347:1351-1356.
- Franceschi S, La Vecchia C, Russo A et al. Macronutrient intake and risk of colorectal cancer in Italy. *Int J Cancer* 1998; 76: 321-324.
- Franceschi S, Bidoli E, Negri E et al. Role of macronutrients, vitamins and minerals in the aetiology of squamous-cell carcinoma of the oesophagus. *Int J Cancer* 2000; 1;86(5):626-31.
- Fürst P & Stehle P. What Are the Essential Elements Needed for the Determination of Amino Acid Requirements in Humans? *J Nutr* 2004; 134: 1558S-1565S.
- Institute of Medicine (2002) Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). National Academies Press, Washington DC.
- Parpinel MT, Gnagnarella P, Salvini S, et al. Riproducibilità di un questionario alimentare per lo studio della relazione tra dieta e tumori. *Giornale Italiano di Nutrizione Clinica e Preventiva* 1995; 4: 7-21.
- Pisani P, Faggiano F, Krogh V et al. Relative validity and reproducibility of a food frequency dietary questionnaire for use in the Italian EPIC



centers. *Int J Epidemiol* 1997; 26: s152-s160.  
Salvini S, Gnagnarella P, Parpinel M, et al. The Food Composition Database for an Italian Food Frequency Questionnaire. *J Food Comp Anal*, 1996; 9(1): 57-71.  
Salvini S, Parpinel M, Gnagnarella P, et al. Banca Dati di Composizione degli Alimenti per Studi Epidemiologici in Italia. (1998). Istituto Europeo di Oncologia, Milano.  
Società Italiana di Nutrizione Umana (1996). Livelli di assunzione raccomandati di energia e

nutrienti per la popolazione italiana (LARN). SINU, Roma.  
Turrini A, Saba A, Perrone D et al. Food consumption patterns in Italy: the INN-CA Study 1994-1996. *Eur J Clin Nutr* 2001; 55, 571-588.  
Willet W. *Nutritional Epidemiology*. (1998). Oxford University Press, New York.  
World Health Organisation (2003). *Diet, Nutrition and the prevention of Chronic Diseases*. WHO (Technical Report Series n. 916). Geneva.

# I nitrati negli alimenti: un problema di rilevante interesse sanitario

Comi R\*, Molinaro MG\*\*, Cecilia A\*\*

\*Dipartimento di Scienze di Sanità Pubblica. Università "La Sapienza", Roma

\*\*Laboratorio di Alimenti, Istituto Superiore di Sanità, Roma

**Riassunto.** La presente review, mirata alla descrizione dello stato dell'arte delle informazioni disponibili, costituisce un contributo documentale preliminare ad indagini di tipo strumentale nel corso delle quali verrà determinato il contenuto in nitrati, nitriti, ed eventuali nitrosamine, in campionature significative di prodotti carnei. Gli Autori descrivono i vari aspetti relativi alla presenza dei nitrati e nitriti negli alimenti, come fenomeno sia di origine naturale che antropica, comprensivo degli effetti esercitati dalla manipolazione e dalla cottura, anche a proposito della formazione di nitrosamine. Inoltre, dopo un breve excursus sul problema della assunzione giornaliera di nitrati e nitriti in più Paesi, vengono analizzati gli aspetti relativi al metabolismo ed agli effetti sulla salute umana comportati dall'ingestione di nitriti e nitrati, sia di tipo negativo (metaemoglobinemia, etc.) che positivo (protezione di tipo non immunitario nei confronti delle infezioni), nonché alla possibilità di cancerogenesi legata all'assunzione di nitrosamine preformate o prodotte in vivo a partire da precursori nitrosabili presenti negli alimenti. Segnalate le patologie, costituzionali o acquisite, in grado di comportare una aumentata suscettibilità all'intossicazione acuta da nitriti o una aumentata produzione endogena di nitrosamine, cancerogeni ad elevata potenza per numerose specie animali, gli Autori sottolineano la necessità di disporre di dati sempre più numerosi e per il contenuto in nitriti e nitrati negli alimenti (soprattutto in quelli di matrice carnea), e per la presenza, all'interno della popolazione generale, dei gruppi a rischio.

*Summary.* The main aspects of the occurrence of nitrate, nitrite and nitroso compounds in food, together with dietary exposure and toxicology are reviewed. Nitrite and nitrate concentrations are of interest in Public Health, either naturally occurring or added as a preservative, such as in cured meats, for they may give rise to a number of health effects. Indeed, their ingestion, combined with precursor-containing foods, can lead to endogenous formation of N-nitrosamines, potent carcinogenic compounds in many animal species. Cooking is important in relation to both nitrate and nitrite contents: boiling reduces significantly nitrate concentration, while baking wheat flours increases concentrations of both nitrate and nitrite. Cooking bacon or ham reduces nitrite content but gives rise to carcinogenic nitrosopyrrolidine, while NDMA may be produced by cooking cured meat or dried fish. In some cooked or uncooked vegetables, storage under improper conditions may convert part of the nitrate content to nitrite and give rise to nitrite acute poisoning.

*Home-prepared fresh vegetables, such as turnips, celery, carrots, beets, their juices and their soups are considered unfit for feeding young children.*

*Otherwise, some Authors claim that eating nitrate-rich foods may produce a mechanism of chemical host defence, mediated by nitrate-reducing flora, against gut pathogens.*

*In dietary exposure, vegetables contribute up to 80% of the total daily intake.*

*Green leafy vegetables contain naturally very high levels of almost totally bioavailable nitrates.*

*The concentration is influenced by factors such as light intensity and duration, temperature, species and cultural variety, application of fertilizers, and growing conditions, e.g. protected versus outdoor crops (in the same season). Limits in lettuce and spinach have been introduced by EC, varying according to season. At present, further information on nitrate contents in foods, especially meat and meat products, together with the effects exerted by cooking are needed. Informations on the presence of sub-populations at risk for nitrite poisoning (infants, pregnant women, etc) and for increased endogenous nitrosamine formation are important as well.*

## Introduzione

Tra i composti di origine antropica i nitrati costituiscono una molecola di riconosciuto significato, sia nel campo della distribuzione ambientale che nel campo dell'industria alimentare.

L'ampia distribuzione nei vari comparti naturali e la capacità di giungere ai viventi attraverso le catene alimentari rende necessario

considerare i nitrati sotto i diversi profili (in particolare, la loro presenza negli alimenti e nell'acqua potabile viene seguito nei vari Paesi con una crescente attenzione).

Lo scopo di questo lavoro è di contribuire per via preliminare documentale alle conoscenze sulla presenza, le vie di arrivo ed il destino dei nitrati nell'alimento.



### **Presenza naturale nei vegetali**

Il 99% dei nitrati presenti in natura si trova nel regno vegetale, dove rappresenta una componente intrinseca dei tessuti delle piante, regolata morfogeneticamente; attraverso la riduzione a nitrito e quindi ad ammonio dà luogo a fattori di crescita e sviluppo delle piante.

La concentrazione dei nitrati nei vegetali di interesse alimentare può cambiare, oltre che con la specie, con la varietà colturale.

All'interno di una stessa pianta, la distribuzione dei nitrati è comunemente disomogenea, con concentrazione maggiore nelle parti più vecchie.

Anche il tipo di apparato costituisce un fattore importante di distribuzione: per esempio, il quantitativo contenuto nelle radici può essere molto diverso da quello presente nelle foglie (42, 52, 55, 56).

### **I nitrati nelle coltivazioni agricole**

La disponibilità di azoto fornita dal ciclo naturale apporta alle piante terrestri il 12% dell'elemento assimilato attraverso la fissazione atmosferica; il rimanente 88% viene ottenuto sia tramite il riciclo interno che tramite la decomposizione della materia organica.

Il quantitativo globalmente generato, stimato dell'ordine di 10 KgN/ettaro/anno, è insufficiente per raccolti adeguati da coltivazioni intensive, da cui la necessità delle pratiche agricole di concimazione guidata (36).

Temperatura ambiente, intensità luminosa, durata di esposizione alla luce, umidità del terreno, quantità di azoto disponibile nel terreno, sono fattori ambientali condizionanti l'accumulo dei nitrati, anche all'interno di una stessa specie.

L'influenza della luce sull'attività della nitrato-reduttasi è ben nota, ed è stato infatti possibile osservare nella bieta, nelle prime ore del pomeriggio, valori di nitrato alquanto inferiori a quelli rilevati al mattino.

Anche la scarsità di acqua interferisce negativamente con l'attività della nitrato-reduttasi, inducendo accumulo di nitrati.

In Inghilterra, indagini condotte tra il 1996 ed il 1998 hanno confermato, per la lattuga coltivata in serra, una concentrazione di nitrati maggiore in inverno ed una relazione inversa

esistente tra concentrazione di nitrati ed illuminazione.

Anche in sedano e barbabietola, la quantità di luce e la durata dell'esposizione appaiono condizionare il contenuto di nitrati.

Negli spinaci, è stata dimostrata l'esistenza di una gradiente di concentrazione Nord-Sud, con valori di concentrazione maggiori nei raccolti del Nord.

Nella lattuga, la concentrazione dei nitrati varia inoltre con il Paese di produzione, ed è maggiore nei Paesi del Centro-Europa che in Spagna ed Italia.

Si osservano inoltre differenze secondo le varie zone di uno stesso Paese, dove inoltre il momento stagionale è in grado di condizionare il contenuto anche in modo rilevante; nel cavolfiore massimo in primavera, nella lattuga in estate, in cipolle, carote, spinaci in autunno.

La minor luminosità ambiente e la maggiore disponibilità di azoto, originata da una più veloce degradazione della materia organica determinata dagli elevati valori di temperatura, favorisce l'accumulo dei nitrati nelle coltivazioni in serra.

Le condizioni climatiche dei Paesi nordici, imponendo l'uso della serra riscaldata per le coltivazioni invernali, giustificano il maggior contenuto in nitrato riscontrabile nei relativi raccolti, rispetto alle produzioni mediterranee (11,15,18,33,52).

Infine, secondo indagini condotte in Francia ed in Italia, le coltivazioni di tipo organico produrrebbero raccolti a concentrazione di nitrato superiore rispetto alle coltivazioni tradizionali (10,29)

Tenendo conto della problematica igienico-sanitaria rappresentata dalla presenza dei nitrati, la Commissione europea nel 1997 ha fissato valori massimi ammissibili di nitrati in spinaci e lattuga, imponendo a tutti gli Stati dell'Unione il monitoraggio e l'obbligo della comunicazione dei risultati all'Autorità Competente.

Al 2001, i limiti massimi fissati dalla Commissione Europea variavano, in funzione del momento stagionale, da 2500 mg/Kg a 4500 mg/Kg per la lattuga e da 2500 a 3000 mg/Kg per gli spinaci (17, 52)



### **Impieghi nell'industria alimentare**

Il meccanismo di azione del salnitro (termine generico con cui vengono indicati il nitrito ed il nitrato di sodio) come sostanza ad effetto conservativo dei preparati di pesce e di carne, si basa sulla sinergia esistente tra il debole potere antimicrobico intrinseco al nitrito ed altri fattori: il pH proprio delle carni conservate e l'NaCl. Il nitrato, privo di azione antimicrobica diretta, attraverso la riduzione batterica funge da serbatoio per il nitrito.

Più in particolare, l'effetto antibatterico del nitrito è dovuto tanto alla formazione di acido nitroso indissociato quanto, in alcuni prodotti termotrattati, alla formazione del Perigo Type Factor (PTF).

L'attività dell'acido nitroso indissociato, funzione del pH, è massima tra 4,5 e 5,5; scarsa tra 6 e 7; nulla o addirittura favorente per pH superiori a 7,5 (11,40).

Il principale problema sanitario legato alla conservazione con sali di azoto è quello del quantitativo residuo di nitrito e della formazione di nitrosamine nel prodotto finito.

Dal punto di vista normativo, l'uso dei sali di azoto come additivi è armonizzato nei Paesi Comunitari ai sensi della Direttiva 95/2/EC, recepita in Italia dalla Legge n° 209 del 1996 (9).

In considerazione della possibile formazione di nitrosamine, anche negli USA sono stati fissati limiti massimi per il nitrito di sodio in bacon, salsicce, prosciutti, carni in scatola.

La formazione di nitrosamine può essere ostacolata dall'aggiunta di antiossidanti; nella fabbricazione della birra appare basilare l'applicazione di una tecnica adeguata di essiccazione del malto, che impedisce la formazione di precursori.

La concentrazione dei nitrati e dei nitriti nelle carni conservate è andata riducendosi nei decenni grazie ai progressi della tecnologia alimentare; altrettanto, la formazione delle nitrosamine in carni conservate, essiccate e bevande a base di malto.

Negli alimenti per lo svezzamento infantile la presenza di nitrati è nota da tempo e viene seguita con particolare attenzione fin dagli anni '70.

Tra le carni conservate di comune consumo i contenuti minori di nitrato di sodio, dell'ordi-

ne di poche decine, si rinvencono nella carne in scatola; prosciutto crudo e salsicce ne contengono alcune centinaia.

Nei formaggi additivati la concentrazione di nitrati appare diminuire apprezzabilmente con la maturazione, fino a raggiungere 3,3 mg/Kg nel prodotto finito (12,18,26,55).

### **Nitrato e nitrito negli alimenti: i contenuti**

I dati disponibili sui contenuti in nitrato e nitrito negli alimenti appaiono di non facile valutazione.

Infatti, i dati meno recenti risentirebbero dei metodi di analisi allora utilizzati nelle indagini, oggi considerati poco sensibili e sostanzialmente inaccurati.

Particolarmente scarsa risulta l'informazione relativa a pesce e derivati; inoltre, a partire dagli anni '80, viene segnalata anche per le carni conservate una sostanziale carenza di dati (55).

Sulla base di queste considerazioni sono stati utilizzati, nella stesura delle tabelle seguenti, solamente i risultati delle indagini svoltesi negli anni '90.

### **Alimenti vegetali**

Le concentrazioni massime di nitrato, frequentemente superiori ad 1 g/Kg di peso fresco, sono rinvenute in lattuga, spinaci e vegetali a foglia verde; sedano e barbabietole.

Alimenti quali patate e cavoli, pur contenendone quantità minori, risultano di interesse per l'entità dei consumi da parte della popolazione.

Le concentrazioni minime (alcune decine di g/Kg di peso fresco) vengono rilevate in pomodori, carciofi, mais, piselli, patate dolci.

La frutta contiene solitamente meno di 10 mg/Kg di nitrati; quantitativi fino a 150 mg/Kg sono stati saltuariamente segnalati in banane e fragole.

Circa 5 g/Kg sono invece stati evidenziati nel melone.

Le concentrazioni massime nei cereali e nelle farine risultano dell'ordine di alcune decine.

Il nitrato veicolato dagli alimenti vegetali viene assorbito rapidamente nel tratto gastrointestinale senza accompagnarsi ad incrementi



del nitrito plasmatico; in particolare, la biodisponibilità dei nitrati contenuti in spinaci, lattuga e barbabietola risulta molto elevata e simile a quella dei nitrati presenti nell'acqua da bere (15,18,24,52,55)

Nell'ambito degli alimenti per l'infanzia, sono considerati a basso contenuto in nitrati, cioè a concentrazione inferiore a 45 mg/Kg, gli omogeneizzati di: cereali misti; cereali misti con mela e banana; avena con mela e banana; mela e albicocca; mela, albicocca e pera; pera; pesca; prugna; piselli.

Quantitativi superiori sono tuttavia rinvenibili nella stessa preparazione di: vegetali misti; fagiolini; spinaci; barbabietola; carote; zucca; banana; mela-banana; mela-ciliegia.

Il consumo di tali alimenti può perciò comportare apporti elevati di nitrato: per esempio, una confezione di omogeneizzato di barbabietola del peso di 113 g può contenere 240 mg di nitrato ed equivalere, pertanto, all'ingestione di circa 5 litri di acqua potabile a 45 ppm (12).

Per quanto riguarda la presenza del nitrito, le concentrazioni nei tessuti vegetali raramente superano i 10 mg/Kg.

Le patate possono tuttavia contenerne fino a 60; altri alimenti ricchi di nitrito sono rape, mais, spinaci e foglie di rapa, i contenuti più bassi sono rinvenuti in ravanelli (0,3 mg/kg) ed in carciofi, lattuga e peperone dolce (0,6 mg/Kg).

Anche nella frutta il contenuto in nitrati è solitamente inferiore ad 1 mg/Kg (18,55).

La tabella n° 1 illustra le concentrazioni medie di nitrato e nitrito di alimenti vegetali di uso corrente.

#### **Alimenti di origine animale (contenuti naturali)**

Il contenuto di nitrati delle carni fresche è dell'ordine di 10-20 mg/Kg.

Nel latte, la concentrazione dei nitrati supera raramente i 5 mg/l e non appare risentire dell'alimentazione dell'animale; nei formaggi non additivati i contenuti rinvenuti non superano gli 8 mg/Kg.

In Inghilterra, la concentrazione massima nell'Edam sarebbe 27 mg/Kg.

In Italia, pesce, molluschi e crostacei con-

tengono nitrati in misura variabile, da concentrazioni inferiori ai limiti di sensibilità del metodo e fino a massimi di 45 mg/Kg nello scorfano (*Scorpanea porcus*, parte edibile); il contenuto in nitrati può essere elevato, fino a 16 mg/Kg nel pagello (*Pagellus mormyrus*, parte edibile).

Tra gli alimenti per l'infanzia, sono considerati a basso contenuto di nitrati, e cioè a concentrazione inferiore a 45 mg/Kg, gli omogeneizzati di: manzo; manzo e vegetali; pollo; pollo e pasta; vitello; agnello; tacchino; prosciutto.

Il contenuto in nitrati delle carni fresche è dell'ordine di 1,5 mg/Kg (4,12,18,55).

La tabella n° 2 evidenzia e concentrazioni di nitrato e nitrito relative agli alimenti di origine animale.

#### **Effetto di manipolazione e cottura sui contenuti in nitrato e nitrito degli alimenti**

La cottura in acqua determina una variazione dei contenuti di nitrato, principalmente in funzione delle concentrazioni presenti nell'acqua e negli alimenti.

Con l'ebollizione, si realizza in genere una diminuzione apprezzabile, poiché parte del nitrato passa nell'acqua di cottura.

Dati prodotti dal Ministry of Agriculture, Fisheries and Food nel 1998 hanno confermato una riduzione dei quantitativi della sostanza fino al 25% dei contenuti originari, nella maggior parte dei vegetali sottoposti a bollitura.

Aumenti notevoli si accompagnano invece ai processi di cottura in forno delle farine, da 1-2 mg/Kg a 18 mg/Kg.

Circa i nitrati, è stato evidenziato come friggere, bollire, grigliare bacon o prosciutto possa comportarne la riduzione fino al 10% del contenuto originario; la cottura in forno delle farine può invece portarne il contenuto da 1-2 a 5 mg/Kg (15,53,55).

La manipolazione ed il mantenimento inadeguato delle verdure in attesa della cottura, prevalentemente attraverso la riduzione batterica del nitrato, ma anche a causa di squilibri enzimatici, possono invece esitare in spiccati aumenti di concentrazione (39,54,55).

È stato dimostrato che gli spinaci freschi, a

Tab. 1: Concentrazioni medie di nitrato e nitrito nei principali alimenti vegetali, freschi e conservati.

Alimento	Nitrato mg/kg	Nitrito mg/kg	Luogo della Determinazione	Autore
Lattuga	2330	0,6	–	Walker R, 1990
Lattuga	2603	0,2	Danimarca	Petersen A et al, 1999
Lattuga	1085	–	Inghilterra	Ysart G et al, 1999
Lattuga	2430	–	Corea	Chung et al, 2003
Lattuga	257	–	Italia	De Martin, 2003
Indivia	1780	0,8	–	Walker R, 1990
Cicoria	3231	–	Italia	De Martin, 2003
Cicoria (org.)	4629	–	Italia	De Martin, 2003
Spinaci	2740	3,8	–	Walker R, 1990
Spinaci	1900	–	Inghilterra	Ysart G et al, 1999
Spinaci	1783	11	Danimarca	Petersen A et al, 1999
Spinaci	4259	1	Corea	Chung et al, 2003
Sedano	3151	0,8	–	Walker R, 1990
Sedano	3600	2,17	Cina	Zhong W et al, 2002
Barbabietole	1493	0,91	Danimarca	Petersen A et al, 1999
Barbabietole	3288	6	–	Walker R, 1990
Cavolo Bianco	342	0,16	Danimarca	Petersen A et al, 1999
Verza	1530	0,4	Cina	Zhong W et al, 2002
Broccoli	1074	1,5	–	Walker R, 1990
Cavolfiore	658	1,5	–	Walker R, 1990
Cavolo	725	0,4	Corea	Chung SY et al, 2003
Zucca	550	0,8	–	Walker R, 1990
Zucca	639	0,6	Corea	Chung SY et al, 2003
Zucchine	665	0,6	–	Walker R, 1990
Melanzane	370	0,8	–	Walker R, 1990
Melanzane	479	4,63	Cina	Zhong W et al, 2002
Fagioli	466	0,9	–	Walker R, 1990
Piselli	40	0,9	–	Walker R, 1990
Porri	700	–	–	Walker R, 1990
Porri	308	0,15	Danimarca	Petersen A et al, 1999
Cipolle	235	1,1	–	Walker R, 1990
Cipolle	23	0,3	Corea	Chung SY et al, 2003
Carote	274	1,2	–	Walker R, 1990
Pomodori	80	–	–	Walker R, 1990
Pomodori	77,9	0,2	Cina	Zhong W et al, 2002
Cetrioli	151	0,8	–	Walker R, 1990
Cetrioli	170	0,2	Cina	Zhong W et al, 2002
Cetrioli	212	–	Corea	Chung et al, 2003
Patate	150	0,9	–	Walker R, 1990
Patate	144	0,60	Danimarca	Petersen A et al, 1999
Patate	164	1,5	Cina	Zhong W et al, 2002
Carciofi	16	–	–	Walker R, 1990
Funghi	219	–	–	Walker R, 1990
Melone	4932	–	–	Walker R, 1990
Frutta	27	–	Inghilterra	Ysart G et al, 1999
Frutta in guscio	6,1	–	Inghilterra	Ysart G et al, 1999



Tab. 2: Concentrazioni di nitrati e nitriti riscontrate da alcuni Autori in alimenti di origine animale.

Alimento	Nitrato mg/kg	Nitrito mg/kg	Luogo della Determinazione	Autore
Pesce fresco	11	-	Inghilterra	Ysart G et al, 1999
Carne	5,1	-	Inghilterra	Ysart G et al, 1999
Pollo	8,5	-	Inghilterra	Ysart G et al, 1999
Uova	7,9	n.r	Inghilterra	Ysart G et al, 1999

temperatura ambiente, incrementano il contenuto di nitriti da 5 a 140 mg/Kg in 3 giorni; se freschi e spezzettati fino a 1500 in 24 ore; come succo 1000 in 21 ore; gli spinaci scongelati fino a 500 mg/Kg in 3 giorni (7,22).

Nel passato, ed anche negli anni recenti, sono stati segnalati casi di metaemoglobinemia infantile da consumo di purea di spinaci preparata in casa ed inadeguatamente mantenuta e sono state formulate raccomandazioni contro l'uso, durante lo svezzamento, di succhi, minestre, puree di: rape, barbabietole, carote, spinaci e sedano preparati a domicilio (12,22,35,41).

È perciò da tenere presente come il mantenimento prolungato di scatolame aperto, prodotti scongelati, verdure cotte e crude, o il loro mantenimento in condizioni improprie, possa implicare conversione di parte dei nitrati a nitriti ed eventuale rischio per la salute; per i passati di verdura di produzione domestica, da somministrarsi oltre le 24 ore dalla preparazione, viene raccomandato il congelamento (5, 35,38).

#### Assunzione giornaliera

L'intake giornaliero di nitrati varia ampiamente con il tipo e la quantità dei vegetali consumati, di carne e pesce conservati, il tipo di preparazione, il momento stagionale, la concentrazione presente nell'acqua da bere.

I consumi vegetali possono apportare fino all'85% del nitrato presente negli alimenti. L'intake dei vegetariani può superare di molte volte quello medio.

L'apporto di nitriti alla dieta da parte dei vegetali risulta trascurabile, importante invece l'apporto dai cereali (3,14,23,24,46)

Le abitudini alimentari individuali sono di estrema importanza, soprattutto nell'età infantile.

Sotto il profilo sanitario la WHO, nel 2002, ha confermato per i nitrati l'ADI già esistente, pari a 3,7 mg/Kg p.c., espressi come ione nitrato; ha inoltre fissato per i nitriti un'ADI di 0,07 mg/Kg p.c., espressi come ione nitrito (24).

Ciò equivale, per la persona di 60 Kg, ad un intake massimo giornaliero di 220 mg di nitrato e di 4,2 mg di nitrito.

All'interno della popolazione, la fascia di età di maggiore interesse per il contenuto in nitrato dell'acqua potabile è costituita dai bambini allattati artificialmente, che risultano suscettibili di un intake giornaliero /Kg p.c. notevolmente superiore all'ADI.

L'assunzione giornaliera di nitrati e nitriti è calcolabile attraverso 3 possibili metodi:

Calcolo teorico, eseguito sommando gli apporti ottenuti moltiplicando le concentrazioni medie dei vari alimenti, proposte dalla letteratura scientifica, per i consumi alimentari medi della popolazione oggetto di indagine.

Dieta totale. Si determina sperimentalmente la concentrazione in nitrato e nitrito dei vari alimenti, l'intake viene calcolato moltiplicandone i valori per i consumi alimentari ottenuti direttamente dalla popolazione oggetto di indagine.

Dieta duplicata. L'intake viene calcolato determinando il contenuto in nitrato e nitrito della miscela alimentare ottenuta a partire dagli alimenti effettivamente consumati nelle 24 ore dalla popolazione in esame.

I diversi metodi danno luogo a diversità di stime. Questo fatto, insieme alla diversità nelle metodologie di rilievo dei consumi a seconda del Paese, rende talora difficilmente confrontabili i risultati delle varie indagini. I metodi della dieta totale o duplicata, e del record dietetico individuale, vengono considerati come i più adatti a produrre stime accurate (24).

In Europa, studi condotti negli anni '90 stimavano variare da 31 a 185 mg/giorno il daily intake ; di tali valori, l'88-96% era apportato dagli alimenti ed il 4-12% dall'acqua da bere.

Tuttavia, l'analisi del daily intake per gruppo di popolazione evidenziava in Olanda, al 1996, quantitativi superiori all'ADI in una percentuale di persone variabile con il sesso e l'età,

da un minimo del 3% delle donne incinte ad un massimo del 23% (bambine 1-4 anni).

Sempre in Europa, all'inizio degli anni '90, la stima del daily intake relativa ai nitriti variava da 0,7 a 8,7 mg (3,18,53,55).

La tabella n° 3 riporta le assunzioni medie giornaliere di nitrati e nitriti in alcuni Paesi europei.

Tab. 3: Assunzione media giornaliera di nitrati e nitriti nei vari Paesi, in funzione del tipo di calcolo impiegato

Paese, anno, popolazione	Metodo di rilevazione	Assunzione nitrati mg/persona	Assunzione nitriti mg/persona	Autore
Germania, 1987-91 adulti	dieta duplicata 24 ore	101	-	Arnold R et al, 1999
Olanda, 1994	dieta duplicata 24 ore	80	0,1	Van Vliet et al, 1997
Olanda, 1994, pop. età 18-74	dieta duplicata 24 ore	80	-	Vaessen H et al, 1999
Danimarca, 1996 pop. generale	analisi e calcolo	61	0,5	Petersen A et al, 1999
Polonia, 1996, età prescolare	Dieta duplicata 24 ore	55	1,5	Markowska A et al, 1999
Polonia, 1996 Adulti	Dieta duplicata 24 ore	304	4,3	Markowska A et al, 1999
Inghilterra. 1997 pop. Generale	Dieta totale (esclusa acqua da bere)	52	-	Ysart G et al, 1999

### Metabolismo e tossicità

Nel regno animale i nitrati appaiono privi di funzione nutrizionale diretta.

Il nitrito ingerito viene rapidamente assorbito nel tratto gastrointestinale, immesso nel sangue, ed escreto con le urine.

Tuttavia, il 32-60 % di esso viene secreto attivamente nella saliva, in concentrazione 10 volte superiore rispetto al plasma.

Fuori dai dotti salivari, all'interno del cavo orale, il 13-22% di tale nitrito viene convertito

a nitrito tramite microrganismi dotati di attività nitrito-reduttasica, quali *Veillonella* spp., *S. aureus*, *Nocardia* spp., *S. epidermidis*, etc.

Tale riduzione costituisce lo fonte più importante di nitrito per l'uomo (11,24).

Altre sedi idonee alla produzione di nitrito sono il colon ed il piccolo intestino distale, lo stomaco in condizioni di acloridria, gastrite atrofica etc; in caso di infezione batterica, la vescica urinaria e la vagina.

Sempre la microflora può infine ridurre il



nitrito ad ammoniaca che verrà utilizzata per la sintesi di aminoacidi.

Il nitrito, giunto con la saliva nello stomaco, viene convertito in vari composti ad ipotizzata attività antimicrobica, quali l'NO, l'N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, l'N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, l'HNO<sub>2</sub>, l'NO<sup>+</sup>, e quindi a nitrato che, assorbito da stomaco ed intestino, ritorna ai dotti salivari.

La produzione di nitrito da nitrato è possibile anche attraverso la attività nitrato-reduttasica tissutale (62). La produzione di nitrito può avvenire, inoltre, per via endogena, per esempio durante le diarree infantili (15,21,24,43,55).

Gli effetti sulla salute provengono dalla riduzione del nitrato dietetico a nitrito, sostanza dotata di riconosciuta attività metabolica.

La presenza di nitrito costituisce infatti la condizione necessaria sia per il determinarsi della metaemoglobinemia infantile che per la formazione di nitrosamine sperimentalmente cancerogene.

Infatti, nel sangue il nitrito entra rapidamente negli eritrociti dove reagisce con l'emoglobina, formando nitrato e metaemoglobina, composto inefficace nella cessione di ossigeno ai tessuti.

La metaemoglobina, che nella popolazione generale costituisce meno del 2% della concentrazione totale di emoglobina, per livelli del 20%-50% si accompagna a cianosi, segni e sintomi di ipossia quali mal di testa, debolezza, dispnea e tachicardia; mentre per livelli superiori al 50% può essere letale.

Un'elevata concentrazione di nitrati nell'acqua da bere è all'origine del ben conosciuto problema della metaemoglobinemia infantile.

La suscettibilità alla patologia è massima fino ai tre mesi di vita, ed elevata fino ai 6: infatti, la flora gastroenterica può, a tale età, convertire i nitrati a nitriti che, passando nel sangue, reagiscono con l'ossiemoglobina formando nitrati e metaemoglobina.

La particolare sensibilità dell'infanzia alla tossicità acuta da nitrito è inoltre motivata dalla ridotta attività della metaemoglobina-reduttasi e dalla più rapida ossidabilità propria della emoglobina fetale (14,24).

Sempre a riguardo di un elevato contenuto di nitrati nell'acqua potabile, alcuni recenti

studi avrebbero rilevato gozzo infantile, tramite l'inibizione del processo attivo di concentrazione dello iodio nella ghiandola tiroide; aumento di volume della tiroide; infine, in caso di compresenza di elevate quantità di sodio, aumenti della pressione sistolica e media nella popolazione infantile di età scolare; la concentrazione in nitrati dell'acqua potabile è risultata infine relazionarsi con l'incidenza di diabete insulino-dipendente, SIDS ed anencefalia (8,24,34,47, 51).

Casi di metaemoglobinemia in età infantile ed adulta si sono verificati nel passato ed anche negli anni recenti per ingestione di alimenti contenenti nitrito derivante dalla degradazione microbica del nitrato presente all'origine in elevata concentrazione, quali spinaci, minestra di carote, come pure salsicce e pesce additivati con quantità eccessive di nitrito (25,35,40).

Sottogruppi di popolazione a rischio di metaemoglobinemia, come confermato dall'opinione dello Scientific Committee for Food on Nitrate and Nitrite del 1990, sono costituiti dalle donne in gravidanza, dai portatori di carenza ereditaria di attività dell'NADH o NADPH-metaemoglobina reduttasi nell'eritrocita, e dai colpiti da deficienza congenita di glucosio-6-fosfato deidrogenasi. (16,32,55).

A proposito degli alimenti in generale, gli aspetti della tossicità di maggiore rilievo per la salute pubblica sono rappresentati dalla la formazione, a partire dal nitrato dietetico, del nitrito, in quanto composto destinato ad intervenire nella cinetica di formazione delle nitrosamine.

Perciò, l'accertamento del rischio da nitrati per la salute umana consiste nella valutazione tossicologica del nitrito derivante dall'introduzione del nitrato (14,24).

Infatti, le indagini tese a chiarire un eventuale effetto cancerogeno del nitrato si rivelano per l'uomo di difficile esecuzione, sia dal punto di vista progettuale che metodologico, e complicate dalla assenza di biomarkers di esposizione applicabili su vasta scala. Si ammette, in generale, l'assenza di associazioni positive.

Anche l'esposizione ai nitriti con la dieta non risulta associarsi a tumori.

Nitrati e nitriti introdotti con gli alimenti appaiono privi di effetti teratogeni sull'SNC (8)



L'USEPA, nel 1986, ha classificato nitrati e nitriti come agenti con inadeguata o nessuna evidenza di cancerogenicità negli animali (45).

#### **Nitrosamine esogene ed endogene**

I dati della letteratura evidenziano che oltre l'80% dei nitrosocomposti testati risulta cancerogeno per un grande numero di specie animali, anche per via transplacentare.

Gli alimenti additivati possono contenere nitrosamine cancerogene quali la nitrosodimetilamina o NDMA, la nitrosodietilamina o NDEA, la nitrosopirrolidina, la nitrosopiperidina e, per migrazione da involucri a base di gomma, la nitroso-n-butilamina o NDBA (19,28).

Manipolazione e cottura rivestono infine un ruolo primario nella formazione delle nitrosamine esogene.

Infatti, il trattamento termico delle carni additivate può indurre la formazione di nitrosamine cancerogene a partire da precursori: così, nel bacon, la nitrosoprolina dà origine alla nitrosopirrolidina, cancerogeno tra i più potenti, in funzione della temperatura e della sorgente di calore impiegata (15,28).

Sempre la cottura delle carni conservate appare in grado di aumentare il contenuto in NDMA, altro potente cancerogeno. Altrettanto, la cottura del pesce secco, soprattutto quando condotta su sorgente di calore diretto.

La nitrosopiperidina può originarsi invece dalla nitrosazione della piperina contenuta nelle spezie che entrano nella preparazione del prodotto carneo (27,28).

La potenziale formazione di nitrosamine cancerogene nello stomaco a partire da nitrito ed amine secondarie in una alimentazione ad elevato contenuto di nitrati è considerata un rilevante problema di salute pubblica.

L'organismo è infatti in grado di produrre, per via endogena, le stesse nitrosamine che possono essere contenute nella dieta: l'ingestione

di pesce contenente precursori nitrosabili assieme ad un intake di nitrato prossimo all'ADI incrementa l'escrezione urinaria di NDMA.

Un ruolo significativo nell'antagonismo e quindi nella riduzione della nitrosazione in vivo sarebbe svolto dalle vitamine C ed E, da polifenoli, glutatione, cisteina, etc (2,20,24,37,44,49,50,55).

Secondo alcuni Autori, infine, patologie quali la gastrite cronica atrofica, la resezione gastrica, l'anemia perniziosa, i trattamenti mirati ad inibire la secrezione gastrica, comportando un innalzamento del pH, favoriscono la moltiplicazione della flora nitrato-riducente nello stomaco e l'incremento della nitrosazione endogena (55).

#### **Conclusioni**

La presenza dei composti azotati nella dieta si conferma costituire un fenomeno di attualità, complesso e suscettibile di effetti sulla salute umana, sia nell'immediato che nel lungo termine.

È necessario quindi disporre di sempre più numerose informazioni relative al contenuto di nitrati e nitriti negli alimenti, in particolare in quelli di matrice carnea, per i quali è previsto anche un arricchimento tecnologico.

Verranno quindi indagate sotto il profilo sperimentale, campionature significative di vari preparati di prodotti carnei a diverso contenuto di nitrati e nitriti, anche per verificare mediante tecniche strumentali adeguate l'eventuale presenza di nitrosamine preformate.

Appare opportuna l'effettuazione di indagini sui cibi freschi e conservati di origine nazionale ed estera, comprensiva delle influenze derivanti dai metodi di cottura.

Inoltre, non possono essere ignorati gli studi epidemiologici basati sulle abitudini alimentari, quali la valutazione del daily intake e l'individuazione ed il monitoraggio dei gruppi di popolazione maggiormente esposti.



## Bibliografia

- 1) Arnold R, Kibler R, Brunner B. Alimentary intake of selected pollutants and nitrate – results of a duplicated study in Bavarian homes for youth and seniors. *Z Ernahrungswiss.* 1998; 37:328-35.
- 2) Bingham SA, Hughes R, Cross AJ. Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. *J Nutr.* 2002. 132 (11Suppl): 3522S-3525S.
- 3) Brussaard JH, Van Dokkum W, Van der Paauw CG; De Vos RH, De Cort V, Lowik MRH. Dietary intake of food contaminants in The Netherlands (Dutch Nutrition Surveillance System). *Food Additives and Contaminants.* 1996. 13:561-73.
- 4) Cantoni C, Comi G, Renon P, Ardemagni A. Nota sul contenuto in nitrati e nitriti di pesci, molluschi e crostacei. *Arch.Vet.It.* 1978; 29:164-65.
- 5) Chung JC, Chou SS, Hwang DF. Changes in nitrate and nitrite content of four vegetables during storage at refrigerated and ambient temperature. *Food Addit Contam.* 2004; 21:317-22.
- 6) Chung SY, Kim JS, Hong MK, Lee JO, Song IS. Survey of nitrate and nitrite contents of vegetables grown in Korea. *Food Addit Contam.* 2003; 20:621-28.
- 7) Corsi I, Papi P, Zanasi F. Indagini sulla presenza e formazione di nitriti in vegetali freschi e surgelati. *Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione.* 1981; anno 10:317-20.
- 8) Croen LA, Todoroff K, Shaw GM. Maternal exposure to nitrate from drinking water and diet and risk for neural tube defects. *Am J Epidemiol.* 2001;153: 325:31.
- 9) D.M. 27 febbraio 1996, n° 209. Regolamento concernente la disciplina degli additivi alimentari consentiti nella preparazione e per la conservazione delle sostanze alimentari in attuazione delle direttive n° 94/34 CE, n° 94/35/CE, n°94/36/CE, n° 95/2/CE e n° 95/31/CE.
- 10) De Martin S, Restani P. Determination of nitrates by a novel ion chromatographic method: occurrence in leafy vegetables (organic and conventional) and exposure assessment for Italian consumers. *Food Addit Contam.* 2003; 20: 787-92.
- 11) Duncan C, Li H, Dykhuizen R, Frazer R, Johnston P, Macknight G, Smith L, Lauza K, Mc Kenzie H, et al. Protection against oral and gastrointestinal diseases: importance of dietary intake, oral nitrate reduction and enterosalivary nitrate circulation. *Comp Biochem Physiol.* 1997; 118 A: 939-45.
- 12) Dusdieker LB, Getchell JP, Liarakos TM, Hausler WJ, Dungy CI. Nitrate in baby foods. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1994; 148:490-94.
- 13) Dykhuizen RS, Frazer R, Duncan C, Smith CL, Golden M, Benjamin N, Leifert C. Antimicrobial effect of acidified nitrite on gut pathogens: importance of dietary nitrate in host defense. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40:1422-25.
- 14) Eichholzer M, Gutzwiller F. Dietary nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds and cancer risk: a review of the epidemiologic evidence. *Nutrition Reviews.* 1998; 56: 95-105.
- 15) Environmental Health Criteria 5. Nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds. WHO, Geneva 1978.
- 16) European Commission, 1990, Scientific Committee for Food, Report of the Scientific Committee for food on nitrate and nitrite (26th series). Opinion expressed on 19 October 1990
- 17) European Commission, 2001. Commission Regulation defining the maximum levels of contamination present in foodstuff. Regulation n° 466/2001, CEE Journal, L 77.
- 18) Gangolli SD, van den Brandt PA, Feron VJ, Janzowsky C. Assessment. Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *European Journal of Pharmacology. Environ Toxicol Pharmacol Sect* 1994; 292:1-38.
- 19) Hecht SS. Approaches to cancer prevention based on an understanding of N-nitrosamine carcinogenesis. *PSEBM.* 1977;216:181-90.
- 20) Hecht SS, Hoffmann D. N-nitrosocompounds and man: sources of exposure, endogenous formation and occurrence in body fluids. *Eur J Cancer Prev.* 1998; 7:165-66.
- 21) Hegesh E, Shiloah J. Blood nitrates and infantile methemoglobinemia. *Clin Chim Acta.* 1982;125:107-15.
- 22) Heisler EG, Siciliano J, Krulick S,



Feinbeg J Schwartz JH. Changes in nitrate and nitrite content, and search for nitrosamines in storage-abused spinach and beets. *J Agr Food Chem.* 1974; 22:1029-32.

23) Hunt J, Turner MK. A survey of nitrite concentrations in retail fresh vegetables. *Food Addit Contam.* 1994; 11:327-32.

24) JEFCA: Food Additives Series: 50. WHO, Geneva, 2003.

25) Kennedy N, Smith CP, McWhinney P. Faulty sausage production causing methaemoglobinemia. *Arch Dis Childhood.* 1997; 76:367-68.

26) Korekenova B, Kottferova J, Korenek M. The fate of of added nitrate used in the manufacture of Emmenthal Cheese. *Food Addit Contam.* 2000; 17: 373-77.

27) Lee SJ, Shin JH, Sung NJ, Kim JG, Hotchkiss JM. Effect of cooking on the formation of N-nitrosodimethylamine in Korean dried seafood products. *Food Addit Contam.* 2003; 20:31-36.

28) Lijinski W. N-nitroso compounds in the diet. *Mutation Research.* 1999; 443:129-38

29) Malmauret L, Parent-Massin D, Hardy JL, Verger P. Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France. *Food Addit Contam.* 2002;19:524-32.

30) Markowska A, Furmanek W, Gackowska L, Siwek B. The evaluation of nitrate and nitrite contents in diets of preschool children. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 1999; 50:289-97.

31) Markowska A, Furmanek W, Gackowska L, Siwek B. The evaluation of nitrate and nitrite in daily food intake of adults. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 1999; 50:299-306.

32) Metcalf WK. Sensitivity of haemoglobin to oxidation in various conditions. *Nature.* 1961; May 6:543.

33) Petersen A, Stoltze S. Nitrate and nitrite in vegetables on the Danish market: content and intake. *Food Additives and Contaminants.* 1999; 16:291-99.

34) Pomeranz A, Korzets Z, Vanunu D, Krystal H, Wolach B. Elevated salt and nitrate levels in drinking water cause an increase of blood pressure in schoolchildren. *Kidney Blood Press.* 2000;23:400-03.

35) Sanchez-Echaniz J, Benito-Fernandez J,

Mintegni-Raso S. Methemoglobinemia and consumption of vegetables in infants. *Pediatrics.* 2001; 107: 1024-28.

36) Schlesinger WH. Biogeochemistry. An analysis of global change. 2th edition. Academic Press, San Diego, 1997.

37) Scotter MJ, Castle L. Chemical interactions between additives in foodstuffs: a review. *Food Addit Contam.* 2004; 21: 93-124.

38) Siciliano J, Krulick S, Heisler EG, Schwartz JH, White JW, Jr. Nitrate and nitrite content of some fresh and processed market vegetables. *J Agric Food Chem.* 1975; 23:461-64.

39) Simon C. Nitrite poisoning from spinach. *The Lancet.* 1966; April 16:872.

40) Skovgaaard N. Microbiological aspects and technological needs for nitrates and nitrites. *Food Addit Contam.* 1992; 9:391-97.

41) Swann PF. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitrosocompounds. *J Sci Fd Agric.* 1975; 26:1761-70.

42) Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia Vegetale.* PICCIN NUOVA LIBRARIA S.p.A. Padova, 2002.

43) Tannenbaum SR, Fett D, Young VR, Land PD, Bruce WR. Nitrite and nitrate are formed by endogenous synthesis in the human intestine. *Science.* 1978; 200:1487-88.

44) Tricker AR. N-nitroso compounds and man: source of exposure, endogenous formation and occurrence in body fluids. *Eur J Cancer Prevention.* 1997; 6: 226-68.

45) USEPA, 1986: Guidelines for carcinogenic risk assessment, Federal Register 51:33992-34003.

46) Vaessen HAMG, Schothorst RC. The oral nitrate and nitrite intake in The Netherlands: evaluation of the results obtained by HPIC analysis of duplicated 24-hour diet samples collected in 1994. *Food Addit Contam.* 1999; 16: 181-88.

47) van Maanen JM, van Dijk A, Mulder K, de Baets MH, Menheere PC, van der Heide D, Mertens PL, Kleinjans JC. Consumption of drinking water with high nitrate levels causes hypertrophy of the thyroid. *Toxicol Letter.* 1994;72:365-74.

48) Van Vliet JJH, Vaessen HAMG, van den



Burg G, Schothorst RC. Twenty-four hour duplicate diet study 1994; nitrate and nitrite: method development and intake per person per day. *Cancer Letters*. 1997; 114:305-07.

49) Veermer IT, Moonen EJ, Dallinga , Kleinjans JC, van Maanen JM. Effect of ascorbic acid and green tea on endogenous formation of N-nitrosodimethylamine and N-nitrosopiperidine in humans. *Mutat Res*. 1999; 428: 353-61.

50) Vermeer ITM, Pachon D, Dallinga JW, Kleinjans JCS, Van Maanen JMS. Volatile N-nitrosamine formation after intake of nitrate at the ADI level in combination with an amine-rich diet. *Environmental Health Perspectives*. 1998; 106:459-463.

51) Vladeva S, Gatseva P, Gopina G. Comparative analysis of results from studies of goitre in children from Bulgarian villages with nitrate pollution in drinking water in 1995 and

1998. *Cent Eur Pub Health*. 2000; 8: 179-181.

52) Ysart G, Clifford R, Nigel H. Monitoring for nitrate in UK-grown lettuce and spinach. *Food Addit Contam*. 1999; 16: 301-06

53) Ysart G, Miller P, Barret G, Farrington D, Lawrance P, Harrison N. Dietary exposure to nitrate in the UK. *Food Addit Contam*. 1999; 16: 521-32.

54) Walker R. Naturally occurring nitrate/nitrite in foods. *J Sci Fd Agric*. 1975; 26: 1735-42.

55) Walker R. Nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Addit Contam*. 1990; 7: 717-68.

56) Zhong W, Hu C, Wang M. Nitrate and nitrite in vegetables from North China: content and intake. *Food Addit Contam*. 2002; 19: 1125-29.

## Metodi a DNA per la valutazione della qualità della pasta

Gloria Pessina, Federica Natoni, Anita Mattei, Nicolò Merendino, Gianni Tomassi

Dipartimento di Scienze Ambientali; Università degli Studi della Tuscia, VITERBO

**Riassunto.** A determinare le caratteristiche che permettano definire la qualità di una pasta sono le materie prime e le tecnologie di produzione impiegate. Per quanto riguarda le materie prime, le paste alimentari, prodotte con semola di frumento duro (*Triticum durum* L.), sono ritenute qualitativamente superiori rispetto a quelle prodotte con farina di frumento tenero (*Triticum aestivum* L.) o con una miscela delle due.

Per quanto riguarda le tecnologie impiegate, il processo di essiccamento risulta particolarmente importante: l'essiccamento a bassa temperatura garantisce infatti una migliore qualità della pasta.

Le procedure per valutare il regime termico d'essiccamento si basano su metodi empirici e sensoriali, quali la tenuta alla cottura o il colore, mentre per valutare la presenza di frumento tenero ci si è basati soprattutto sull'analisi delle proteine. Questo ultimo approccio risulta efficace nell'analisi delle materie prime, ma trova delle grosse limitazioni nell'analisi delle paste alimentari, specialmente se essiccate ad alta temperatura in quanto durante le procedure di essiccamento le proteine possono denaturarsi cambiando così le caratteristiche chimico fisiche.

È stato perciò condotto uno studio sperimentale per mettere a punto metodiche accurate, veloci e obbiettive basate sull'analisi del DNA, in grado di diagnosticare e quantificare la presenza di frumento tenero nella pasta e per rilevare il regime d'essiccamento utilizzato nella sua preparazione. A tale scopo sono state preparate paste essiccate con diversi regimi termici (da 40 a 95 °C per 30-60 min e umidità relativa dal 50 al 70%) e prodotte con differenti quantità di farina di grano tenero (1%, 3%, 5% e 10%); inoltre sono state prese in esame paste commerciali essiccate a basse ed alte temperature. La metodologia utilizzata per la valutazione del regime d'essiccamento è basata sullo stato di degradazione del DNA misurato attraverso elettroforesi e analisi d'immagine. Si è potuto dimostrare che la lunghezza dei frammenti, a parità di formato, può permettere di valutare se l'essiccamento è stato condotto a bassa o ad alta temperatura. Tale metodologia è stata applicata su campioni di pasta presenti in commercio essiccati a bassa o alta T°. Per il formato penne è risultata una buona corrispondenza fra quanto dichiarato e quanto trovato con l'analisi del DNA. Nel caso degli spaghetti il risultato è buono, ma non in tutti i casi corrispondente a quanto dichiarato dal produttore. Per valutare la presenza di frumento tenero sono state condotte analisi con PCR Real-Time effettuate su DNA estratto da campioni di sfarinati e delle paste sperimentalmente preparate, utilizzando oligonucleotidi specifici per una regione del gene Glu-D1-b1 codificante la subunità gluteninica ad alto peso molecolare Dx, localizzata sul cromosoma 1D del frumento tenero. Anche nel caso di regimi termici elevati, che portavano ad una certa degradazione del DNA, la metodologia ha consentito di ottenere risultati paragonabili a quelli ottenuti su DNA integro ed ha consentito di riconoscere adulterazioni anche a livelli minimi dell'1%, con un livello di sensibilità ed accuratezza molto elevato. In entrambi i formati di pasta campionati dal commercio (penne e spaghetti), è risultata l'assenza di frumento tenero, a dimostrazione dell'impiego unicamente di frumento duro per la preparazione delle paste commercializzate in Italia.

*Summary.* Pasta quality is dependent by the raw materials and the technologies utilized in its production.

Pasta made with durum wheat is of better quality than pasta made with soft wheat or with mixtures of both wheats. Particularly important is also the thermal conditions of the drying process: drying at low temperatures produces pasta of better quality.

The methods to evaluate the quality of pasta are generally based on empiric assays or on the analysis of proteins. This last approach can be valid for the analysis of raw materials but meets serious difficulties for the pasta products because during drying procedures the proteins may be denaturated, changing the physico-chemical characteristics.

Therefore we developed analytical methodologies based on analysis of DNA to reveal and to quantify the amount of soft wheat in the pasta products and also to recognize the thermal regimens utilized in their production. With this aim experimental pasta samples were prepared at different thermal regimens (from 40 °C to 95 °C for 60-30 minutes with relative humidity from 50 to 75%) and with different amounts of soft wheat (1, 3, 5 and 10%). The methodology followed for the evaluation of thermal regimen is based on DNA degradation measured through electrophoresis and image analysis. It has been demonstrated that the length of fragments, can assess the use of low or high temperatures of drying in the production of the pasta. The method, applied on commercial samples of pasta (spaghetti and penne) indicated that in the case of spaghetti there is not always correspondence with the claims declared on labels, while in the case of penne there is a good correspondence.

A real-time PCR method has been developed and applied to semolina and experimental pasta samples in order to reveal and to quantitate the amounts of soft wheat utilized, by analyzing the DNA extracted from the samples and oligonucleotide

Autore per corrispondenza: Nicolò Merendino, Dipartimento di Scienze Ambientali, Università Degli Studi della Tuscia, Largo dell'Università s.n.c., 01100 Viterbo, Tel. 0761 357133, Fax 0761 357134, e-mail: merendin@unitus.it.



*specific for a region of the gene glu-D1-b1 localized on genome D of soft wheat. Also in the case of elevated temperatures of drying, in which DNA was partially degraded, the method has been successful in recognizing and quantitating the soft wheat percentage in the pasta with 1% minimum amount. In the commercial samples the presence of soft wheat has never been found, indicating that in the production of pasta products commercialized in Italy only durum wheat is utilized*

Key words: Pasta, Frumento Tenero, Regime termico di essiccamento, Degradazione del DNA, PCR-real time.

## Introduzione

La pasta rappresenta da moltissimi anni un prodotto di largo consumo fra le popolazioni dei Paesi Mediterranei, sia per la sua economicità che per la possibilità di preparare con essa un numero elevatissimo di piatti e pietanze differenti per gusto e valore nutritivo

Sembra che i pionieri della produzione di pasta furono i liguri e non i campani dove invece la pasta trovò successivamente larga diffusione.

Proprio per queste origini storiche in Italia si è sviluppato il concetto di "qualità" della pasta sulla base soprattutto delle sue caratteristiche organolettiche, quali quelle della resistenza alla cottura e quelle del colore e dell'aspetto (Resmini et al 1988).

A determinare le caratteristiche di qualità sono in realtà le materie prime e le tecnologie di produzione utilizzate.

Per quanto riguarda le materie prime è noto che la pasta migliore è quella preparata a partire dal frumento duro, mentre per quanto riguarda le tecnologie di produzione è soprattutto il regime termico di essiccamento a influenzarne la qualità.

Secondo la legge Europea è anche possibile utilizzare nella produzione di paste alimentari il grano tenero, ma in quest'ultimo caso la qualità organolettica del prodotto finito è compromessa.

L'introduzione delle alte temperature d'essiccamento nella produzione della pasta ha modificato il ruolo delle materie prime ed ha perciò variato il concetto di qualità pastificante del grano duro senza tuttavia darne una nuova e riveduta definizione.

In altri termini, resta tuttora indefinito il confine che separa le caratteristiche del grano duro di partenza da quelle esercitate dalle tecnologie di produzione.

Esistono varie metodologie per stabilire la

qualità della pasta, ma si tratta spesso di metodiche sensoriali e perciò soggettive e non facilmente riproducibili.

Uno studio condotto su 40 campioni di pasta con differenti tenori in proteine essiccati a 45°C o ad 80°C ha messo in evidenza la notevole variabilità delle risposte per quanto riguarda la qualità del glutine (misurata con metodi sensoriali e con metodi chimico-fisici) e la qualità dopo cottura, valutata con metodi sensoriali.

Si è visto che la qualità della pasta essiccata a bassa temperatura (45°C) è correlata con la qualità del glutine e secondariamente con il tenore in proteine, mentre nella pasta essiccata a 80°C la qualità del glutine è correlata solo con la quantità di proteine della semola (Cubadda, 1995).

Con le nuove tecnologie di essiccazione ad alta temperatura la qualità del glutine perde rilevanza e diventa invece determinante la quantità di proteine. In altri termini è possibile ottenere una pasta di buona qualità anche pastificando una semola con glutine mediocre a condizione che quest'ultima abbia un alto tenore in proteine.

La possibilità di riconoscere la qualità della pasta con metodiche oggettive che possano stabilirla in maniera sicura e controllabile è pertanto di notevole interesse non solo sul piano tecnico-scientifico, ma anche su quello delle scelte del consumatore.

Diversi metodi analitici sono stati proposti per determinare la presenza di farina di grano tenero nelle paste alimentari (Sarwar and McDonald, 1993; Barnwell e altri, 1994; De Nori e altri, 1994). Tutti questi metodi sono basati sull'estrazione delle proteine seguita dal loro frazionamento ed analisi quantitativa. I target discriminanti di questi test sono rappresentati dai prodotti del genoma D, presente nel grano tenero esaploide, ma assente nei frumenti duri.



Il metodo analitico ufficiale (Resmini e De Bernardi, 1976), è basato sul frazionamento di albumine, caratteristiche dei due tipi di frumento, tramite la tecnica della focalizzazione isoelettrica (IEF). Tale metodica consente anche di effettuare analisi di tipo quantitativo in quanto la frazione albuminica di riferimento è presente in quantità costante in tutte le varietà di grano tenero italiane, indipendentemente da condizioni di coltura o da parametri ambientali.

La principale limitazione di tale metodo, ma in generale di tutti i metodi basati sull'analisi delle proteine, è legata alla denaturazione delle stesse ed è una diretta conseguenza delle condizioni utilizzate nella produzione della pasta che prevedono un trattamento ad alta temperatura per l'essiccamento. Attualmente è divenuta una tendenza diffusa tra le aziende produttrici di pasta, l'utilizzazione di alte temperature di essiccamento in quanto ciò consente di ottenere, oltre ad un miglioramento delle qualità tecnologiche della pasta, anche una sensibile riduzione dei tempi e costi di produzione.

È ampiamente riportato che temperature superiori ai 60°C provocano la denaturazione delle proteine, ma che oltre gli 80°C possono avvenire cambiamenti irreversibili di alcuni legami covalenti. Ne consegue un'alterazione delle proprietà biochimiche ed antigeniche delle proteine che rende le metodologie biochimiche e immunologiche (quale l'impiego di anticorpi) non affidabili per il loro riconoscimento nei prodotti trattati.

Tutte queste problematiche hanno generato la necessità di sviluppare nuove metodologie di analisi della qualità della pasta.

Per rendere i metodi diagnostici adatti a riconoscere la presenza di frumento tenero nella pasta non influenzati dai processi termici, negli ultimi anni si sono sviluppati dei metodi sfruttando l'analisi e la quantificazione direttamente sulle sequenze di DNA specifiche del genoma D.

È noto infatti che anche dopo drastici trattamenti, quali ad esempio le alte temperature, il DNA estraibile mantiene un'integrità sufficiente a consentirne l'analisi con le attuali tecniche di biologia molecolare.

Per quanto riguarda la valutazione del regime d'essiccamento vengono utilizzati tuttora

solo metodi empirici e sensoriali.

Il sistema empirico spesso utilizzato si basa sul tempo di cottura indicato in etichetta: più è lungo e più la pasta è qualitativamente superiore, ovviamente a parità di tipo e di calibro.

Per valutare la presenza di frumento tenero nella pasta, il metodo della PCR (Polymerase Chain Reaction) (Bryan e altri, 1998) consente l'analisi anche in paste essiccate ad alte temperature (fino a 104 °C), ma si tratta di una metodica qualitativa. Per avere dei dati quantitativi è stata messa a punto la tecnica della Real-time PCR su oligonucleotidi specifici per geni codificanti le subunità gluteniniche ad alto peso molecolare presenti nel grano tenero (D'Ovidio et al 1995).

Essa consiste nella capacità di sintetizzare, per via enzimatica in vitro, un enorme numero di copie di una specifica sequenza di DNA. Tale risultato viene comunemente descritto come amplificazione del DNA e il suo raggiungimento necessita la conoscenza della sequenza nucleotidica delle regioni fiancheggianti la regione di DNA da amplificare. Infatti, il metodo utilizza due oligonucleotidi di 15-20 basi, che si ibridano a filamenti complementari nelle zone fiancheggianti la regione da amplificare e fungono da inneschi per la polimerizzazione delle due eliche ad opera di una DNA polimerasi termostabile chiamata Taq DNA polimerasi. L'amplificazione del DNA si ottiene mediante cicli ripetuti di polimerizzazione in cui il prodotto di amplificazione ottenuto in un ciclo diventa lo stampo per la successiva.

Dal punto di vista diagnostico, una importante caratteristica del metodo della PCR è la sua estrema sensibilità. Infatti si possono ottenere prodotti di amplificazione facilmente rilevabili anche a partire da un capello o addirittura da una cellula aploide come lo spermatozoo umano.

Questo metodo oltre ad essere sensibile è anche altamente specifico; si può, infatti, mettere in evidenza la presenza di una sola copia di una specifica sequenza di DNA in mezzo a 10 ng di DNA genomico.

L'approccio è altresì rapido (20 cicli di amplificazione vengono effettuati in meno di due ore) e di semplice applicazione.



La quantità di DNA amplificato che si ottiene è tale da consentire l'osservazione del risultato mediante una semplice elettroforesi su gel di agarosio.

Da quanto esposto e sulla base dei risultati emersi dal lavoro di Bryan e altri (1998), la reazione PCR mostra di avere i requisiti necessari per analisi diagnostiche condotte su paste alimentari, anche se l'integrità del DNA può venire compromessa dai trattamenti ad alta temperatura.

Inoltre, a rendere la PCR particolarmente idonea per questo scopo, contribuiscono oltre alla sua semplicità e riproducibilità, la possibilità di automatizzare il processo in modo da rendere possibile l'impiego della tecnica per l'ana-

lisi su un gran numero di campioni.

## Metodi

### Materiali

Campioni sperimentali di pasta (penne) contenenti grano tenero (*T. aestivum* L.) in percentuali diverse [0, 1, 3, 5 e 10 % (w/w)], sono state preparati dalla ditta Pavan (Pavan, spa). I campioni di pasta sono stati essiccati seguendo tre differenti regimi termici: 50°C (LT, low temperature), 70°C (MT, medium temperature) e 95°C (HT, high temperature), (Tabella 3). I parametri di essiccazione utilizzati per la pasta LT (50°C), MT (70°C) e HT (95°C) sono riportati nella tabella 1.

Tab. 1: Parametri termici di essiccazione per i campioni sperimentali di pasta.

Pasta	Temperatura	Umidità relativa	Tempo (min)
LT	50	75	120
MT	40	70	60
MT	70	75	60
HT	40	70	60
HT	70	75	60
HT	85	75	60
HT	90	60	30
HT	95	50	30

L'essiccazione della pasta a bassa temperatura (LT) è stata realizzata in un unico step riscaldando a 50°C per 120 minuti, con una umidità relativa del 75%, mentre l'essiccazione della pasta a media temperatura (MT) è stata realizzata in due step, riscaldando il campione fino a 40°C per 60 minuti con il 70% di umidità relativa, poi fino a 70 °C per 60 minuti con il 75% di umidità relativa.

La pasta ad alta temperatura (HT) è stata essiccata in cinque step. La temperatura è stata

portata fino a 40°C e mantenuta tale per 60 minuti con il 70% di umidità relativa. La temperatura è stata portata poi a 70°C e il campione essiccato a tale regime termico per 60 minuti con umidità relativa del 75%. La temperatura è salita poi fino a 85°C ed è stata mantenuta tale per 60 minuti con umidità relativa del 75%. Infine il campione è stato portato ad una temperatura di 90°C per 30 minuti con una umidità relativa di 60% ed a 95 °C con una umidità relativa del 50% per 30 minuti. I regi-

mi di essiccamento sono stati condotti su campioni di pasta preparati in laboratorio e su campioni accreditati di semola adulterati con per-

centuali note [0, 1, 3, 5 e 10 % (w/w)] di farina. Tutti i campioni sperimentali sono descritti nella Tab.2

Tab. 2: Campioni di pasta e sfarinati adulterati con percentuali (w/w) note di grano tenero.

Percentuale (w/w) di grano tenero	Pasta: Temperatura di essiccamento			Sfarinati
	50°C	70°C	95°C	
0	LT0	MT0	HT0	S0
1	LT1	MT1	HT1	S1
3	LT3	MT3	HT3	S3
5	LT5	MT5	HT5	S5
10	LT10	MT10	HT10	S10

Inoltre sono stati acquistati in commercio campioni di pasta di varie case produttrici (A, B, C, D) le cui etichette specificavano il basso regime termico di essiccamento o non specificavano alcun regime termico (Tab.3).

Per ciascuna casa produttrice è stato analizzato il formato corto "penne" (campioni Ap, Bp, Cp, Dp) e il formato lungo "spaghetti" (campioni As, Bs, Cs, Ds)

Tab. 2: Specifiche del regime d'essiccazione riportate sulle confezioni delle paste commerciali di 4 case produttrici

CASA PRODUTTRICE	SPECIFICHE RIPORTATE IN ETICHETTA
A	Nessuna specifica
B	Nessuna specifica
C	"Essiccazione lenta a bassa temperatura"
D	"Essiccata lentamente come una volta"

#### Metodi di analisi del DNA da pasta e da sfarinati.

##### Estrazione e controllo della purezza

Il DNA è stato estratto dai campioni di pasta e di sfarinati. In entrambi i casi è stata utilizzata la stessa procedura (Benito et al. 1993) eccettuato un passaggio aggiuntivo per la pasta. Per quest'ultima, infatti, è stato necessario un pas-

saggio di frantumazione per ottenere del materiale polverizzato idoneo per le successive fasi di estrazione. In tutti e due i casi si è partiti da un quantitativo pari a 10 mg che sono stati posti in una eppendorf da 1.5ml insieme a 80µl di tampone di estrazione (100 mM Tris pH=8, 50 mM EDTA pH=8, 500 mM NaCl e 16µl di SDS 20%). Il tutto è stato omogeneizzato delicatamente ed incubato a 65°C per 10 minuti.



Successivamente sono stati aggiunti 26.7µl di acetato di potassio 5M e, dopo aver agitato delicatamente la microprovetta, la si è posta per 20 minuti in ghiaccio. A questo punto è stata effettuata una centrifugazione a 14.000 RPM e si è recuperato il supernatante contenente il DNA.

Mediante l'aggiunta di isopropanolo tenuto alla temperatura di -20°C in quantità pari al volume di supernatante recuperato, si è provocata la precipitazione del DNA. Dopo averlo agitato delicatamente, il campione è stato subito centrifugato a 14.000 RPM per 5 minuti.

Il supernatante è stato eliminato e sono stati aggiunti 150µl di etanolo al 70% seguiti da una centrifugazione nelle stesse condizioni precedenti. Il pellet, ormai interamente costituito da DNA, è stato asciugato all'aria sotto cappa sterile per circa due minuti; successivamente è stato risospeso in 20µl di tampone TE (Tris 10mM, EDTA 1mM pH=8).

I campioni di DNA estratto dalla pasta e degli sfarinati sono stati analizzati spettrofotometricamente, misurando l'assorbanza a 260 nm e 280 nm. La purezza dell'acido nucleico è stata determinata calcolando il rapporto  $A_{260}/A_{280}$  ( $\geq 1.8$ ) mentre la concentrazione è stata determinata tramite l'equazione:

$$50 \times F. D. (\text{Fattore di Diluizione}) \times A (\text{Assorbanza})$$

Il campione è stato poi diluito in soluzione acquosa 0.01% DEPC (Dietil Poli Carbonato) fino ad una concentrazione finale:

-3µg/µl in acqua DEPC 0.01% per l'analisi elettroforetica.

-1µg/µl per utilizzarlo nelle successive reazioni di PCR

#### **Elettroforesi su gel di agarosio**

L'elettroforesi su gel di agarosio è un metodo utilizzato per separare frammenti di DNA sulla base del loro peso molecolare.

Aliquote di 20µl della soluzione di DNA preparata come sopra descritto, sono state poste su gel d'agarosio all'1.0% in tampone TAE (Tris-Acetato EDTA) 1 X e Bromuro di Etidio (0.5µg/ml). Quest'ultimo è un agente intercalante che inserendosi nella doppia elica del DNA la rende fluorescente ai raggi

UV. È stato utilizzato l'apparecchio "Mini Sub DNA Cell" (Biorad), e l'elettroforesi è stata effettuata a 40V evidenziando i frammenti di DNA separati, ai raggi UV. La valutazione dello stato di degradazione del DNA in rapporto a diversi regimi termici d'essiccazione, utilizzata è stata fatta mediante l'analisi d'immagine, utilizzando il programma KS300.

#### **Analisi d'immagine**

I campioni di DNA corsi sul gel d'agarosio sono stati illuminati da una lampada agli UV e l'immagine acquisita con macchina digitale ad una risoluzione di 28 pixel  $\times$  cm<sup>2</sup>

L'immagine della corsa di ciascun campione è stata divisa in tre sezioni. Per ogni sezione è stato modificato, con il programma, il colore su scala di grigio.

La sezione N°1 comprende frammenti di lunghezza fino a 2027 bp, la sezione N° 2 da 2027 bp a 564 bp, la sezione N°3 da 564 bp fino fronte corsa.

Con il programma KS 300 è stata valutata per ciascuna sezione l'intensità di grigio dei pixel che ne compongono l'immagine e calcolata la media di tali valori.

Tutti i campioni sono stati corsi su gel e analizzati in triplicato.

#### **Amplificazione del DNA tramite Realtime PCR**

L'amplificazione dei campioni di DNA estratti è stata realizzata utilizzando il sistema LightCycler (Roche Molecular Biochemicals) ed il software LightCycler (v 3.5, Ottobre 2000, Roche Molecular Biochemicals).

Il sistema LightCycler consente il monitoraggio continuo del processo di amplificazione in PCR mediante l'uso di sonde DNA specifiche fluorescenti e di un sistema di rilevamento del dato di fluorescenza che fornisce on-line ad ogni ciclo di amplificazione informazioni sul quantitativo di acido nucleico presente nei singoli campioni.

Come sonda fluorescente è stato utilizzato il SYBR®, Green I come sonda specifica per il DNA a doppia elica (Wittwer CT e altri, 1997). Il SYBR®, Green I è una molecola fluorescente



che è in grado di intercalarsi in modo specifico al DNA a doppia elica ed emettere in questa forma un segnale di fluorescenza (530 nm) corrispondente al canale della fluoresceina rilevabile dal sistema ottico della macchina. Per le reazioni di amplificazione sono stati utilizzati i primers la cui sequenza è elencata nella tabella 4. I primers sono stati realizzati seguendo tre principi fondamentali: alta specificità, ridotte dimensioni della sequenza target e bassa com-

plementarità reciproca.

Il DNA totale relativo ad entrambe le specie di grano è stato amplificato utilizzando i primers Ay1/VT101, che amplificano una porzione di 269 bp del gene HMW-Ay delle glutenine. Il DNA relativo alla specie *T. aestivum* è stato amplificato utilizzando i primers RD-10/RD-3 che amplificano una porzione di 408 bp del gene Glu-D1-b1 che codifica per HMW-GS 1 Dx (D'Ovidio e altri, 1995).

Tab. 4: Primers specifici utilizzati per l'amplificazione in Real-Time PCR.

Gene	Nome Orientamento	Sequenza (5'→3')
HMW-Ay1	Ay1 Forward primer	ATGGCTAAGCGGTTGGTCCT
	VT101 Reverse primer	TGCCCATATTGTCTTGCGAC
HMW-Dx5	RD10 Forward primer	CCGAGATGGCTAAGCGGTTA
	RD3 Reverse primer	CTGGCCGTTGCGGAGAAGCTTGCC

L'amplificazione è stata realizzata all'interno di capillari costruiti in vetro boro silicato (per consentire il rilevamento del dato di fluorescenza) in un volume totale di 20 µl contenenti 0.5 µM di ogni primer, 4 mM di MgCl<sub>2</sub>, 2 µl di LigthCycler™ Master SYBR®, Green I (contenente 1.25 U di Taq Polimerasi, 10X Taq buffer [500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, PH 8.3], 2mM di ogni dNTP, 10X SYBR®, Green I; Roche Diagnostics) e 2 µl di DNA preparato come descritto sopra.

Le reazioni di PCR per entrambe le sequenze specifiche sono state realizzate dopo un processo di denaturazione iniziale a 95°C per 2 minuti, seguendo il seguente programma di amplificazione: (I) denaturazione (95°C, 1 sec), (II) annealing (63°C, 5 sec), (III) extension (72°C, 16 sec); con una temperatura di transizione di 20 °C/sec. Il valore della fluorescenza è stato

acquisito ad ogni ciclo di amplificazione alla fine di ogni step di allungamento per l'analisi quantitativa. Alla fine di ogni reazione di PCR è stata realizzata l'analisi della temperatura di Melting dei prodotti di amplificazione raffreddando i campioni fino a 50°C e quindi aumentando la temperatura fino a 95°C con una temperatura di transizione di 0.2 °C/sec. In questa fase la fluorescenza è stata acquisita in continuo per la successiva analisi.

Al fine di ottimizzare il processo è stata valutata l'influenza dell'MgCl<sub>2</sub> sull'efficienza di amplificazione, testando concentrazioni comprese tra 1 mM e 5 mM.

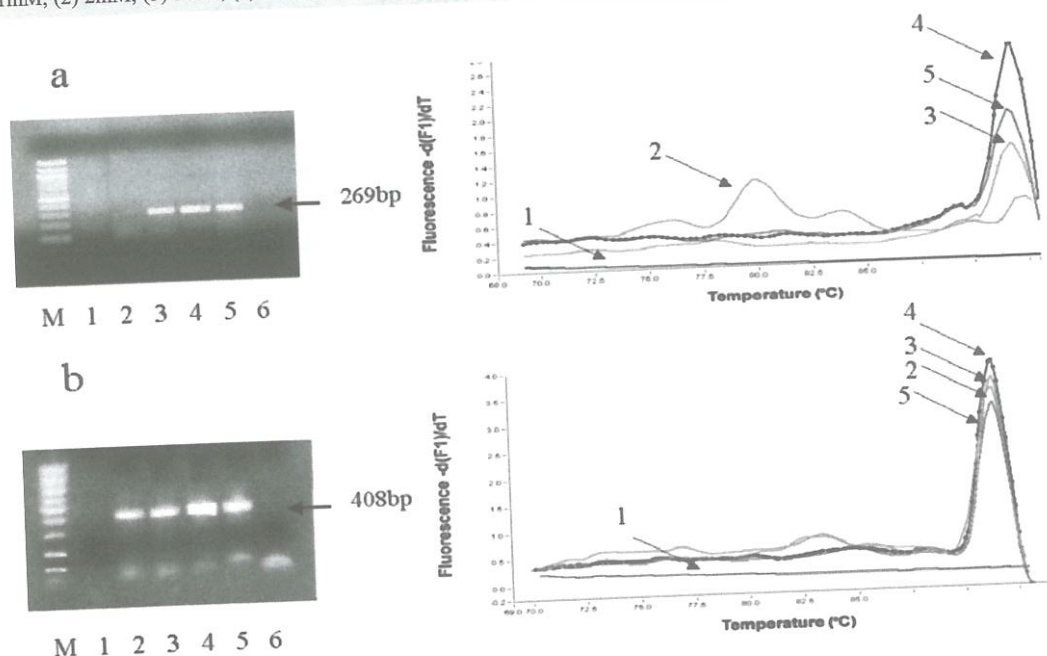
Tale valutazione ha dimostrato che la concentrazione 4 mM di questo sale, importante cofattore dell'enzima Taq DNA Polimerasi, è quella che per entrambi i prodotti di amplificazione determina la massima efficienza e specificità (Figura 1).



È stata realizzata l'identificazione del prodotto di amplificazione: (I) analizzando la temperatura di melting relativa ad entrambi i prodotti di amplificazione e (II) determinando la

lunghezza in paia di basi (bp) dei prodotti di amplificazione in Real-Time PCR recuperati dai capillari e analizzati mediante elettroforesi su gel d'agarosio all'1.0%.

Fig. 1: Analisi della specificità di amplificazione delle coppie di primers Ay/VT101 (a) e RD10/RD3 (b) mediante analisi delle "Curve di Melting" ed elettroforesi su Gel d'Agarosio dei prodotti di amplificazione della titolazione di MgCl<sub>2</sub> [(1) 1mM, (2) 2mM, (3) 3mM, (4) 4mM, (5) 5mM, (6) sterile H<sub>2</sub>O, (M) peso molecolare 100 bp (Invitrogen)].



Sulla base delle considerazioni fatte precedentemente, si è giunti a stabilire i parametri e le condizioni più appropriate per definire un protocollo efficiente ed accurato.

Per ogni campione di DNA sono state eseguite in contemporanea sia una reazione di amplificazione in presenza degli oligonucleotidi di controllo (amplificati dalla coppia Ay-VT101) sia una reazione in presenza degli oligonucleotidi discriminanti (RD10-RD3).

Le reazioni di amplificazione sono state realizzate con un protocollo comune al fine di ridurre al minimo la variabilità del processo.

Inoltre la possibilità di amplificare le due sequenze in contemporanea con lo stesso protocollo permette di realizzare il saggio in un'unica seduta e quindi dimezzare i tempi di realizzazione.

L'analisi dei campioni di DNA estratti è stata realizzata utilizzando il sistema LightCycler (Roche Molecular Biochemicals) ed il software LightCycler Relative Quantification (v 1.0 March 2001, Roche Molecular Biochemicals).

Al fine di costruire delle curve standard di riferimento sono stati utilizzati campioni standard (LT3, MT3, HT3, S3) a concentrazione nota per i quali sono stati individuati dei valori direttamente correlabili con la concentrazione definiti "Crossing Points".

Al fine di determinare il "Range" di concentrazioni all'interno del quale il processo di amplificazione possiede una efficienza costante ( $E = \text{costante}$ ), e poter realizzare le curve standard relative ai valori di Crossing-Point (Cp) della sequenza "Target" (Specificità del

grano tenero) e della sequenza "Reference" (comune al grano duro e al grano tenero) per la quantificazione relativa, sono state testate in triplicato diluizioni 10X seriali di DNA estratto semola adulterata (S3) e diluizioni 4X seriali di DNA estratto dalle paste adulterate LT3, MT3 e HT3.

L'efficienza (E) del processo di PCR è stata calcolata per mezzo dell'equazione:

$$E = (10^{1/\text{pendenza}} - 1) \times 100$$

Per realizzare le Curve Standard dei valori di "Crossing-Point" necessarie per le successive operazioni di Quantificazione Relativa, il DNA estratto dai campioni di sfarinati e di pasta sono stati accuratamente quantificati per mezzo dello spettrofotometro (come descritto in precedenza), e successivamente sono stati portati alla concentrazione di 1µg/µl dalla quale sono state realizzate le diluizioni seriali. La migliore efficienza di amplificazione è stata ottenuta per quanto riguarda gli sfarinati in un "Range" di concentrazioni compreso tra 30 pg e 300 ng, per quanto riguarda la pasta LT ed MT in un "Range" di concentrazioni compreso tra 4 ng ed 1µg, per quanto riguarda la pasta HT in un

"Range" di concentrazioni compreso tra 100ng e 1.6 µg. Tutti i campioni standard sono stati analizzati in triplicato.

Le Curve Standard relative ad i campioni di pasta HT, in particolare quella relativa alla sequenza specifica per il grano tenero, hanno mostrato un andamento lineare in un "range" di concentrazioni molto più ristretto con una efficienza di amplificazione più bassa e valori di deviazione standard dai valori medi di ciascuna diluizione seriale molto più elevati. È stato possibile realizzare la quantificazione relativa dei campioni utilizzando il software "LightCycler Relative Quantification Software" (Roche, Mannheim versione 1.0, marzo 2001).

La quantificazione realizzata automaticamente con il Relative Quantification Software è basata sull'acquisizione ed elaborazione delle Curve Standard che descrivono specificatamente l'efficienza di amplificazione in PCR sia della sequenza Target che della sequenza Reference.

La quantità di DNA specifico per la specie *T. aestivum* L. (Target) nei vari campioni è stata espressa in percentuale come rapporto relativo (normalizzato mediante l'uso di un calibratore) alla quantità di DNA totale (Reference):

$$\% \text{ Target nel campione} = \frac{[\text{Target}] \text{ campione incognito} / [\text{Reference}] \text{ campione incognito}}{[\text{Target}] \text{ calibratore} / [\text{Reference}] \text{ calibratore}} \times 100$$

Il calibratore è un campione in cui la concentrazione della sequenza Target si trova ad un livello di riferimento e relativamente al quale si valuta la concentrazione della sequenza Target dei campioni incogniti in termini di variazione percentuale. Rappresenta uno dei punti sperimentali della curva di taratura.

## Risultati

### Livello di degradazione del DNA nei campioni

Dal momento che velocità di migrazione nel campo elettroforetico dei frammenti di

DNA è inversamente proporzionale alla loro lunghezza (frammenti più piccoli migrano più velocemente), e che la lunghezza dei frammenti di DNA è inversamente proporzionale alla degradazione, il DNA più degradato è perciò concentrato nella sezione n°3 (frammenti <564bp), mentre nella sezione n°1 e nella n°2 ritroviamo i frammenti di DNA con un livello di degradazione minore.

Nelle fig 2 e 3 sono riportate le percentuali di frammenti presenti nelle semole e nei campioni sperimentali e commerciali di pasta formato spaghetti e penne.



Fig. 2: Percentuale di frammenti presenti nella semola e nella pasta formato spaghetti (campioni sperimentali e commerciali)

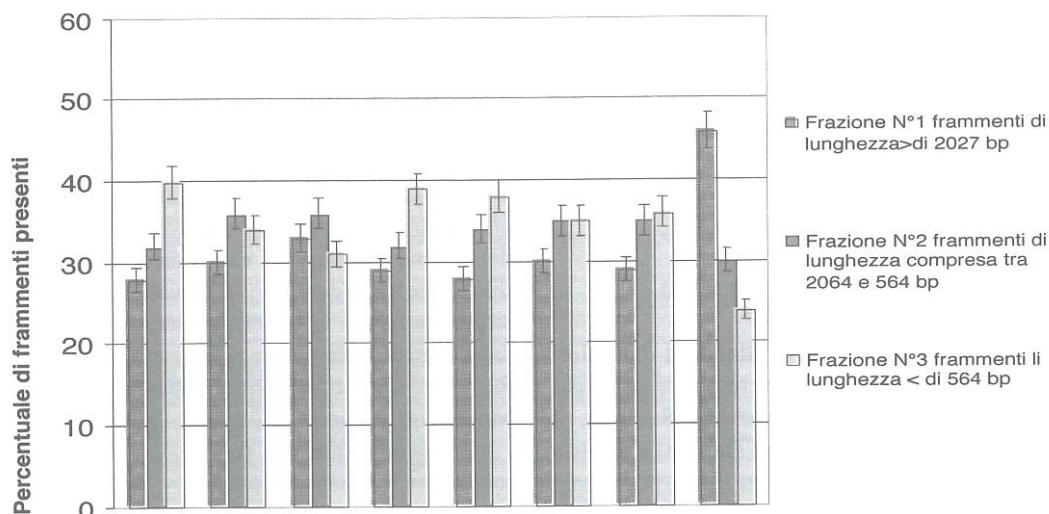
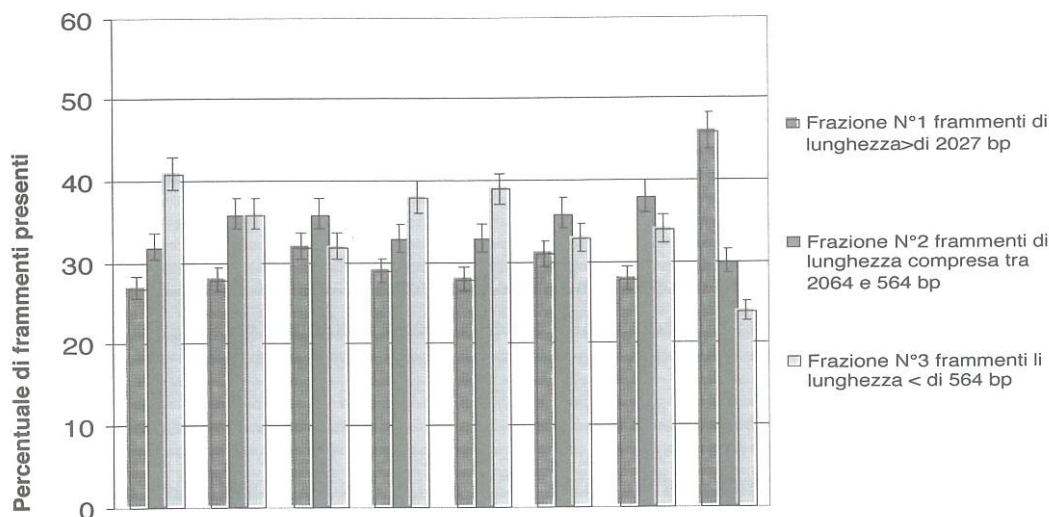


Fig. 3: Percentuale di frammenti presenti nella semola e nella pasta formato penne (campioni sperimentali e commerciali)

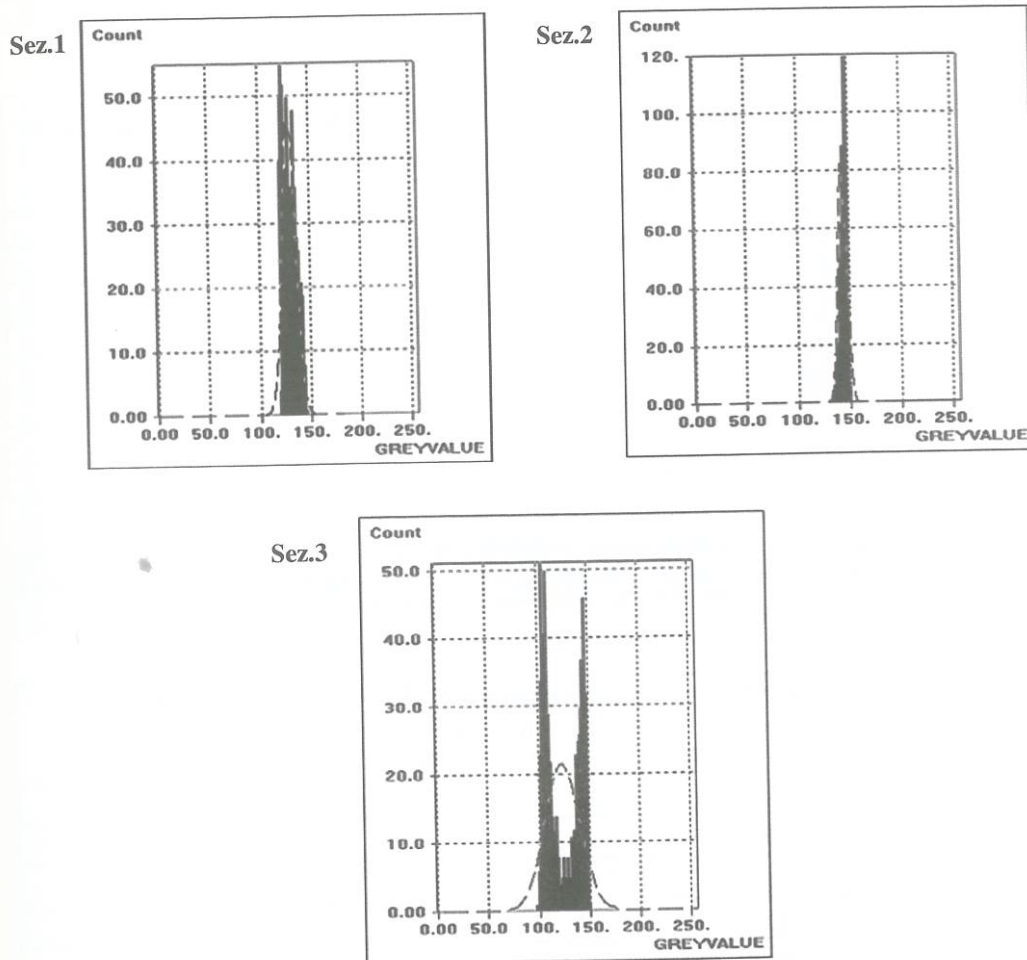


Mediante l'utilizzo del programma KS 300.03 è stato possibile analizzare il valore medio dell'intensità di grigio dei pixel delle tre sezioni (n°1, n°2 e n°3) della corsa su gel d'agarosio di ciascun campione di pasta commerciale, di semola e dei campioni sperimentali LT, MT e HT essiccati a regimi termici noti.

L'intensità di grigio è stata valutata in un

range di valori che vanno dallo 0 (corrispondente all'intensità di grigio più scuro e ad una quantità nulla di acido nucleico) a 250 (corrispondente all'intensità di grigio più chiaro ed ad una quantità massima di acido nucleico). Nella figura 4 sono riportati i risultati dell'analisi delle sezioni 1, 2 e 3 di un campione rappresentativo di pasta commerciale.

Fig. 4: Analisi della sezione n°1, n°2 e n°3 di un campione rappresentativo di pasta commerciale (penne)



Per ciascuna sezione è stata poi calcolata la percentuale media di acido nucleico (DNA) frazionato sul gel, rispetto al totale (Totale = Somma della media delle tre sezioni).

I risultati delle percentuali medie di acido nucleico presente nelle sezioni dei campioni esaminati in un esperimento rappresentativo di tre esperimenti indipendenti, sono riportati nella Tabella 7 e nella Tabella 8 relativamente al formato penne e formato spaghetti. La percentuale di acido nucleico della sezione n°3 è risultata maggiore nella pasta essiccata ad alta temperatura (campione sperimentale HT).

I campioni essiccati a temperature inferiori (MT e LT) presentano un minor grado di frammentazione, come risulta evidente dalla

sezione n°2 e n°3 che si eguagliano nel campione MT e differiscono nel campione LT, dove la sezione n°3 risulta inferiore alla n°2. Nei campioni di pasta commerciale formato "penne", Cp e Dp, in cui le case produttrici hanno riportato un'etichettatura con specifiche riguardo il basso regime d'essiccazione, è stata riscontrata una minor percentuale di acido nucleico nella sezione n°3, mentre nei campioni Ap e Bp la sezione n°3, e quindi la percentuale di frammenti di DNA minori della lunghezza di 564bp, è risultata maggiore.

Nei campioni di pasta commerciale formato "spaghetti" la sezione n°3 è risultata minore per Ds, Cs e Bs, mentre è risultata maggiore per Ds.



Tab. 7: Valore della concentrazione percentuale di acido nucleico, relativa ai campioni del formato corto (penne) delle paste commerciali e dei campioni sperimentali LT, MT, HT e semola, riscontrato nelle tre sezioni esaminate. Valori ottenuti in un esperimento rappresentativo dei tre esperimenti indipendenti.

Campioni	Frazione N° 1 frammenti di lunghezza > di 2027bp	Frazione N°2 frammenti da 2027 bp a 564 bp	Frazione N°3 frammenti bp < 564
Ap	31	33	36
Bp	30	34	36
Cp	27	37	36
Dp	30	36	34
HT	27	32	41
MT	28	36	36
LT	30	36	34
Semola	46	30	24

Tab. 8: Valore della concentrazione percentuale di acido nucleico, relativa ai campioni del formato lungo (spaghetti) delle paste commerciali e dei campioni sperimentali LT, MT, HT e semola riscontrato nelle tre frazioni esaminate. Valori ottenuti in un esperimento rappresentativo dei tre esperimenti indipendenti.

Campioni	sezione N° 1 frammenti di lunghezza > di 2027bp	sezione N°2 frammenti da 2027 bp a 564 bp	sezione N°3 frammenti bp < 564
As	28	32	40
Bs	30	36	34
Cs	30	36	34
Ds	30	36	34
HT	27	32	41
MT	28	36	36
LT	30	36	34
Semola	46	30	24

#### Riconoscimento e quantificazione del grano tenero nei campioni sperimentali di pasta

I risultati ottenuti nei campioni sperimentali hanno dato conferma della specificità e della sensibilità del metodo sviluppato. Infatti, come appare evidente dal risultato dell'analisi, il saggio quantitativo di Real-Time PCR risulta efficiente anche con adulterazioni dell'1%.

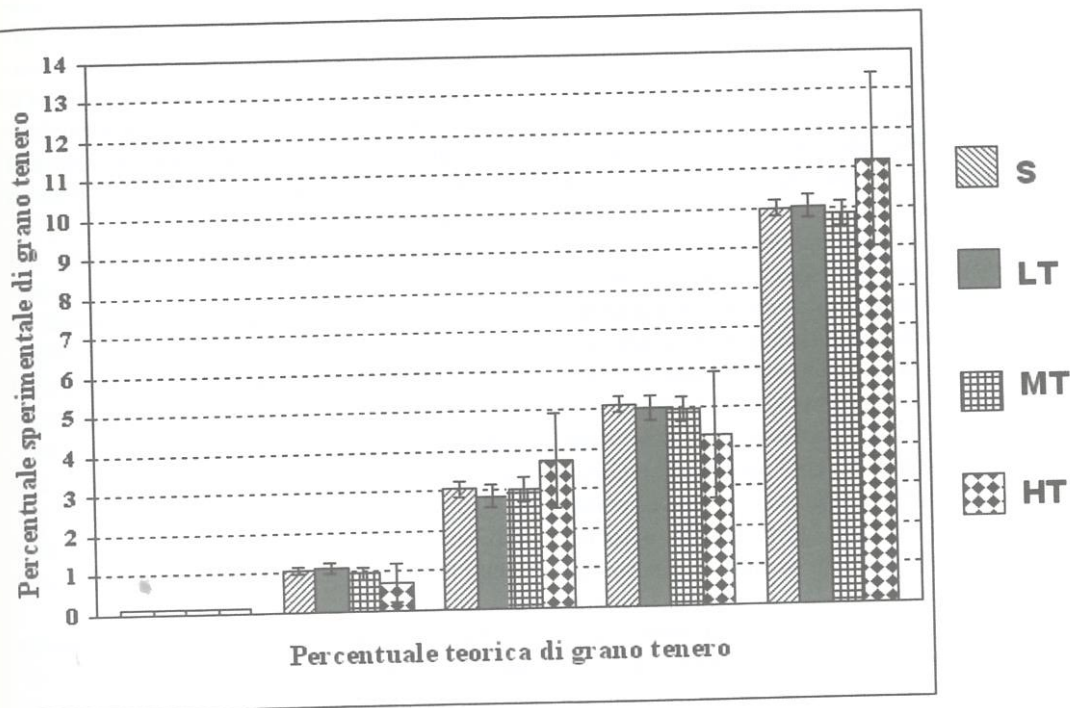
La quantità di DNA specifico per la specie *T. aestivum* L. nei vari campioni è stata espres-

sa percentualmente come rapporto relativo (normalizzato mediante l'uso di un calibratore) alla quantità di DNA totale. (Fig. 5)

La ripetizione di tali analisi ha confermato che, sia le reazioni effettuate sulle semole che quelle condotte sulla pasta essiccata producono un risultato chiaro e riproducibile.

Inoltre la sensibilità, accuratezza e riproducibilità dei dati dimostra che la tecnica utilizzata permette di discriminare sia a livello qualitativo ma più in particolare a livello quantitativo

Fig. 5: Determinazione sperimentale del contenuto percentuale di grano tenero nei campioni sperimentali



i vari gradi di adulterazione (0%, 1%, 3%, 5% e 10%) dei campioni esaminati.

Nel caso di campioni commerciali i risultati hanno mostrato in tutti i casi l'assenza di grano tenero.

### Discussioni e conclusioni

L'essiccamento ad alta e bassa temperatura è stato valutato confrontando lo stato di degradazione del DNA estratto alla pasta trattata seguendo tre diversi regimi termici.

Dall'esame del gel elettroforetico risulta evidente come lo stato di degradazione del DNA sia una conseguenza del trattamento di essiccazione a cui le paste sono stete sottoposte.

Per convalidare l'osservazione ci si è avvalsi di un programma di analisi d'immagine che permettesse di valutare nella sezione della corsa elettroforetica la presenza e il quantitativo dei frammenti.

È evidente dai risultati sui campioni di pasta sperimentali che la valutazione del regime di

essiccamento permette di distinguere regimi termici che raggiungono un massimo di 70°C da quelli che superano i 95°C.

Risulta infatti che le paste, nelle quali il regime d'essiccamento ha raggiunto temperature pari a 70°C, hanno subito una degradazione minore del DNA.

La metodologia è stata poi applicata per valutare il regime d'essiccamento di campioni di paste commerciali.

Per il formato "penne" è stato riscontrato un regime d'essiccamento termico alto in due casi (A e B), le cui confezioni di pasta non riportavano in etichetta alcuna specifica circa la temperatura utilizzata, mentre in altri due casi (C e D), le cui confezioni riportavano specifiche di bassa temperatura, è stato riscontrato un regime termico inferiore ai 70°C, convalidando perciò quanto riportato dalle aziende produttrici.

Per gli spaghetti i risultati sono ambigui in quanto in tre casi c'è corrispondenza tra il contenuto di DNA delle tre sezioni e la temperatura d'essiccamento dichiarata, mentre nel cam-



pione Bs, in cui l'etichettatura non riportava alcuna specifica, il regime termico è risultato basso. Ciò può essere dovuto alle condizioni realmente utilizzate dall'industria per quel formato, oppure può dipendere dal formato spaghetti di cui non abbiamo un controllo sperimentale. Occorrerebbe pertanto verificare il controllo su paste formato "spaghetti" dopo averlo confrontato con campioni sperimentali dello stesso formato. È verosimile, infatti, che la temperatura influenzi la degradazione del DNA in maniera diversa in formati diversi. Per realizzare una valutazione quantitativa della presenza di farina di grano tenero nella pasta si è reso necessario utilizzare l'uso di una nuova tecnica PCR quantitativa basata sull'utilizzo della sonda fluorescente SYBR<sup>®</sup>, green in combinazione con il sistema di amplificazione ed elaborazione dei dati LightCycler<sup>™</sup> (Roche, Mannheim) in grado di quantificare accuratamente la percentuale di grano tenero. Differentemente dalle analisi di tipo "End-Point" che devono essere ottimizzate per ogni campione di DNA al fine di ottenere i risultati migliori, la PCR Real-Time che si basa sul monitoraggio continuo dell'accumulo dei prodotti di amplificazione durante la fase esponenziale della PCR, permette di ricavare informazioni molto più precise ed accurate sui campioni di DNA analizzati.

Inoltre l'identificazione dei prodotti di PCR si può realizzare attraverso l'analisi della curva di Melting, evitando la necessità di alcuni steps di analisi dopo l'amplificazione, eliminando il rischio di "cross" contaminazioni e riducendo notevolmente i tempi di lavoro.

I vantaggi di utilizzare una metodica di PCR Real-Time mediante la tecnologia LightCycler sono molti: la possibilità di ottenere più risultati in breve tempo (circa 30 minuti) con una significativa riduzione dei costi di realizzazione; la riproducibilità; la facilità d'uso; la possibilità di monitorare la reazione durante tutto il processo di amplificazione; l'accuratezza; e la possibilità di realizzare on-line simultaneamente la "rivelazione" e la quantificazione.

L'efficienza di questa metodologia ha permesso di ottenere una efficienza di amplificazione costante per entrambe le coppie di pri-

mers utilizzate sia sugli sfarinati che sui campioni di pasta adulterata e trattati a bassa temperatura (LT: 50°C) e ad alta temperatura (HT: 70°C), mentre per i campioni di pasta adulterata trattati ad elevatissima temperatura (HT: 95°C) si è ottenuta una efficienza di amplificazione più alta per la coppia di primers specifici per la sequenza HMW-Ay (Reference) rispetto alla coppia HMW-Dx (Target).

La scarsa efficienza di amplificazione del DNA nel caso dei primers specifici per *T. aestivum* L. è da ricondursi al parziale processo di degradazione al quale viene sottoposto il DNA durante l'essiccamento a 95 °C della pasta. Dal momento che la sequenza amplificata dalla coppia di primers RD-10/RD-3 ha una lunghezza in paia di basi (408bp) maggiore rispetto alla sequenza amplificata dalla coppia Ay1/VT101 (269bp) è più probabile che risenta dei trattamenti termici e che quindi venga degradata con più facilità.

La sequenza bersaglio scelta per sviluppare un saggio specifico per il genoma D ha interessato una regione del gene codificante la subunità gluteninica ad alto peso molecolare (HMW-GS) denominata Dx (Shewry et al., 1992). La principale motivazione per una tale scelta risiede nel fatto che questa sequenza, oltre ad essere specifica del genoma D, è rappresentata da un basso numero di copie geniche per genoma (1-3 geni per genoma) e di conseguenza offre le migliori caratteristiche di specificità per un approccio mediante la reazione a catena della DNA polimerasi (PCR).

È importante specificare che la scelta del gene Dx è di estrema efficacia per un' applicazione di tipo diagnostico in quanto, data la sua diretta correlazione con le caratteristiche qualitative delle farine, è stato sottoposto ad un' estesa analisi di caratterizzazione molecolare in numerosi genotipi. Infatti, a tutt' oggi si conoscono più di 40 sequenze complete e parziali di geni o proteine HMW-GS, caratterizzate in genotipi provenienti da diversi Paesi. Questa approfondita conoscenza delle caratteristiche molecolari relative al gene Glu-D1-1b consente di affermare che gli oligonucleotidi sviluppati, essendo il risultato delle analisi di confronto effettuate tra tutte le sequenze note, possono

1-  
1-  
F:  
a-  
F:  
a-  
ci  
to  
  
el  
i-  
di  
A  
al  
la  
z-  
la  
01  
a-  
n  
  
e  
3-  
i-  
7-  
a  
3-  
3-  
la  
a  
e  
n  
a  
  
el  
r-  
a  
i-  
3-  
n  
3-  
li  
n  
a  
e  
e  
i,  
o  
o

avere una vasta applicazione, probabilmente corrispondente a tutte le diverse varietà di frumento tenero in produzione.

Per monitorare l'amplificabilità del DNA dei campioni da analizzare e per lo sviluppo della procedura di quantificazione relativa, oltre a oligonucleotidi specifici del genoma D, sono stati utilizzati degli oligonucleotidi di controllo in grado di amplificare una sequenza presente sia in frumento tenero che in frumento duro. Per uniformità sul numero di copie geniche, la scelta di quest'ultima sequenza bersaglio è ricaduta su una regione del gene codificante la subunità gluteninica ad alto peso molecolare denominata Ay (Shewry et al., 1992).

Questa tecnica di PCR Real-Time è in grado

di evidenziare percentuali di grano tenero (*Triticum aestivum L.*) pari, e probabilmente inferiori all'1%. L'accuratezza del metodo di quantificazione risulta essere dipendente comunque dalle condizioni termiche utilizzate durante il processo di essiccamento della pasta; infatti a temperature elevate (95°C) si ha una condizione inferiore rispetto a regimi termici più blandi, dovuta alla parziale degradazione del DNA.

Nelle paste commerciali esaminate non è stata riscontrata presenza di frumento tenero in entrambi i formati analizzati, a dimostrazione della generale buona qualità delle materie prime utilizzate per la produzione di pasta commercializzata in Italia.



## Bibliografia

- Barnwell, P., Mc Carthy, P.K., Lumley, I.D. and Griffin, M., 1994. The Use of Reversed-phase High-performance Liquid Chromatography to Detect Common Wheat (*Triticum aestivum*) Adulteration of Durum Wheat (*Triticum durum*) Pasta Products Dried at Low and High Temperatures J.Cereal Sci. 20: 245-252.
- Benito, C., A., M., Figueiras, C. Saragozza, F. J.Gallego and A. de la Pena, 1993. Rapid identification of Triticeae genotypes from single seeds using the polymerasechein reaction. Plant Mol. Biol. 21,181-183.
- Bryan, G.J., Dixon, A., Gale, M.D. and Wiseman, G., 1998. A PCR-based for the detection of exaploid bread wheat adulteration of durum wheat and pasta. J. Cereal Sci. 28: 135-145.
- Cubadda R.,1995. Qualità della pasta: relazione fra proprietà della materia prima e tecnologie di produzione. Un mondo di pasta.Chiriotti Editori:pag. 164-168.
- De Nori, I., De Bernardi, G. and Pellegrino, L., 1994. Detection of common-wheat (*Triticum aestivum*) flour in durum-wheat (*Triticum durum*) semolina by reverse-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) of specific albumins. Food Chemistry 51: 325-329.
- D'Ovidio, R., Simeone, M., Masci, S., Porceddu, E. and Kasarda, D.D., 1995. Nucleotide sequence of a y-gliadin type gene from a durum wheat: Correlation with a y-type glutenin subunit from the same biotype. Cereal Chem. 72 (5): 443-449.
- D'Ovidio, R., Marchitelli, C., Ercoli Cardelli, L., Porceddu, E., 1999. Sequence similarity between allelic Glu-B3 genes related to durum quality properties of durum wheat. Theor. Appl. Genet. 98: 455-461.
- Resmini, P. e De Bernardi, G., 1976. Un metodo elettroforetico rapido per il riconoscimento ed il dosaggio del grano tenero nel grano duro, negli sfarinati e nelle paste alimentari. Tec.Molitoria 27: 97-109.
- Resmini, P.e Pagani, M.A., e Dalbon, G., 1988. Ruolo delle caratteristiche della materia prima e delle condizioni di produzione della pasta nel determinare la qualità di cottura. Tec. Molitoria 39,425-436.
- Sarwar, M. and Mc Donald, C.E., 1993. Detection of bread wheat farina adulterant in durum wheat semolina and pasta dried at low, high, and ultra-high temperatures. Cereal Chemistry 70: 405-411.
- Shewry P.R., Halford N.G., Tatham A.S1992. High molecular weight subunits of wheat glutenin. J Cereal Sci. 15:105-120.
- Wittwer CT, Ririe KM, Andrew RV, David DA, Gundry RA, Balis UJ. 1997; The Light-Cycler™: a microvolume multisample fluorimeter with rapid temperature control. Biotechniques 22:176-8.

# L'omocisteina nelle malattie cardiovascolari e neurodegenerative

Emilia Carnovale, Cristiano Massignan

Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione

**Riassunto.** L'aumento dei livelli plasmatici di omocisteina totale (tHcy) è ritenuto un fattore di rischio per le patologie cardiovascolari ed è associato all'insorgenza di malattie neurodegenerative. I livelli plasmatici di tHcy sono determinati principalmente da fattori nutrizionali (assunzione di folati e altre vitamine) e genetici (tra cui mutazione 677C>T del gene che codifica per l'enzima MTHFR, metilene-tetraidrofolato reduttasi), ma anche da età, sesso, stile di vita (fumo, alcol e caffè), uso di farmaci, malattie. L'evidenza del ruolo della tHcy come fattore di rischio per le patologie cardiovascolari deriva soprattutto da studi caso-controllo o retrospettivi; meno convincenti sono i risultati degli studi prospettici. Il ruolo della tHcy come fattore di rischio per le malattie vascolari rimane ancora controverso. Scarsi e contrastanti sono anche i dati sulla relazione tra omocisteina e patologie neurodegenerative. I meccanismi mediante i quali la tHcy induce l'insorgenza di malattie non sono ancora stati definiti, anche se questo aminoacido appare indurre disfunzioni endoteliali, apoptosi, formazione del coagulo sanguigno. L'assunzione costante di folati anche in dosi non elevate è un'efficace strategia di controllo dei livelli di tHcy. Non sono tuttavia chiari gli effetti di un'elevata assunzione di folati nel lungo termine. In attesa di studi che chiariscano il ruolo della tHcy nelle patologie vascolari e neurodegenerative e definiscano i livelli ottimali di assunzione dei folati, appare opportuno promuovere nella popolazione uno stile di vita salutare, basato su una dieta ricca di frutta e verdura e povera di grassi e su adeguati livelli di attività fisica.

*Abstract.* An increase of plasma homocysteine (tHcy) levels is considered a risk factor for vascular diseases and is associated with occurring of neurodegenerative diseases. Plasma levels of tHcy are determined mainly by nutritional (intake of folates and other vitamins) and genetic (677C>T mutation in the gene codifying for the metylenetetrahydrofolate reductase) factors, but also age, gender, lifestyle (smoke, alcohol and coffee), medicine use, diseases. The evidence of the role of tHcy as risk factor for cardiovascular diseases comes mainly from case-control and retrospective studies. Results of perspective studies are less convincing. The role of tHcy as risk factor for vascular diseases remains still controversial. Poor and discordant are also data about the relationship between homocysteine and neurodegenerative diseases. The mechanisms thorough which tHcy reduces disease occurrence have not been defined yet even though this amino acid seems to be both atherogenic and thrombogenic. Constant consumption of folates, even at non-high doses, is an efficient strategy of control for the reduction of tHcy levels. Effect of long-term high consumption of folates are however unclear. Whilst waiting for the result of studies that will clarify the role of tHcy in vascular and neurodegenerative diseases and define optimal intake levels of folates, it seems however advisable to promote among population an healthy lifestyle, based on a diet rich in fruit and vegetables and poor in fats and on adequate levels of physical activity.

## Introduzione

L'incremento dei livelli plasmatici di omocisteina è associato ad un maggiore rischio di patologie cardiovascolari (Boushey, 1995; Danesh, 1998). È stato riportato infatti che un aumento dell'omocisteinemia di 5 mmol/l ha, sul rischio di malattie cardiovascolari, effetti analoghi ad un incremento di 0,5 mmol/l dei livelli di colesterolo (Boushey, 1995).

Inoltre, l'aumento delle concentrazioni plasmatiche di omocisteina appare direttamente correlato all'insorgenza di malattie neurodegenerative, come morbo di Alzheimer e demenza ed a perdita della funzione cognitiva (Clarke, 1998; Riggs, 1996).

Viene riportato un riesame della letteratura sul ruolo dell'omocisteina nell'insorgenza delle patologie cardiovascolari e neurodegenerative, e sull'effetto dell'assunzione di folati e altre vitamine nel controllo delle concentrazioni di questo aminoacido.

## Il metabolismo dell'omocisteina

L'omocisteina è un aminoacido solforato che deriva dalla metionina, aminoacido solforato essenziale, e che si trova negli alimenti solo in tracce.

La metionina viene convertita a S-adenosilmetionina (SAM), in una reazione catalizzata dall'enzima metionina adenosiltransferasi. La

Autore per corrispondenza: Emilia Carnovale, Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, Via Ardeatina 546, 00178 Roma, Tel. 06 51494416, Fax 0651494550



SAM è il donatore di gruppi metilici in fondamentali processi metabolici che coinvolgono il DNA, le proteine, numerosi neurotrasmettitori. In queste reazioni, la SAM viene trasformata in S-adenosilomocisteina (SAH), e quindi idrolizzata a omocisteina in una reazione reversibile (Moat, 2004).

L'omocisteina così ottenuta viene metabolizzata attraverso due processi. Se il bilancio della metionina è positivo, l'omocisteina subisce una transulfurazione, nella quale viene trasformata in cisteina. In questo processo intervengono gli enzimi cistationina- $\beta$ -sintetasi (CBS) e cistationasi, che richiedono come cofattore la vitamina B6. La transulfurazione avviene principalmente nel fegato e nei reni (Moat, 2004).

In condizioni di carenza di metionina, l'omocisteina viene invece rimetilata per ottenere nuovamente metionina. Questa reazione è catalizzata dall'enzima metionina-sintetasi (MS), il cui cofattore è la vitamina B12, e il 5-metil-tetraidrofolato (5-MTHF) agisce come substrato. Il 5-metil-tetraidrofolato viene ottenuto dal 5,10-metilen-tetraidrofolato (5,10-MTHF) con l'intervento del 5,10-metilen-tetraidrofolato-reduttasi (MTHFR), e la vitamina B2 come cofattore (Moat, 2004).

La rimetilazione può essere effettuata anche attraverso una via metabolica alternativa, nella quale il donatore di gruppi metilici è la betaina. Questo processo è catalizzato dall'enzima betaina-omocisteina-metiltransferasi (BHMT), e non richiede l'intervento di acido folico o vitamina B12.

Anche questa rimetilazione si osserva in particolare nel fegato e nei reni (per un riesame della letteratura vedi Craig, 2004).

Le concentrazioni intracellulari di tHcy sono finemente regolate: la SAM controlla infatti l'attivazione degli enzimi CBS e MTHFR. La tHcy in eccesso viene attivamente escreta all'esterno delle cellule, e quindi i livelli plasmatici di tHcy sono strettamente associati a quelli intracellulari e sono un indicatore del corretto svolgimento dei processi metabolici. Il bilancio tra sintesi ed eliminazione dell'omocisteina è strettamente controllato, e circa il 50% della tHcy è rimetilata, formando metionina.

La regolazione del metabolismo dell'omocisteina appare necessaria per evitare l'accumulo intracellulare di questo aminoacido, che in concentrazioni eccessive può interferire con i meccanismi dell'espressione genetica (Andria, 2005).

E' stato recentemente riportato che l'Hcy viene utilizzata nella sintesi di proteine come l'albumina, dell'emoglobina e di  $\gamma$ -globuline, sostituendo la metionina. Il ruolo di queste proteine, i cui livelli plasmatici appaiono associati a quelli della tHcy, non è stato chiarito (Andria, 2005). Il metabolismo dell'Hcy è illustrato in Figura 1.

#### **Livelli plasmatici di riferimento e definizione di iperomocisteinemia**

L'omocisteina è presente nel plasma per circa il 99% in diverse isoforme ossidate, mentre il restante 1% si trova in forma ridotta. Inoltre, dal 70 all'80% dell'omocisteina plasmatica è legata a proteine. Il termine omocisteina plasmatica totale (tHcy) è riferito a tutte le diverse forme di omocisteina (Mudd, 2000).

Negli adulti sono considerati normali livelli plasmatici di riferimento dell'omocisteina compresi tra 5 e 15  $\mu\text{mol/l}$  (Frantzen, 1998).

La condizione di iperomocisteinemia non è comunque definita: un comune cut-off è il 95° percentile dei livelli di tHcy in un campione di soggetti sani a digiuno. Tuttavia, altri autori hanno proposto livelli di riferimento inferiori. Lo studio multicentrico European Concerted Action Project ha indicato un cut-off pari a 12,1  $\mu\text{mol/l}$  (Graham, 1997), mentre l'American Heart Association ha proposto un valore di 10  $\mu\text{mol/l}$  (Malinow, 1999).

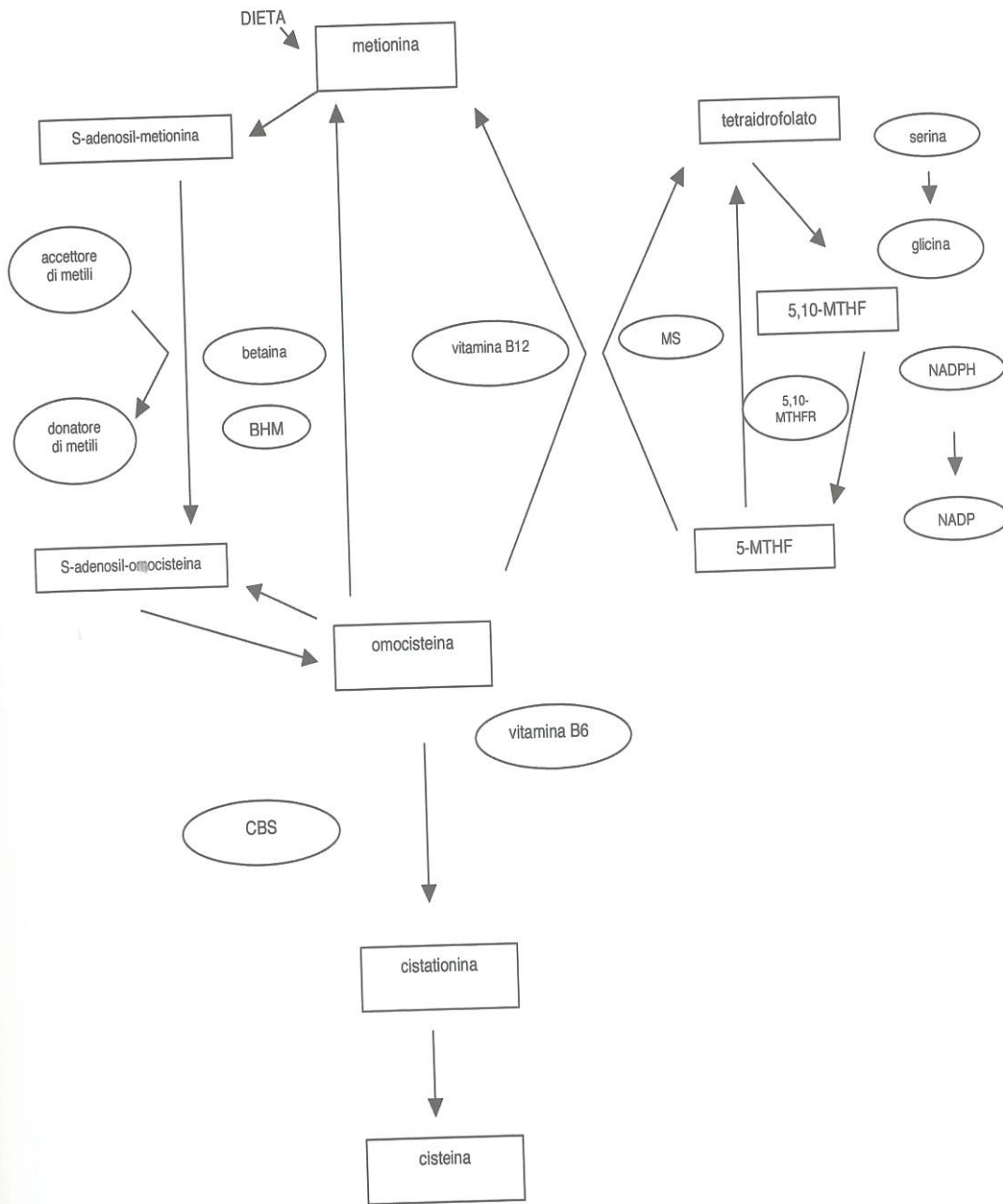
La prevalenza dell'iperomocisteinemia dipende quindi dalle modalità di definizione e di misurazione: ad esempio, utilizzando come cut-off il valore del 95° percentile di soggetti sani, circa il 5% della popolazione generale presenta iperomocisteinemia (McCully, 1996).

#### **Fattori determinanti dei livelli plasmatici di omocisteina**

Lo studio del metabolismo dell'omocisteina suggerisce che i livelli di questo aminoacido sono influenzati principalmente da fattori nutri-

Fig. 1 - Il metabolismo dell'omocisteina

CICLO DEI FOLATI



La transsolforazione richiede l'intervento dell'enzima CBS con la vitamina B6 come cofattore. La rimetilazione richiede gli enzimi 5,10-MTHFR e MS. In questa reazione i folati agiscono da substrato e la vitamina B12 come cofattore. Un processo alternativo per la rimetilazione richiede l'intervento della vitamina betaina.  
 Abbreviazioni - CBS: cistationina-, -sintetasi; MS: metionina-sintetasi; 5-MTHF: 5-metil-tetraidrofolato; 5,10-MTHF: 5,10-metilen-tetraidrofolato; MTHFR: 5,10-metilen-tetraidrofolato-reduttasi; BHMT: betaina-omocisteina-metiltransferasi.



zionali e genetici o da una combinazione di questi (Graham, 2002). È stato riportato che in soggetti di età tra 20 e 25 anni i caratteri genetici contribuiscono per il 9% alla varianza dei livelli di tHcy, mentre folati e vitamina B12 contribuiscono per il 35% (Kluijtmans, 2003). I principali determinanti dell'iperomocisteinemia sono riportati nella Tabella 1.

#### Fattori nutrizionali

Numerosi studi riportano che l'assunzione con la dieta e le concentrazioni plasmatiche di folati, vitamina B12 e altre vitamine del gruppo B (vitamina B6, ma anche vitamina B2) sono inversamente associate ai livelli di tHcy (de Bree, 2001a; Ganji, 2003; 2004; Husemoen, 2004; Jacques, 2001; Koehler, 2001; Mennen,

Tab. 1 – Fattori determinanti dell'iperomocisteinemia

<p>Aumento dell'età Sesso maschile (aumento della massa muscolare) Menopausa</p> <p><i>Fattori nutrizionali</i> Ridotta assunzione di folati, vitamina B12, vitamina B6, vitamina B2 Ridotta assunzione di betaina</p> <p><i>Stile di vita</i> Elevati consumi di alcol Elevati consumi di caffè (antagonismo della vitamina B6) Fumo (probabile alterazione dello stato ossidativo, inibizione di enzimi come la MS) Bassi livelli di attività fisica</p> <p><i>Fattori genetici</i> Carenza dell'enzima CBS (causa principale dell'omocistinuria) Carenza degli enzimi MTHFR e MS (cause rare dell'omocistinuria) Mutazione 677C&gt;T dell'enzima MTHFR</p> <p><i>Condizioni patologiche</i> Malattie renali (alterazione del metabolismo dell'omocisteina) Malattie proliferative (tumori, psoriasi) (sottrazione di gruppi metilici al metabolismo dell'omocisteina) Artrite reumatoide (probabile coinvolgimento della mutazione 677C&gt;T, uso di farmaci, ecc.) Diabete di tipo I (stadi terminali) (alterazione della funzione renale) Ipotiroidismo (alterazione del metabolismo, dei livelli di vitamine B o della funzione renale) Malattie dell'apparato gastrointestinale (celiachia, morbo di Crohn, ecc.) (malassorbimento delle vitamine del gruppo B)</p> <p><i>Farmaci</i> Fibrati (diminuzione dell'assorbimento di folati e vitamina B12) Niacina (antagonista della vitamina B6) Teofillina (antagonista della vitamina B6) Ossido nitroso (inattivazione dell'MS) Metformina (diminuzione dell'assorbimento della vitamina B12) Metotrexato (inibizione della trasformazione di diidrofolato in tetraidrofolato) Ciclosporina (effetto immunodepressivo) L-dopa (legame con gruppi metilici) Antiepilettici (interferenza con il metabolismo dei folati) Ormoni androgeni (incremento della massa muscolare)</p> <p>Tra parentesi è indicato il meccanismo mediante cui aumenta il livello dell'omocisteina</p>
---

2002; Panagiotakos, 2005; Rasmussen, 2000; Selhub, 1993). I folati appaiono comunque i principali determinanti dei livelli di tHcy. Infatti è stato riportato che i livelli di tHcy iniziano ad aumentare a concentrazioni di folati inferiori a 20-25 nmol/l (Selhub, 1999), mentre l'aumento di 1 ng/ml dei livelli di folati diminuisce i livelli di tHcy di 0,166 μmol/l (Lee, 2003).

Anche un'altra vitamina, la betaina, appare influenzare i livelli di omocisteina. L'assun-

zione di supplementi di betaina in dosi da 1,5 a 6 g/d, o in combinazione con l'acido folico e la vitamina B6, appare infatti associata ad una riduzione dei livelli di tHcy (Craig, 2004).

#### Fattori genetici

Il metabolismo dell'Hcy è regolato da numerosi caratteri genetici, le cui mutazioni possono alterarne i livelli plasmatici.

Alcune rare mutazioni genetiche (per una

revisione della letteratura vedi Moat, 2004) diminuiscono la sintesi degli enzimi CBS, MS e MTHFR, coinvolti nel metabolismo dell'omocisteina, causando un grave disordine autosomico recessivo, l'omocistinuria. Questa sindrome è caratterizzata da un abnorme aumento dei livelli plasmatici di tHcy, fino a 300  $\mu\text{mol/l}$ , ed è associata a ritardi mentali e gravi patologie vascolari (Moat, 2004).

Un altro determinante genetico dei livelli di tHcy è la mutazione 677C>T dell'enzima MTHFR il cui risultato è una variante termolabile dell'enzima. L'attività dell'enzima mutante è pari a circa il 30% negli individui omozigoti TT, e circa il 65% in quelli eterozigoti CT, rispetto a quella mostrata dal genotipo normale CC (Frosst, 1995).

La mutazione 677C>T è considerata la più comune causa genetica di iperomocisteinemia nell'uomo (de Bree, 2003a; Gudnason, 1998). L'incremento nei livelli di tHcy (a digiuno) nei soggetti TT è infatti quasi il doppio (Frosst, 1995) rispetto a quelli con genotipo normale CC. Tuttavia, studi rivisti da Molloy (2004) indicano che l'aumento dei livelli di tHcy si manifesta in pratica nei soli soggetti omozigoti TT.

In aggiunta, è stato riportato che l'iperomocisteinemia è più marcata negli individui che, oltre al genotipo TT, presentavano anche carenza di folati (Jacques, 1996). Infatti, soggetti omozigoti TT con elevati livelli plasmatici di folati mostrano concentrazioni di tHcy paragonabili a quelle dei soggetti CC e CT (de Bree, 2003a).

L'effetto normalizzante dei folati sui livelli di tHcy nei soggetti TT è stato dimostrato da studi sulla mutazione omologa a quella dell'uo-

mo nel batterio *Escherichia coli* e sul MTHFR ricombinante umano (per un riesame della letteratura vedi de Bree 2002). Questi lavori hanno evidenziato che la mutazione 677C>T è associata ad una minore affinità del cofattore FAD per l'enzima MTHFR, e l'acido folico ripristina la capacità del FAD di legarsi all'MTHFR.

Questi risultati hanno suggerito che il MTHFR mutante sia sensibile ai livelli di folati, ed anche di vitamina B2 e di SAM (de Bree 2002). L'adeguata assunzione di folati e vitamina B2 potrebbe quindi rappresentare un efficace strumento di controllo dei livelli plasmatici di tHcy negli individui omozigoti TT (Molloy, 2004).

La mutazione 677C>T appare l'unica significativamente associata ai livelli plasmatici di omocisteina. Studi rivisti da Molloy (2004) non hanno evidenziato effetti significativi di altri polimorfismi genetici sulle concentrazioni di tHcy.

La prevalenza della mutazione 677C>T è di circa il 12% nei bianchi caucasici (Moat, 2004).

Inoltre, è stato osservato (Gudnason, 1998) che in Europa la frequenza di questo polimorfismo aumenta secondo un gradiente nord-sud: è più bassa (0,23) negli Stati baltici, e più elevata nei Paesi meridionali come Italia, Spagna, Grecia (0,41) (vedi Tabella 2).

Queste differenze sono da attribuire ad altri fattori genetici ed ambientali (Gudnason, 1998).

#### *Altri fattori determinanti dei livelli plasmatici di omocisteina*

In generale, i livelli di tHcy aumentano con l'età e sono maggiori negli individui di sesso

Tab. 2 - Frequenze dell'allele 677T del 5,10-metilentetraidrofolato redattasi (MTHFR) in Europa

Regione	Frequenza
Stati baltici	0.233
Regno Unito	0.353
Stati dell'Europa centrale	0.312
Stati dell'Europa meridionale	0.410

(da Gudnason, 1998)



maschile rispetto a quelli di sesso femminile (Ganji, 2003; Lussier Cacan, 1996; Panagiotakos, 2005). Inoltre, le concentrazioni di tHcy sono più elevate dopo la menopausa (Andersson, 1992; Panagiotakos, 2005). La gravidanza appare invece associata ad una diminuzione dei livelli di tHcy (Murphy, 2002).

E' stato osservato che elevati consumi di alcol appaiono associati ad iperomocisteinemia (Koehler, 2001; Panagiotakos, 2005). In particolare, questa relazione è stata osservata per vino (Mennen et al, 2003) e superalcolici (Ganji, 2003; Jacques, 2001), mentre la birra appare associata negativamente o non associata ai livelli di tHcy (de Bree, 2001c; Ganji, 2003; Husemoen, 2004; Jacques, 2001; Mennen, 2003).

Anche elevati consumi di caffè (de Bree, 2001b; Husemoen, 2004; Jacques, 2001; Koehler, 2001; Nurk, 2004; Olthof, 2001; Panagiotakos, 2005) ed il fumo (de Bree, 2001b; Husemoen, 2004; Jacques, 2001; Koehler, 2001; Nurk, 2004; Panagiotakos, 2005; Rasmussen, 2000) sono correlati ad un aumento dei livelli di tHcy.

L'associazione tra i livelli plasmatici di omocisteina e l'attività fisica appare controversa (de Bree, 2001b; Husemoen, 2004). Alcuni studi hanno comunque evidenziato una relazione negativa tra la concentrazione di tHcy e l'attività fisica (Panagiotakos, 2005).

In aggiunta, come illustrato nella Tabella 1, i livelli plasmatici di omocisteina sono influenzati da diverse condizioni patologiche, come l'insufficienza renale, la più importante causa di iperomocisteinemia dopo la carenza di folati o vitamina B12, patologie proliferative ed altre (per un riesame della letteratura vedi de Bree, 2002). Anche numerosi farmaci (vedi nella Tabella 1) provocano aumenti dei livelli plasmatici di tHcy (de Bree, 2002).

#### *Interazione tra i fattori determinanti dei livelli di tHcy*

I determinanti dei livelli di tHcy appaiono agire in sinergia. L'associazione diretta tra fumo e livelli di tHcy appare infatti più marcata nelle persone con genotipo TT (Husemoen, 2004).

Inoltre, sono state rilevate interazioni del sesso con altri fattori coinvolti nell'aumento

della tHcy. Il fumo e l'alcol hanno effetti significativi solo nelle donne, mentre il ruolo della sedentarietà e di bassi consumi di folati e fibra appare importante negli uomini (Mennen, 2003).

In aggiunta, è stato osservato che l'importanza dei fattori genetici nel determinare i livelli plasmatici di tHcy appare maggiore in soggetti giovani rispetto a persone anziane (Kluijtmans, 2003).

#### **L'omocisteina e il rischio di patologie cardiovascolari**

Il ruolo dell'iperomocisteinemia come fattore di rischio per le malattie cardiovascolari è stato suggerito dall'osservazione di un'elevata incidenza di patologie vascolari occlusive in soggetti omozigoti per l'omocistinuria, sindrome associata ad elevati livelli di Hcy. Studi successivi hanno riportato che i pazienti coronarici presentano livelli di tHcy più elevati delle persone sane (per una revisione della letteratura vedi de Bree 2002).

Numerosi studi (per un riesame vedi Graham, 2002) hanno indicato che l'omocisteina è un importante predittore delle patologie cardiovascolari e che l'associazione tra l'aumento dei livelli plasmatici di tHcy e queste malattie è fortemente significativa, graduale ed indipendente da altri fattori.

Tuttavia studi più recenti hanno messo in discussione il ruolo della tHcy nelle patologie cardiovascolari.

Una recente metaanalisi (Homocysteine Studies Collaboration, 2002) ha preso in esame 30 studi, sia prospettivi sia retrospettivi, sulla relazione tra livelli di tHcy ed ischemia cardiaca e ictus, in individui che non avevano sofferto di malattie cardiovascolari.

Questo riesame ha osservato che le associazioni più forti tra elevati livelli di tHcy e rischio di patologie sono state riportate dagli studi retrospettivi. Nei lavori prospettivi, dopo aggiustamento per altri fattori di rischio cardiovascolare quali pressione arteriosa, colesterolo, fumo, è stato calcolato che una diminuzione dei livelli di tHcy del 25% (circa 3  $\mu\text{mol/l}$ ) era associata ad una riduzione del rischio dell'11% per l'ischemia cardiaca e del 19% per l'ictus. Questi risultati suggeriscono che l'omocisteina è un predit-



tore poco importante delle patologie vascolari (Homocysteine Studies Collaboration, 2002).

Una metanalisi di studi retrospettivi e caso-controllo sulla relazione tra mutazione 677C>T e rischio di malattie coronariche (Klerk, 2002) ha evidenziato nei soggetti omozigoti TT un rischio maggiore del 16% rispetto agli individui con genotipo CC. Questa relazione è risultata più significativa negli studi condotti in Europa rispetto a quelli condotti negli USA, probabilmente a causa dell'interazione tra la mutazione 677C>T ed i livelli di folati. Questo studio indica che alterazioni nel metabolismo dei folati, mediate dall'incremento dei livelli di tHcy, possono aumentare il rischio di malattie cardiovascolari (Klerk, 2002).

Complessivamente, queste metanalisi suggeriscono che la determinazione dei livelli di omocisteina può essere utile in particolari gruppi, come quelli in cui i fattori di rischio stabiliti per le malattie cardiovascolari non bastano a spiegare un aumento del rischio stesso (Wilson, 2002), piuttosto che sulla popolazione generale.

In effetti, recenti studi prospettivi su adulti sani non hanno evidenziato un ruolo significativo della tHcy come fattore di rischio per la mortalità dovuta a malattie cardiovascolari, rilevando invece l'importanza dei folati come fattore protettivo contro l'insorgenza di queste patologie (de Bree, 2003b; Voutilainen, 2004).

In contrasto, numerosi studi hanno indicato che l'omocisteina è un importante predittore delle patologie cardiovascolari e che l'associazione tra l'aumento dei livelli plasmatici di tHcy e queste malattie è fortemente significativa, graduale ed indipendente da altri fattori (Graham, 2002). Wald (2002) in una metanalisi di studi sulla prevalenza del genotipo TT e di studi prospettivi sulla relazione tra tHcy e rischio di ischemie cardiache, trombosi venosa e ictus hanno riportato che l'aumento dei livelli di tHcy ha un ruolo causale nell'insorgenza di queste patologie. Inoltre, questo riesame ha indicato che riducendo i livelli di tHcy di 3  $\mu\text{mol/l}$  si diminuisce il rischio di ischemie del 16%, di trombosi del 25% e di ictus del 24% (Wald, 2002).

In aggiunta, un riesame di studi prospettivi e caso controllo (Ford, 2002) ha osservato un'associazione significativa tra incremento dei livelli

di tHcy e rischio di patologie coronariche e cerebrovascolari, calcolando che un aumento di 5  $\mu\text{mol/l}$  dei livelli di tHcy comporta un incremento del 20% del rischio di queste malattie.

Entrambi questi riesami hanno comunque evidenziato una relazione tra livelli di tHcy e rischio di patologie cardiovascolari più forte negli studi caso-controllo che in quelli prospettivi. In effetti, è stato calcolato che l'ampiezza del rischio negli studi caso-controllo sia dell'80%, mentre negli studi prospettivi sia pari al 20% (Splaver, 2004).

Tuttavia, un recente studio prospettivo su soggetti che non presentavano una storia clinica di malattie cardiovascolari ha evidenziato un'associazione diretta tra elevati livelli di omocisteina e rischio di mortalità dovuta a malattie cardiovascolari (Virtanen, 2005).

Un'analisi della letteratura (de Bree, 2002) suggerisce che le differenze tra gli studi prospettivi e quelli caso-controllo siano dovute al fatto che negli studi prospettivi i dati sono raccolti a partire dall'evento cardiovascolare, consentendo di controllare diverse variabili come la dieta, il fumo o l'effetto delle terapie, che possono influenzare i fattori di rischio cardiovascolari, la scelta dei soggetti, la durata del follow-up. Inoltre, negli studi prospettivi viene evitato l'effetto confondente della presenza contemporanea di alti livelli di tHcy e del manifestarsi della patologia. In effetti, studi prospettivi effettuati su soggetti ad alto rischio hanno fornito forti associazioni dirette tra livelli di tHcy e malattie cardiovascolari (de Bree, 2002).

Un recente studio prospettivo ha comunque osservato che il rischio di mortalità dovuta a malattie cardiovascolari è maggiore in soggetti che, pur non avendone sofferto in precedenza, mostravano comunque fattori di rischio per le queste patologie (Virtanen, 2005).

In aggiunta, l'importanza dei folati nel determinare i livelli di tHcy ha suggerito che il vero fattore di rischio sia la carenza di questa vitamina, e non l'aumento delle concentrazioni di omocisteina, che andrebbero considerate solo una conseguenza (Moat, 2004).

Il ruolo dell'omocisteina come fattore di rischio per le patologie cardiovascolari rimane quindi non compiutamente definito (de Bree, 2002).



### *L'omocisteina e le patologie cardiovascolari: possibili meccanismi*

Non è ancora stato definito come l'omocisteina provochi l'insorgenza di malattie cardiovascolari. Studi rivisti da Splaver (2004) indicano tra i possibili meccanismi disfunzioni endoteliali, mediate da aumento dello stress ossidativo, ma anche alterazioni dell'attività del fattore necrotico tumorale  $\alpha$ , induzione di apoptosi, inibizione dello sviluppo dell'endotelio, riduzione della vasodilatazione endotelio-dipendente, proliferazione delle cellule muscolari lisce. In aggiunta, la tHcy ha azione trombogenica, poiché può indurre la formazione del coagulo ed inibire la trombolisi (Splaver, 2004).

### **L'omocisteina e le malattie neurodegenerative**

• Numerosi studi hanno suggerito che elevati livelli di omocisteina dovuti a carenza di folati, vitamina B6 e/o vitamina B12 possono causare perdita della funzione cognitiva, demenza, malattia di Alzheimer e malattia di Parkinson (Gonzalez-Gross, 2001).

E' stato osservato infatti che elevati livelli di tHcy sono associati a perdita della funzione cognitiva negli anziani (Duthie, 2002; Kado, 2005; Quadri, 2004). Questo effetto appare comunque associato a basse concentrazioni di folati e vitamina B6 (Kado, 2005). Inoltre, è stato riportato che in persone malate di Alzheimer le concentrazioni di tHcy appaiono più elevate, mentre quelle di folati e vitamina B12 sono inferiori rispetto a quelle di anziani che non presentano sintomi della malattia (Joosten et al, 1997). In accordo con questi risultati, è stata riportata una forte associazione inversa tra livelli plasmatici di folati e tHcy in pazienti di Alzheimer, ed una relazione positiva tra livelli di tHcy e malattia di Alzheimer (Quadri, 2004).

E' stato inoltre evidenziato che in pazienti anziani il rischio di insorgenza della malattia di Alzheimer raddoppia per concentrazioni di tHcy superiori a  $14 \mu\text{mol/l}$  (Seshadri, 2002).

Altri studi tuttavia non hanno confermato questi risultati. E' stato riportato infatti che i livelli di tHcy non differiscono significativa-

mente tra pazienti anziani con Alzheimer e anziani sani (Mizrahi, 2003). In aggiunta, Luchsinger (2004) non ha osservato relazioni significative tra elevati livelli di tHcy e rischio di insorgenza della malattia di Alzheimer in soggetti anziani, sebbene l'età rappresenti un importante fattore confondente.

### *Meccanismi della relazione tra livelli di omocisteina e malattie neurodegenerative*

I meccanismi attraverso cui l'omocisteina interviene nell'insorgenza delle patologie neurodegenerative non sono definiti. E' stato ipotizzato comunque un legame con lo sviluppo di malattie vascolari. I livelli di tHcy sono più elevati nell'Alzheimer, e rappresentano un indicatore precoce della perdita della funzione cognitiva negli anziani (per un riesame della letteratura vedi Mattson, 2003).

L'omocisteina può danneggiare l'endotelio vascolare e ridurre l'efficienza della barriera emato-encefalica. Inoltre, la tHcy ha azione tossica sulle cellule nervose. Questi effetti possono essere dovuti a interazioni della tHcy con la membrana plasmatica o all'accumulo di SAH, che induce a sua volta la produzione di radicali liberi ed aumento dello stress ossidativo (LeBoeuf, 2003).

In aggiunta, un recente studio (Kado, 2005) ha riportato che la perdita della funzione cognitiva associata all'aumento dei livelli plasmatici di omocisteina sia mediata dai bassi livelli di folati. In base a questa osservazione, è stato suggerito che la carenza di folati possa ridurre l'efficienza del processo di rimetilazione dell'omocisteina, provocando così l'aumento dei livelli plasmatici di questo aminoacido (Kado, 2005).

Inoltre, è stato osservato che i danni indotti dall'omocisteina nei neuroni dopaminergici, in pazienti con carenza di folati, favoriscono il progredire del morbo di Parkinson (Mattson, 2003).

### **I folati e le altre vitamine del gruppo B come strategia di controllo dei livelli di omocisteina**

Le vitamine del gruppo B ed in particolare i folati sono i principali determinanti dei livelli di omocisteina, e numerosi studi hanno esaminato questa relazione. Tuttavia, una dose minima efficace di vitamine non è stata definita (Moat, 2004).



Una recente metanalisi di 25 studi randomizzati (Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration, 2005) ha analizzato l'effetto sui livelli di tHcy di dosi giornaliere di acido folico da 0,2 a 5 mg, di vitamina B12 e di vitamina B6. E' stato osservato che dosi  $\geq 0,8$  mg inducono la maggiore riduzione dei livelli di tHcy (dal 23 al 25%). Inoltre, l'aggiunta di 0,4 mg di vitamina B12 riduce di un ulteriore 7% le concentrazioni di tHcy, mentre la vitamina B6 non appare avere effetti significativi. La riduzione dei livelli di tHcy è stata più marcata nei soggetti in cui tali livelli erano più elevati.

Allo scopo di individuare la dose minima di folati sufficiente per ridurre i livelli di tHcy, Wald (2001) ha analizzato l'effetto di dosi crescenti, da 0,2 a 1 mg/d, di acido folico sui livelli di tHcy in pazienti ischemici. E' stato riscontrato che 0,8 mg/d di folati inducono la massima riduzione dei livelli di tHcy, nella misura del 23%, ed inoltre che gli effetti dei folati erano più evidenti nei soggetti con livelli di tHcy più elevati (Wald, 2001).

E' stato riportato che in persone anziane 400  $\mu\text{g/d}$  di acido folico, 3 mg/d di vitamina B12 e 1,65 mg/d di vitamina B6 inducono riduzioni significative dei livelli di tHcy (Bronstrup, 1999).

Questi risultati sono stati confermati da un altro studio su persone anziane, in cui sono state somministrate dosi di 400  $\mu\text{g/d}$  di acido folico, 9 mg/d di vitamina B12 e 3,4 mg/d di vitamina B6, con effetti più evidenti nei soggetti con livelli di tHcy maggiori (Wolters, 2004). Inoltre, è stato riportato che in soggetti adulti 437  $\mu\text{g/d}$  di acido folico riducono i livelli di tHcy del 21% (Riddell, 2000). Questi studi suggeriscono quindi che bassi dosaggi di vitamine del gruppo B sono un'efficace strategia per il controllo dei livelli di omocisteina.

In aggiunta, l'osservazione che in donne sane 250  $\mu\text{g/d}$  di acido folico riducono i livelli di tHcy in misura maggiore, sia pure non significativamente, di 500  $\mu\text{g}$  ogni due giorni suggerisce che, indipendentemente dalla dose, sia importante un apporto quotidiano di vitamine (Brouwer, 2000).

L'assunzione di acido folico di sintesi può celare la carenza di vitamina B12 (Pentiva et al,

2004). Questo rischio può essere evitato con l'utilizzo di supplementi multivitaminici (per un riesame della letteratura vedi Schwammenthal, 2004) oppure l'isomero naturale 5-MTHF (Pentiva, 2004). E' stato di recente evidenziato infatti che il 5-MTHF in dosi di 208 o 416  $\mu\text{g/d}$  riduce i livelli di tHcy in misura analoga a 400  $\mu\text{g/d}$  di acido folico di sintesi e senza differenze significative tra diversi dosaggi (Lamers, 2004).

Gli effetti dei supplementi sui livelli di tHcy possono variare in rapporto alla mutazione 677C>T. Infatti, è stato osservato che in donne con genotipo TT l'acido folico di sintesi e il 5-MTHF riducono in misura analoga la tHcy, mentre in quelle con genotipo CC o CT l'acido folico di sintesi appare più efficace (Fohr, 2002).

L'apporto di folati con la dieta può essere incrementato anche con il consumo di alimenti fortificati con acido folico. Questa misura, che prevede l'aggiunta nei cereali di 140 mg di acido folico per 100 g di prodotto, è stata introdotta negli Stati Uniti nel 1998 per prevenire difetti del tubo neurale nel feto. Tuttavia, è stato ipotizzato che possa avere effetti anche sulle malattie cardiovascolari (Quinlivan, 2003). In effetti, è stato riportato che il consumo di alimenti fortificati riduce i livelli di tHcy (Jacques, 1999; Riddell, 2000; Schorah, 1998).

Piuttosto limitati e contrastanti sono i dati disponibili riguardo agli effetti della dieta sui livelli di omocisteina. E' stato infatti riportato che diete sperimentali ricche di frutta e verdura riducono i livelli di tHcy di circa il 13% (Silaste, 2003). Inoltre, un recente studio (Ganji, 2004) ha rilevato un'associazione inversa tra il consumo di alimenti ricchi di folati e vitamina B2, come latte e yogurt, cereali, peperoncino e verdure del gruppo delle crocifere, ed i livelli di tHcy. In aggiunta, è stato suggerito che in pazienti ischemici la dieta mediterranea può avere effetti positivi (Vrentzos, 2004). Tuttavia, un confronto tra diversi tipi di diete ha osservato che una dieta ricca di frutta e verdura e con ridotto apporto di grassi diminuisce i livelli di tHcy di meno del 4%, comunque sufficiente a ridurre il rischio di malattie cardiovascolari (Appel, 2000).

Altri studi hanno confrontato gli effetti sui livelli di tHcy di dieta, di supplementi e/o di ali-



menti fortificati. E' stato riportato che apporti di folati con la dieta di circa 560 µg/d e 700 µg/d con i supplementi riducono la tHcy di circa il 14% (Brouwer, 1999).

In contrasto, è stato osservato che un apporto di folati di circa 600 µg/d ottenuto con la dieta, con supplementi o alimenti fortificati ha effetti diversi sulla tHcy: la dieta induce una diminuzione di circa il 9%, a fronte di riduzioni superiori al 20% ottenute con le altre strategie (Riddell, 2000).

E' stato di recente evidenziato anche che l'effetto dell'alimentazione sull'omocisteina è influenzato dalla mutazione 677C>T, poiché in persone sane una dieta di tipo mediterraneo appare negativamente associata ai livelli di tHcy in persone con genotipo TT e CT, ma non con genotipo CC (Dedoussis, 2004).

Si è concluso nel 2005 un Progetto del IV FP dell'UE articolato su problematiche biochimiche, biologiche, funzionali, tecnologiche dei folati nella dieta, "Folate: from food to functionality and optimal health" (per una visione generale del Progetto vedi sito <http://etip.cordis.lu>). Tra gli studi condotti sulla correlazione tra folati e omocisteina di particolare rilievo è stato uno studio a lungo termine su soggetti adulti sani con lieve iperomocisteinemia (>10mcmoli/l) che ha preso in esame diverse strategie di arricchimento in folati della dieta (200 mcg di folati al giorno, in aggiunta ai 220 mcg della dieta abituale, provenienti o da alimenti ricchi in folati o da capsule di acido folico o di 5 MTHF), tenendo in considerazione il polimorfismo 677C>T per MTHFR. Con le tre strategie (ed in maniera più marcata per l'arricchimento con alimenti ricchi in folati) sono stati riscontrati risultati significativi sia nell'abbassamento di tHcy plasmatica che nell'aumento di folati eritrocitari; fattore determinante erano i livelli basali di tHcy e più articolato quello del genotipo MTHFR TT (Mastroiacovo P., Carnovale E., Andria G., Zappacosta et alii, in corso di pubblicazione).

Complessivamente, l'evidenza disponibile indica che i folati ed altre vitamine del gruppo B consentono di controllare il livelli di tHcy. Tuttavia, ulteriori studi sono necessari per definire la dose minima efficace a tale scopo e il signi-

ficato della riduzione dei livelli di tHcy nella prevenzione del rischio di malattie cardiovascolari e nelle malattie neurodegenerative.

#### *Studi d'intervento sulla relazione tra omocisteina e patologie cardiovascolari e neurodegenerative*

Numerosi studi hanno preso in esame gli effetti della somministrazione di acido folico e altre vitamine del gruppo B sui livelli di omocisteina in termini di riduzione del rischio di patologie vascolari.

Studi rivisti da Brown (2001) hanno riportato infatti che, in pazienti con elevati livelli di tHcy, dosi di acido folico da 5 a 10 mg/d ripristinano la vasodilatazione endotelio-dipendente e riducono i livelli ematici dei fattori di coagulazione, possibili meccanismi (Splaver, 2004) attraverso cui la tHcy induce le patologie vascolari e la trombosi.

E' stato osservato che la somministrazione per 6 mesi di 1 mg/d di acido folico, 400 µg/d di vitamina B12 e 10 mg/d di vitamina B6 in pazienti sottoposti ad angioplastica ha ridotto i livelli di tHcy del 35%, ha diminuito il tasso di restenosi e migliorato la funzionalità dei vasi sanguigni (Schnyder, 2001).

Un trial secondario, il Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS 2) ha osservato che l'assunzione giornaliera di 5 mg di acido folico in pazienti ischemici riduce significativamente i livelli di tHcy e l'incidenza di infarto miocardico non fatale (Baker, 2002). Tuttavia, non è stata osservata una riduzione della mortalità, probabilmente a causa della breve durata dello studio (Moat, 2004).

Lo studio Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) effettuato in USA e Canada, è finora l'unico trial su un ampio campione di soggetti i cui risultati siano disponibili (Toole, 2004). In questo studio, sono stati confrontati gli effetti della somministrazione di dosi elevate (2,5 mg di acido folico, 0,12 mg di vitamina B12 e 5 mg di vitamina B6) e basse (20 µg di acido folico, 6 µg di vitamina B12 e 200 µg di vitamina B6) di vitamine del gruppo B sull'incidenza dell'ictus. Non sono state osservate differenze significative (Toole, 2004). Questo può essere dovuto al fatto che lo studio è iniziato



dopo l'entrata in vigore della fortificazione dei cereali con acido folico, e al pretrattamento con acido folico a cui sono stati sottoposti i partecipanti (Refsum, 2004).

Altri studi, iniziati tra la fine degli anni 90 e il 2000, sono tuttora in corso (vedi Tabella 3).

Tuttavia questi lavori non potranno chiarire gli effetti della riduzione dei livelli di tHcy attraverso l'assunzione di folati e altre vitamine del gruppo B sul rischio di malattie vascolari, perché non appare possibile delineare gli effetti di ogni singolo nutriente sul rischio di malattie cardiovascolari (Graham, 2002).

Numerosi studi rivisti da de Bree (2004) indicano che gli acidi grassi  $\omega$ -3 riducono il rischio di malattie cardiovascolari e che appare esservi un effetto sinergico tra  $\omega$ -3, acido folico di sintesi e vitamina B6 nei riguardi dei processi aterosclerotici e di concentrazione del fibrinogeno. Lo studio Supplement with Folate and

vitamin B6 and B12 and Omega-3 fatty acids (SU.FOL.OM3) è un trial randomizzato iniziato nel 2003, il cui obiettivo è la valutazione a 5 anni degli effetti sinergici di  $\omega$ -3 e vitamine del gruppo B sul rischio di malattie cardio e cerebrovascolari (de Bree, 2004).

Un altro trial in fase di preparazione è il Mediterranean Diet, Cardiovascular Risks and Gene Polymorphisms (Medi-RIVAGE), il cui obiettivo è valutare le relazioni tra una dieta di tipo mediterraneo, ricca di prodotti vegetali e pesce, un trattamento dietologico a basso contenuto di grassi per ridurre il colesterolo e polimorfismi genetici e fattori di rischio cardiovascolare (Vincent, 2004).

Probabilmente questi studi, prendendo in considerazione diversi fattori implicati nel rischio di malattie vascolari, potranno contribuire a chiarire il ruolo dell'omocisteina in queste patologie.

Tab. 3 – Studi per esaminare gli effetti della riduzione dei livelli di omocisteina mediante assunzione di vitamine del gruppo B sul rischio di patologie cardiovascolari

Studio	Paese	Anno di inizio	Partecipanti	Trattamento per ridurre i livelli di omocisteina	Patologia
Vitamin and Thrombosis (VITRO)	Olanda	1996	600	AF (5 mg) + B12 (0,4 mg) + B6 (50 mg) vs placebo	Trombosi venosa profonda e embolismo polmonare
Women's Antioxidant and Cardiovascular Disease Study (WACS)	USA	1998	3000	AF (2,5 mg) + B12 (1 mg) + B6 (50 mg) vs placebo	Patologie vascolari e relativo alto rischio
Norwegian Study of Homocysteine Lowering with B-vitamins in Myocardial Infarction (NORVIT)	Norvegia	1998	3000	AF (5 mg) per 2 settimane, poi AF (0,8 mg) + B12 (0,4 mg) vs placebo in un confronto 2 x 2 con B6 (40 mg) vs placebo	Infarto del miocardio
GOES	Olanda	1998	2000	AF (0,5 mg) vs placebo	Alto rischio per malattie coronariche
Western Norway B Vitamin Trial (WENBIT)	Norvegia	1999	2000	AF (5 mg) per 2 settimane, poi AF (0,8 mg) + B12 (0,4 mg) vs placebo in un confronto 2 x 2 con B6 (40 mg) vs placebo	Malattie coronariche
Vitamin to Prevent Stroke Study (VITATOPS)	Australia	1999	5000	AF (2 mg) + B12 (0,2 mg) + B6 (25 mg)	Ictus
Heart Outcomes Prevention Evaluation -2 (HOPE-2)	Canada	1999	5000	AF (2,5 mg) + B12 (0,4 mg) + B6 (50 mg) vs placebo	Patologie delle arterie
Prevention with a Combined Inhibitor and Folate in Coronary Heart Disease (PACIFIC)	Australia	2000	10000	AF (0,2 o 2 mg) vs placebo in un confronto 2 x 2 con farmaci ACE-inibitori vs placebo	Alto rischio o storia clinica per patologie vascolari

(Da Moat, 2004)



In aggiunta, numerosi studi rivisti da Moat (2004) hanno evidenziato che l'assunzione e i livelli plasmatici di folati sono inversamente associati alle malattie cardiovascolari, e che il 5-MTHF elimina i radicali liberi attraverso meccanismi mediati dalla produzione di ossido nitrico, migliorando la dilatazione vascolare. Questi effetti appaiono indipendenti dall'azione sui livelli di tHcy (Moat, 2004).

Numerosi studi hanno riportato che i folati e altre vitamine del gruppo B sono importanti per la corretta funzionalità del sistema nervoso (per un riesame della letteratura vedi Selhub, 2000). In effetti, le malattie neurodegenerative sono state associate a carenza di queste vitamine del gruppo B, e questa associazione è probabilmente mediata dall'aumento dei livelli di tHcy (Selhub, 2000). Studi rivisti da Gonzalez-Gross (2001) hanno suggerito che un elevato apporto di micronutrienti possono prevenire la perdita di funzione cognitiva negli anziani, e che la supplementazione della dieta con acido folico ha effetti positivi sulla salute degli anziani. Inoltre, le vitamine appaiono avere un effetto protettivo nei riguardi del morbo di Alzheimer (per un riesame della letteratura vedi Nourhashemi, 2000).

Tuttavia, gli studi d'intervento che hanno indagato il ruolo dell'incremento nei livelli di tHcy nelle patologie neurodegenerative è scarso, ed al momento non ci sono dati sufficienti a sostegno dell'utilità dei folati e altre vitamine del gruppo B nel trattamento dei pazienti di Alzheimer o demenza (Gonzalez-Gross, 2001; Joosten, 2001). In aggiunta, bisogna tenere presente che il progredire della perdita della funzione cognitiva altera le abitudini alimentari, causando un peggioramento della qualità della dieta (Gonzalez-Gross, 2001).

### Conclusioni

L'evidenza disponibile indica che l'aumento dei livelli plasmatici di omocisteina è associato ad un maggiore rischio di malattie vascolari. Questa associazione è più evidente negli studi retrospettivi e caso-controllo e meno negli studi prospettivi. Il ruolo della tHcy come fattore causale di queste patologie rimane quindi controverso (Moat, 2004).

Appaiono comunque necessari una standardizzazione dei livelli plasmatici di riferimento dell'omocisteina, nonché ulteriori studi per delineare i meccanismi attraverso i quali l'omocisteina può indurre l'aterosclerosi e la trombogenesi, e le modalità con cui i folati ripristinano la funzionalità dell'endotelio vascolare indipendentemente dall'effetto sui livelli di tHcy (de Bree, 2002).

In aggiunta, deve essere indagato anche il ruolo di altre vitamine come la vitamina B12, la vitamina B6, la vitamina B2 e la betaina, nel determinare i livelli di tHcy.

Inoltre, sebbene i folati costituiscano il principale regolatore dei livelli di tHcy, le modalità mediante cui questa regolazione viene attuata non sono state ancora completamente chiarite. Sebbene la dose minima efficace di folati per la riduzione dei livelli plasmatici di tHcy non sia definita, è stato riportato che l'assunzione regolare anche di piccole dosi consente di controllare le concentrazioni di omocisteina (Brouwer, 2000).

L'assunzione di folati in Europa è attualmente pari a 291 µg/d negli uomini e a 247 µg/d nelle donne (de Bree et al, 1997), mentre negli Stati Uniti è più elevata, fino a 1 mg/d, in seguito alla fortificazione dei cereali con acido folico (Quinlivan, 2003).

L'assunzione di folati può essere incrementata mediante il consumo di alimenti ricchi di folati, di supplementi o di alimenti fortificati con acido folico. Tuttavia, l'utilità di dosi elevate di acido folico è controversa. Infatti, elevati livelli di folati possono celare i sintomi di carenza di vitamina B12, ed è stato anche evidenziato che la capacità di assorbimento dell'acido folico è satura a dosi di 400 µg, oltre la quale la vitamina entra nel circolo sanguigno, con effetti non definiti nel lungo periodo. L'utilità della fortificazione degli alimenti con acido folico appare quindi controversa (Lucock, 2004).

A questo scopo possono comunque essere utilizzati supplementi di 5-MTHF (Lamers et al, 2004), che non maschera la carenza di vitamina B12 (Pentieva, 2004) o supplementi multivitaminici (Schwammenthal, 2004).

In aggiunta, è stato anche osservato che gli

effetti dell'assunzione di vitamine (Fohr, 2002) e della dieta (Dedoussis, 2004) sui livelli di tHcy sono influenzati dalla mutazione 677C>T, che favorisce un aumento dell'omocisteinemia (Frosst, 1995).

Complessivamente, l'evidenza disponibile suggerisce che soggetti ad alto rischio di malattia cardiovascolare o con alti livelli di tHcy (de Bree, 2002) o con Alzheimer (Nourhashemi, 2000) possono comunque trarre beneficio dall'assunzione di folati, in dosi non superiori a 500 µg/d (de Bree, 2002).

Numerosi studi hanno osservato che una dieta ricca di frutta e verdura ed altri alimenti ricchi di folati ha effetti positivi sui livelli di tHcy (Ganji, 2003; 2004; Silaste, 2001; Vrentzos, 2004).

Inoltre, sono stati riportati effetti sinergici tra le vitamine del gruppo B e gli ω-3 nel controllo del rischio cardiovascolare (de Bree, 2004). In aggiunta, è stato osservato che le vitamine del gruppo B hanno effetti positivi nei riguardi delle patologie neurodegenerative (Nourhashemi, 2000). Questi risultati suggeriscono che il consumo di prodotti vegetali e di pesce (alimenti tipici della dieta mediterranea) può rappresentare una strategia efficace per ridurre il rischio o contenere le conseguenze di queste patologie.

Tuttavia, un recente studio non ha evidenziato associazioni significative tra il consumo di

una dieta di tipo mediterraneo ed i livelli di omocisteina (Panagiotakos, 2005). L'evidenza disponibile appare indicare comunque che la dieta rappresenta un importante strumento nel controllo dei livelli di tHcy.

In aggiunta, l'osservazione di interazioni tra geni e nutrienti, come nel caso della mutazione 677C>T del MTHFR suggerisce che nell'elaborazione di linee guida per l'alimentazione si considerino anche questi aspetti (per un riesame della letteratura vedi Gibney, 2004).

In aggiunta, è stato di recente riportato che anche l'attività fisica molto intensa può ridurre i livelli di tHcy in persone con genotipo TT (Pisciotta, 2003).

Le relazioni tra omocisteina, assunzioni di folati e rischio di patologie vascolari non sono definite. Nell'attesa di risultati che definiscano l'effetto della riduzione dei livelli di tHcy in termini di riduzione del rischio per queste malattie, l'omocisteina può essere considerata un indicatore dello stile di vita. Non appare necessario imporre la fortificazione degli alimenti. A livello di popolazione può essere più opportuno promuovere un'alimentazione salutare, con elevati apporti di vitamine e altri nutrienti essenziali, come gli acidi grassi ω-3, ridurre i consumi di alcol e caffè, evitare il fumo, e praticare attività fisica, abitudini che contribuiscono al mantenimento di un buono stato di salute indipendentemente dai livelli di omocisteina.



## Bibliografia

Andria G., Scala I., Sebastio G. - Health implications of homocysteine and folates: possible preventive measures. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2005, 15: 87-93.

Appel L.J., Miller E.R. III, Jee S.H. et al - Effect of dietary patterns on serum homocysteine. Results of a randomized, controlled feeding study. *Circulation* 2000, 102: 852-857.

Baker F., Picton D., Blackwood S., et al - Blinded comparison of folic acid and placebo in patients with ischaemic heart disease: an outcome trial. *Circulation* 2002, 106 (Suppl. 1): 741.

Boushey C.J., Beresford S.A., Omenn G.S., Motulsky A.G. - A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folate intake. *J. Am. Med. Assoc.* 1995, 274: 1049-1057.

Bronstrup A., Hages M., Pietrzik K. - Lowering of homocysteine in elderly men and women. *Int. J. Vitamin. Res.* 1999, 69: 187-193.

Brouwer I.A., van Dusseldorp M., West C.E., et al - Dietary folate from vegetables and citrus fruit decreases plasma homocysteine in humans in a dietary controlled trial. *J. Nutr.* 1999, 129: 1135-1139.

Brouwer I.A., van Rooij I.A., van Dusseldorp M., et al - Homocysteine-lowering effect of 500 microg folic acid every other day versus 250 microg/day. *Ann. Nutr. Metab.* 2000, 44: 194-197.

Brown A.A., Hu F.B. - Dietary modulation of endothelial function: implication for cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 69: 99-104.

Clarke R., Smith A.D., Jobst K.A., Refsum H., Sutton L., Ueland P.M. - Folate, vitamin B12, and serum homocysteine in confirmed Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 1998, 55: 1449-55.

Craig S.A.S. - Betaine in human nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 80: 539-549.

Danesh J., Lewington S. - Plasma homocysteine and coronary heart disease. Systematic review of published epidemiological studies. *J. Cardiovasc. Risk* 1998, 5: 229-232.

de Bree A., Mennen L.I., Herberg S., Galan

P. - Evidence for a protective (synergistic?) effect of B-vitamins and omega-3 fatty acids on cardiovascular disease. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2004, 58: 732-44.

de Bree A., van Dusseldorp M., Brouwer I.A., van het Hof K.H., Steegers-Theunissen R.P. - Folate intake in Europe: recommended, actual and desired intake. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1997, 51: 643-650.

de Bree A., Verschuren W.M.M., Bjoerke-Monsen A.L., van der Put N.M., Heil S.G., Trijbels F.J., Blom H.J. - Effects of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T mutation on the relations among folate intake and plasma folate and homocysteine concentrations in a general population sample. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003a, 77: 687-693.

de Bree A., Verschuren W.M.M., Blom H.J., Kromhout D. - Association between B vitamin intake and plasma homocysteine concentration in the general dutch population aged 20-65 y. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001a, 73: 1027-1033.

de Bree A., Verschuren W.M.M., Blom H.J., Kromhout D. - Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample. *Am. J. Epidemiol.* 2001b, 154: 150-154.

de Bree A., Verschuren W.M.M., Blom H.J., Kromhout D. - Alcohol consumption and plasma homocysteine: what's brewing? *Int. J. Epidemiol.* 2001c, 30: 626-627.

de Bree A., Verschuren W.M.M., Blom H.J., Nadeau M., Trijbels F.J.M., Kromhout D. - Coronary heart disease mortality, plasma homocysteine, and B-vitamins: a prospective study. *Atherosclerosis* 2003b, 166: 369-377.

de Bree A., Verschuren W.M.M., Kromhout D., Kluijtmans L.A., Blom H.J. - Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol. Rev.* 2002, 54: 599-618.

Dedoussis G.V., Panagiotakos D.B., Chrysohoou C., Pitsavos C., Zampelas A., Choumerianou D., Stefanidis C. - Effect of interaction between adherence to a Mediterranean diet and the methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T mutation on homocysteine concentrations in healthy adults: the ATTICA Study.



Am. J. Clin. Nutr. 2004, 80: 849-854.

Duthie S.J., Whalley L.J., Collins A.R., Leaper S., Berger K., Deary I.J. - Homocysteine, B vitamin status and cognitive function in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002, 75: 908-913.

Fohr I.P., Prinz-Langenohl R., Bronstrup A., Bohlmann A.M., Nau H., Berthold H.K., Pietrzik K. - 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase genotype determines the plasma homocysteine-lowering effect of supplementation with 5-methyltetrahydrofolate or folic acid in healthy young women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002, 75: 275-282.

Ford E.S., Smith S.J., Stroup D.F., Steinberg K.K., Mueller P.W., Thacker S.B. - Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a systematic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case-control studies. *Int. J. Epidemiol.* 2002, 31: 59-70.

Frantzen F., Faaren A.L., Alfheim I., Nordhei A.K. - Enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum. *Clin. Chem.* 1998, 44: 311-316.

Frosst P., Blom H.J., Milos R., et al - A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat. Genet.* 1995, 10: 111-113.

Ganji V., Kafai M.R. - Demographic, health, lifestyle, and blood vitamin determinant of serum total homocysteine concentrations in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 77: 826-833.

Ganji V., Kafai M.R. - Frequent consumption of milk, yogurt, cold breakfast cereals, peppers, and cruciferous vegetables and intakes of dietary folate and riboflavin but not vitamins B-12 and B-6 are inversely associated with serum total homocysteine concentrations in the US population. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 80: 1500-1507.

Gibney M.J., Gibney E.R. - Diet, genes and disease: implications for nutrition policy. *Proc. Nutr. Soc.* 2004, 63: 491-500.

Gonzalez-Gross M., Marcos A., Pietrzik K. - Nutrition and cognitive impairment in the elderly. *Brit. J. Nutr.* 2001, 86: 313-321.

Graham I.M., Daly L.E., Refsum H.M., et al - Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997, 277: 1775.

Graham I.M., O'Callaghan P. - Vitamins, homocysteine and cardiovascular risk. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2002, 16: 383-389.

Gudnason V., Stansbie D., Scott J., Bowron A., Nicaud V., Humphries S. - C677T (thermolabile alanine/valine) polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): its frequency and impact on plasma homocysteine concentration in different European populations. *Atherosclerosis* 1998, 136: 347-354.

Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration - Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: metaanalysis of randomised trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005, 82: 806-812.

Homocysteine Studies Collaboration - Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke. *JAMA* 2002, 288: 2015-2022.

Husemoen L.L.N., Thomsen T.F., Fenger M., Jorgensen T. - Effect of lifestyle factors on plasma total homocysteine concentrations in relation to MTHFR(C677T) genotype. *Inter99(7). Eur. J. Clin. Nutr.* 2004, 58: 1142-1150.

Hustad S., Ueland P.M., Vollset S.E., Zhang Y., Bjorke-Monsen A.L., Schneede J. - Riboflavin as a determinant of plasma total homocysteine: effect modification by the methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism. *Clin. Chem.* 2000, 46: 1065-1071.

Jacques P.F., Bostom A.G., Williams R.R., et al - Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996, 93: 7-9.

Jacques P.F., Bostom A.G., Wilson P.W., Rich S., Rosenberg I.H., Selhub J. - Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring Cohort. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 73: 613-621.

Jacques P.F., Selhub J., Bostom A.G., Wilson P.W., Rosenberg I.H. - The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N. Eng. J. Med.* 1999, 340: 1449-1454.



- Joosten E. - Homocysteine, vascular dementia and Alzheimer's disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2001, 39: 717-720.
- Joosten E., Lesaffre E., Riezler R., Ghekiere V., Dereymaeker L., Pelemans W., Dejaeger E. - Is metabolic evidence for vitamin B12 and folic acid deficiency more frequent in elderly patients with Alzheimer's disease? *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 1997, 52: M76-M79.
- Kado D.M., Karlamangla A.S., Huang M.H., Troen A., Rowe J.W., Selhub J., Seeman T.E. - Homocysteine versus the vitamins folate, B6, and B12 as predictors of cognitive function and decline in older high-functioning adults: MacArthur studies of successful aging. *Am. J. Med.* 2005, 118: 161-167.
- Klerk M., Verhoef P., Clarke R., Blom H.J., Kok F.J., Schouten E.G., MTHFR Studies Collaboration Group - MTHFR 677C>T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002, 288: 2023-2031.
- Kluijtmans L.A., Young I.S., Boreham C.A., et al - Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood* 2003, 101: 2483-2488.
- Koehler K.M., Baumgartner R.N., Garry P.J., Allen R.H., Stabler S.P., Rimm E.B. - Association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to vitamin supplementation and alcohol use. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 73: 628-637.
- Lamers Y., Prinz-Langenohl R., Moser R., Pietrzik K. - Supplementation with [6S]-5-methyltetrahydrofolate or folic acid equally reduces plasma total homocysteine concentrations in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 79: 473-478.
- LeBoeuf R. - Homocysteine and Alzheimer's disease. *J. Am. Diet. Assoc.* 2003, 103: 304-307.
- Lee B.J., Lin P.T., Liaw Y.P., Chang S.J., Cheng C.H., Huang Y.C. - Homocysteine and the risk of coronary artery disease: folate is the important determinant of plasma homocysteine concentration. *Nutrition* 2003, 19: 577-583.
- Lewerin C., Nilsson-Ehle H., Matousek M., Lindstedt G., Steen B. - Reduction of plasma homocysteine and serum methylmalonate concentrations in apparently healthy elderly subjects after treatment with folic acid, vitamin B12 and vitamin B6: a randomised trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2003, 57: 1426-1436.
- Luchsinger J.A., Tang M.X., Shea S., Miller J., Green R., Mayeux R. - Plasma homocysteine levels and risk of Alzheimer disease. *Neurology* 2004, 62: 1972-1976.
- Lucock M. - Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *BMJ* 2004, 328: 211-214.
- Lussier Cacan S., Xhignesse M., Piolot A., Selhub J., Davignon J., Genest J. Jr - Plasma total homocysteine in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 1996, 64: 587-593.
- McCully K.S. - Homocysteine and vascular disease. *Nat. Med.* 1996, 2: 386-389.
- Mennen L.I., de Courcy G.P., Guillard J.C., et al - Homocysteine, cardiovascular disease risk factors, and the habitual diet in the French Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002, 76: 1279-1289.
- Mennen L.I., de Courcy G.P., Guillard J.C., et al - Relation between homocysteine concentrations and the consumption of different types of alcoholic beverages: the French Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 78: 334-338.
- Mizrahi E.H., Jacobsen D.W., Debanne S.M., Traore F., Lerner A.J., Friedland R.P., Petot G.J. - Plasma total homocysteine levels, dietary vitamin B6 and folate in AD and healthy aging. *J. Nutr. Health Aging* 2003, 7: 160-165.
- Moat S.J., Lang D., McDowell I.F.W., Clarke Z.L., Madhavan A.K., Lewis M.J., Goodfellow J. - Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. *J. Nutr. Biochem.* 2004, 15: 64-79.
- Molloy A.M. - Folate and homocysteine interrelationships including genetics of the relevant enzymes. *Curr. Opin. Lipidol.* 2004, 15: 49-57.
- Mudd S.H., Finkelstein J.D., Refsum H., et al - Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000, 20: 1704-1706.
- Murphy M.M., Scott J.M., McPartlin J.M.,



Fernandez-Ballart J.D. - The pregnancy-related decrease in fasting plasma homocysteine is not explained by folic acid supplementation, hemodilution, or a decrease in albumin in a longitudinal study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002, 76: 614-619.

Nourhashemi F., Gillette-Guyonnet S., Andrieu S., et al - Alzheimer disease: protective factors. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 71 (Suppl.): 643S-649S.

Nurk E., Tell G.S., Vollset S.E., Nygard O., Refsum H., Nilsen R.M., Ueland P.M. - Changes in lifestyle and plasma total homocysteine: the Hordaland Homocysteine Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 79: 812-819.

Olthof M.R., Hollman P.C., Zock P.L., Katan M.B. - Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 73: 532-538.

Panagiotakos D.B., Pitsavos C., Zeimbekis A., Chrysohoou C., Stefanadis C. - The association between lifestyle-related factors and plasma homocysteine levels in healthy individuals from the "ATTICA" study. *Int. J. Cardiol.* 2005, 98: 471-477.

Pentieva K., McNulty H., Reichert R., et al - The short-term bioavailabilities of [6S]-5-methyltetrahydrofolate and folic acid are equivalent in men. *J. Nutr.* 2004, 134: 580-585.

Pisciotta L., Cantafora A., Piana A., et al - Physical activity modulates effects of some genetic polymorphisms affecting cardiovascular risk in men aged over 40 years. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2003, 13: 202-210.

Quadri P., Fragiaco C., Pezzati R., Zanda E., Forloni G., Tettamanti M., Lucca U. - Homocysteine, folate, and vitamin B12 in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 80: 114-122.

Quinlivan E.P., Gregory J.F. III - Effect of food fortification on folic acid intake in the United States. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 77: 221-225.

Rasmussen L.B., Ovesen L., Bulow I., Knudsen N., Laurberg P., Perrild H. - Folate intake, lifestyle factors and homocysteine con-

centrations in younger and older women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 72: 1156-1163.

Refsum H. - Is folic acid the answer? *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 80: 241-242.

Riddell L.J., Chisholm A., Williams S., Mann J.I. - Dietary strategies for lowering homocysteine concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 71: 1448-1454.

Riggs K.M., Spiro A. III, Tucker K., Rush D. - Relations of vitamin B12, vitamin B6, folate, and homocysteine to cognitive performance in the Normative Aging Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 1996, 63: 306-314.

Schorah C.J., Devitt H., Lucock M., Dowell A.C. - The responsiveness of plasma homocysteine to small increase in dietary folic acid: a primary care study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1998, 52: 407-411.

Schwammenthal Y., Tanne D. - Homocysteine, B-vitamin supplementation, and stroke prevention: from observational to interventional trials. *Lancet Neurol.* 2004, 3: 493-495.

Selhub J., Bagley L.C., Miller J., Rosenberg I.H. - B vitamins, homocysteine, and neurocognitive function in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 71 (suppl.): 614S-620S.

Selhub J., Jacques P.F., Rosenberg I.H., et al - Serum total homocysteine concentrations in the Third National Health Nutrition Examination Survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Ann. Intern. Med.* 1999, 131: 331-339.

Selhub J., Jacques P.F., Wilson P.W., Rush D., Rosenberg I.H. - Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993, 270: 2693-2698.

Seshadri S., Beiser A., Selhub J., et al - Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N. Eng. J. Med.* 2002, 346: 476-483.

Silaste M.L., Rantala M., Alfthan G., Aro A., Kesaniemi Y.A. - Plasma homocysteine concentration is decreased by dietary intervention. *Brit. J. Nutr.* 2003, 89: 295-301.

Splaver A., Lamas G.A., Hennekens C.H. - Homocysteine and cardiovascular disease: biological mechanisms, observational epidemio-



logy, and the need of randomized trials. *Am. Heart J.* 2004, 148: 34-40.

Toole J.F., Malinow M.R., Chambless L.E., et al - Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA* 2004, 291: 565-575.

Vincent S., Gerber M., Bernard M.C., et al - The Medi-RIVAGE study (Mediterranean Diet, Cardiovascular Risks and Gene Polymorphisms): rationale, recruitment, design, dietary intervention and baseline characteristics of participants. *Pub. Health Nutr.* 2004, 7: 531-542.

Virtanen J.K., Voutilainen S., Alfthan G., et al - Homocysteine as a risk factor for CVD mortality in men with other CVD risk factors: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) study. *J. Intern. Med.* 2005, 257: 255-262.

Vrentzos G.E., Papadakis J.A., Malliaraki N., et al - Diet, serum homocysteine levels and ischaemic heart disease in a mediterranean

population. *Brit. J. Nutr.* 2004, 91: 1013-1019.

Voutilainen S., Virtanen J.K., Rissanen T.H., et al - Serum folate and homocysteine and the incidence of acute coronary events: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 80: 317-323.

Wald D.S., Bishop L., Wald N.J., et al - Randomized trial of folic acid supplementation and serum homocysteine levels. *Arch. Intern. Med.* 2001, 161: 695-700.

Wald D.S., Law M., Morris J.K. - Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002, 325: 1202-1206.

Wilson P.W.F. - Homocysteine and coronary heart disease. How great is the hazard? *JAMA* 2002, 288: 2042-2043.

Wolters M., Hermann S., Hahn A. - Effect of multivitamin supplementation on the homocysteine and methylmalonic acid blood concentrations in women over the age of 60 years. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2004, 19: 1-10.

Il primo testo in lingua italiana che affronta in maniera approfondita la trasformazione dei prodotti di origine vegetale in conserve e semiconserve. Stiamo parlando del volume **"LA TRASFORMAZIONE INDUSTRIALE DI FRUTTA ED ORTAGGI"** di **Carlo Pompei** (Edagricole, Bologna - X + 268 pagine, 264 illustrazioni. € 28,50).

Il volume tratta le numerose problematiche relative alle conserve e semiconserve di origine vegetale - frutta ed ortaggi - affrontando in via preliminare le principali tecniche di conservazione, con un occhio di riguardo alle operazioni di sterilizzazione e di evaporazione. L'analisi prosegue illustrando un ipotetico flow-sheet, ovvero la descrizione di uno schema generale con le varie fasi per la trasformazione in conserva classica di un prodotto vegetale. Infatti per ciascuna operazione del processo produttivo sono presentati con chiarezza, con l'ausilio di disegni e fotografie, il funzionamento e le tipologie delle macchine impiegate. Successivamente, vengono descritte le tecnologie di

produzione di alcune tra le principali conserve e semiconserve, riportando cenni di carattere generale per quanto riguarda la produzione e le caratteristiche della materia prima, la legislazione, la tecnologia di trasformazione, i parametri di qualità e i macchinari di uso specifico. Per il confezionamento, settore complesso in rapida trasformazione ed evoluzione autonoma, si è scelto di limitarsi al contenitore classico per le conserve: la banda stagnata.

I destinatari di quest'opera sono gli studenti e i docenti del settore agro-alimentare, i tecnici delle piccole e medie industrie conserviere. Ma anche i gestori agroturistici che desiderano offrire ai loro ospiti prodotti di qualità provenienti dal territorio troveranno in questo libro un prezioso alleato.

#### L'Autore

**Pompei Carlo**, insegna Tecnologia delle conserve alimentari. E' stato presidente del Consiglio di Corso di Laurea di Scienze e Tecnologie Alimentari dell'Università di Milano.



### Prodotti caseari: i consumi

Assolatte ha festeggiato quest'anno i primi sessant'anni di attività con un convegno che ha illustrato le problematiche del settore. Il direttore dott. Adriano Hribal ha presentato alcuni dati ufficiali interessanti anche per i nutrizionisti e gli studiosi di Scienza dell'Alimentazione: sono numeri che aiutano a conoscere la situazione attuale del panorama lattiero-caseario.

Fra i numerosi dati esposti notiamo che gli acquisti domestici di latte effettuati dalle famiglie italiane nel corso del 2004 hanno fatto registrare, rispetto al 2003, una diminuzione quantitativa complessiva dell'1,28%. Nello specifico, il latte fresco ha influito in misura minore sul calo degli acquisti (-0,4%), mentre il latte UHT, invertendo la tendenza pregressa, ha fatto registrare una flessione dell'1,79%. I cali quantitativi sono da attribuirsi al Sud (-3,18%) ed al Centro (-2,94%); tuttavia sul latte fresco è il Centro a presentare il dato più preoccupante (diminuzione del 5,86%). Il Nord Ovest è l'unica area che continua a far registrare aumenti significativi di latte nel suo complesso(+2,06).

Il latte fresco pastorizzato di alta qualità è l'unica tipologia a presentare un incremento degli acquisti su scala nazionale (+ 4,15%).

L'apprezzamento per i prodotti di latte di capra (formaggi compresi) continua a crescere (+ 10% rispetto al 2003). Crescita analoga si è verificata in Francia. Non si conoscono stime per gli altri Paesi. Aumenta la necessità di aggiornare la regolamentazione normativa di questo specifico comparto, per renderla più rispondente alle moderne esigenze del consumatore.

Gli acquisti di yogurt e lattini fermentati mostrano un andamento positivo (+4,6% in volume e + 4,9% in valore), ma l'Italia continua ad essere uno dei fanalini di coda europei in quanto a consumi pro-capite. Il principale esportatore di yogurt verso il nostro Paese è la

Germania, che con le sue forniture copre oltre il 70% delle nostre importazioni.

Per quanto riguarda il consumo pro-capite di burro nell'UE ed in Italia non si registrano variazioni, rimanendo attestato rispettivamente sui 4,67 Kg ed i 2,78 Kg. La produzione di burro nell'Unione Europea a 15, ha registrato nel 2004 un decremento dell'1,58%.

I consumi nazionali di formaggi fusi sono concentrati nelle fettine e negli spicchi. Nel 2004 sono aumentati sia le esportazioni (+ 12%, soprattutto verso Spagna, Francia e Libia), sia le importazioni (+ 5,2%, soprattutto dal Belgio, Germania e Francia). E' necessario che si giunga in futuro ad una codifica internazionale di questa tipologia di prodotti.

Nel corso del 2004 il mercato dei formaggi a denominazione di origine protetta ha mostrato una crescita delle seguenti produzioni (tonnellate): Grana Padano(+ 2,9%), Parmigiano Reggiano (+ 3,0%), Gorgonzola (+ 2,3%), Pecorino Romano (+ 23,2%), Pecorino Toscano (+ 40%), Pecorino Sardo (+ 12%), Provolone Val Padana (+ 50,3%), Fontina (+ 11,5%), Quartirolo Lombardo(+2,7%), Casera Valtellina (+ 5,2%). Sono in calo: Mozzarella di Bufala Campana (- 2,3%), Asiago (- 2,1%), Montasio (- 5,1), Taleggio (-1,7%).

La mozzarella è uno dei prodotti più rilevanti: rappresenta circa 350 mila tonnellate di prodotto. Lo scorso anno le imprese italiane ne hanno esportato circa 50.000 tonnellate, con un aumento del 78% rispetto all'anno precedente.

La prima destinazione è la Francia (13.100 tonnellate di prodotto), seguono Germania (10.200), Regno Unito (6.600), Austria (5.000).

La mozzarella e i formaggi freschi devono essere posti in vendita preconfezionati all'origine. Da qualche tempo sono in vendita prodotti sfusi, che usano una denominazione di vendita alternativa, facendo concorrenza sleale.

Per la tutela dell'immagine, Assolatte ha commissionato all'INRAN la realizzazione del



“Libro bianco sul latte e prodotti lattiero-caseari”, tutt’ora in fase di ultimazione.

Il Libro Bianco si posizionerà come testo di riferimento rigorosamente scientifico ed esauritivo, sul ruolo dei prodotti lattiero caseari nell’alimentazione umana e sul rapporto tra il loro consumo e la salute. Rappresenterà non solo il punto di riferimento per tutti coloro che vogliono conoscere, approfondire o divulgare, in modo serio e rigoroso, le tematiche del settore, ma anche il benchmark dell’informazione in ambito lattiero caseario. Il board che sviluppa il documento (presieduto da Ferdinando Romano, presidente INRAN), include i delegati delle principali Società Scientifiche nazionali: Istituto Superiore di Sanità, Società Italiana di Igiene, Società Italiana di Medicina Preventiva, Società Italiana di Gastroenterologia, Società Italiana di Medicina Interna, Società Italiana di Pediatria.

#### Obesità e qualità di vita

Bracco ha presentato a Intra (Verbania) i risultati dello studio clinico di tipo osservazionale denominato “QUOVADIS” (acronimo di Quality of life in Obesity: eVALuation and Disease Surveillance), mirato sulla valutazione della qualità di vita del paziente obeso e sulla scarsa risposta alla terapia prescritta.

In tema di russamento, ad esempio, lo studio ha permesso di stabilire che oltre la metà dei pazienti arruolati (56%) aveva questo problema, che ha un suo importante ruolo nella comparsa dell’ipertensione.

In genere gli obesi superano i 40 anni, sono sposati e nel 75% dei casi sono donne. Per lo più sono impiegati o casalinghe, con una carriera scolastica che si è fermata alle superiori. In passato 8 su 10 hanno provato a dimagrire 3-4 volte, per poi finire in balia della cosiddetta sindrome jo-jo. Per il 60-65% di loro mangiare è una droga e meno del 15% fa sport. Quando decidono di curarsi inseguono obiettivi irrealiz-

zabili, poi nel 90 % abbandonano la terapia.

Il progetto è stato avviato nel 1999 e ha consentito di seguire nel tempo circa 2000 pazienti obesi in 25 centri universitari ed ospedalieri in Italia. Sei lavori dedicati allo studio sono già stati pubblicati su prestigiose riviste internazionali e altri quattro sono in corso di pubblicazione.

Lo studio Quovadis – ha spiegato Nazario Melchionda dell’Università di Bologna – ha posto le basi per la definizione della Sindrome Metabolica, la più costosa delle malattie conosciute nelle nazioni occidentali: riguarda il 20% della spesa sanitaria totale ed interessa una elevata percentuale di popolazione, circa il 20% di quella adulta e il 60% oltre i 60 anni.

Nell’ambito dello studio è stata anche analizzato il comportamento dei cosiddetti “drop-out”, tramite la compilazione di un questionario telefonico in oltre 750 soggetti che non si sono presentati al controllo medico. A questo proposito è interessante far presente che è nato anche uno studio “Mini Quovadis Due” (coinvolgerà circa 600 obesi): avrà l’obiettivo di analizzare una delle componenti ancora inesplorate dell’obesità, vale a dire i tratti del carattere e del comportamento.

La raccolta dati è avvenuta su una piattaforma internet messa a disposizione da CINECA (Consorzio Interuniversitario di Calcolo di Bologna), con una lunga esperienza nella gestione “WEB-based” degli studi clinici.

#### Vino e sapore di tappo

Il sapore di tappo è un difetto imperdonabile per qualsiasi tipo di vino: colpisce il 3-6% dei vini. Altre statistiche danno dei valori oscillanti fra l’1 e il 20% a seconda della qualità.

La molecola responsabile del sapore che tende a filtrare dal sughero è stata individuata nel TCA (2-4-6 Tricloro anisolo) che ha un gusto simile a quello della muffa e rovina in modo inesorabile gli aromi e l’insieme delle sensazioni che può offrire un vino d’annata.



### Prodotti caseari: i consumi

Assolatte ha festeggiato quest'anno i primi sessant'anni di attività con un convegno che ha illustrato le problematiche del settore. Il direttore dott. Adriano Hribal ha presentato alcuni dati ufficiali interessanti anche per i nutrizionisti e gli studiosi di Scienza dell'Alimentazione: sono numeri che aiutano a conoscere la situazione attuale del panorama lattiero-caseario.

Fra i numerosi dati esposti notiamo che gli acquisti domestici di latte effettuati dalle famiglie italiane nel corso del 2004 hanno fatto registrare, rispetto al 2003, una diminuzione quantitativa complessiva dell'1,28%. Nello specifico, il latte fresco ha influito in misura minore sul calo degli acquisti (-0,4%), mentre il latte UHT, invertendo la tendenza pregressa, ha fatto registrare una flessione dell'1,79%. I cali quantitativi sono da attribuirsi al Sud (-3,18%) ed al Centro (-2,94%); tuttavia sul latte fresco è il Centro a presentare il dato più preoccupante (diminuzione del 5,86%). Il Nord Ovest è l'unica area che continua a far registrare aumenti significativi di latte nel suo complesso(+2,06%).

Il latte fresco pastorizzato di alta qualità è l'unica tipologia a presentare un incremento degli acquisti su scala nazionale (+4,15%).

L'apprezzamento per i prodotti di latte di capra (formaggi compresi) continua a crescere (+10% rispetto al 2003). Crescita analoga si è verificata in Francia. Non si conoscono stime per gli altri Paesi. Aumenta la necessità di aggiornare la regolamentazione normativa di questo specifico comparto, per renderla più rispondente alle moderne esigenze del consumatore.

Gli acquisti di yogurt e lattini fermentati mostrano un andamento positivo (+4,6% in volume e +4,9% in valore), ma l'Italia continua ad essere uno dei fanalini di coda europei in quanto a consumi pro-capite. Il principale esportatore di yogurt verso il nostro Paese è la

Germania, che con le sue forniture copre oltre il 70% delle nostre importazioni.

Per quanto riguarda il consumo pro-capite di burro nell'UE ed in Italia non si registrano variazioni, rimanendo attestato rispettivamente sui 4,67 Kg ed i 2,78 Kg. La produzione di burro nell'Unione Europea a 15, ha registrato nel 2004 un decremento dell'1,58%.

I consumi nazionali di formaggi fusi sono concentrati nelle fettine e negli spicchi. Nel 2004 sono aumentati sia le esportazioni (+12%, soprattutto verso Spagna, Francia e Libia), sia le importazioni (+5,2%, soprattutto dal Belgio, Germania e Francia). E' necessario che si giunga in futuro ad una codifica internazionale di questa tipologia di prodotti.

Nel corso del 2004 il mercato dei formaggi a denominazione di origine protetta ha mostrato una crescita delle seguenti produzioni (tonnellate): Grana Padano(+2,9%), Parmigiano Reggiano (+3,0%), Gorgonzola (+2,3%), Pecorino Romano (+23,2%), Pecorino Toscano (+40%), Pecorino Sardo (+12%), Provolone Val Padana (+50,3%), Fontina (+11,5%), Quartirolo Lombardo(+2,7%), Casera Valtellina (+5,2%). Sono in calo: Mozzarella di Bufala Campana (-2,3%), Asiago (-2,1%), Montasio (-5,1%), Taleggio (-1,7%).

La mozzarella è uno dei prodotti più rilevanti: rappresenta circa 350 mila tonnellate di prodotto. Lo scorso anno le imprese italiane ne hanno esportato circa 50.000 tonnellate, con un aumento del 78% rispetto all'anno precedente.

La prima destinazione è la Francia (13.100 tonnellate di prodotto), seguono Germania (10.200), Regno Unito (6.600), Austria (5.000).

La mozzarella e i formaggi freschi devono essere posti in vendita preconfezionati all'origine. Da qualche tempo sono in vendita prodotti sfusi, che usano una denominazione di vendita alternativa, facendo concorrenza sleale.

Per la tutela dell'immagine, Assolatte ha commissionato all'INRAN la realizzazione del



“Libro bianco sul latte e prodotti lattiero-caseari”, tutt’ora in fase di ultimazione.

Il Libro Bianco si posizionerà come testo di riferimento rigorosamente scientifico ed esaustivo, sul ruolo dei prodotti lattiero caseari nell’alimentazione umana e sul rapporto tra il loro consumo e la salute. Rappresenterà non solo il punto di riferimento per tutti coloro che vogliono conoscere, approfondire o divulgare, in modo serio e rigoroso, le tematiche del settore, ma anche il benchmark dell’informazione in ambito lattiero caseario. Il board che sviluppa il documento (presieduto da Ferdinando Romano, presidente INRAN), include i delegati delle principali Società Scientifiche nazionali: Istituto Superiore di Sanità, Società Italiana di Igiene, Società Italiana di Medicina Preventiva, Società Italiana di Gastroenterologia, Società Italiana di Medicina Interna, Società Italiana di Pediatria.

#### **Obesità e qualità di vita**

Bracco ha presentato a Intra (Verbania) i risultati dello studio clinico di tipo osservazionale denominato “QUOVADIS” (acronimo di Quality of life in Obesity: eVALuation and Disease Surveillance), mirato sulla valutazione della qualità di vita del paziente obeso e sulla scarsa risposta alla terapia prescritta.

In tema di russamento, ad esempio, lo studio ha permesso di stabilire che oltre la metà dei pazienti arruolati (56%) aveva questo problema, che ha un suo importante ruolo nella comparsa dell’ipertensione.

In genere gli obesi superano i 40 anni, sono sposati e nel 75% dei casi sono donne. Per lo più sono impiegati o casalinghe, con una carriera scolastica che si è fermata alle superiori. In passato 8 su 10 hanno provato a dimagrire 3-4 volte, per poi finire in balia della cosiddetta sindrome jo-jo. Per il 60-65% di loro mangiare è una droga e meno del 15% fa sport. Quando decidono di curarsi inseguono obiettivi irrealiz-

zabili, poi nel 90 % abbandonano la terapia.

Il progetto è stato avviato nel 1999 e ha consentito di seguire nel tempo circa 2000 pazienti obesi in 25 centri universitari ed ospedalieri in Italia. Sei lavori dedicati allo studio sono già stati pubblicati su prestigiose riviste internazionali e altri quattro sono in corso di pubblicazione.

Lo studio Quovadis – ha spiegato Nazario Melchionda dell’Università di Bologna – ha posto le basi per la definizione della Sindrome Metabolica, la più costosa delle malattie conosciute nelle nazioni occidentali: riguarda il 20% della spesa sanitaria totale ed interessa una elevata percentuale di popolazione, circa il 20% di quella adulta e il 60% oltre i 60 anni.

Nell’ambito dello studio è stata anche analizzato il comportamento dei cosiddetti “drop-out”, tramite la compilazione di un questionario telefonico in oltre 750 soggetti che non si sono presentati al controllo medico. A questo proposito è interessante far presente che è nato anche uno studio “Mini Quovadis Due” (coinvolgerà circa 600 obesi): avrà l’obiettivo di analizzare una delle componenti ancora inesplorate dell’obesità, vale a dire i tratti del carattere e del comportamento.

La raccolta dati è avvenuta su una piattaforma internet messa a disposizione da CINECA (Consorzio Interuniversitario di Calcolo di Bologna), con una lunga esperienza nella gestione “WEB-based” degli studi clinici.

#### **Vino e sapore di tappo**

Il sapore di tappo è un difetto imperdonabile per qualsiasi tipo di vino: colpisce il 3-6% dei vini. Altre statistiche danno dei valori oscillanti fra l’1 e il 20% a seconda della qualità.

La molecola responsabile del sapore che tende a filtrare dal sughero è stata individuata nel TCA (2-4-6 Tricloro anisolo) che ha un gusto simile a quello della muffa e rovina in modo inesorabile gli aromi e l’insieme delle sensazioni che può offrire un vino d’annata.



### Prodotti caseari: i consumi

Assolatte ha festeggiato quest'anno i primi sessant'anni di attività con un convegno che ha illustrato le problematiche del settore. Il direttore dott. Adriano Hribal ha presentato alcuni dati ufficiali interessanti anche per i nutrizionisti e gli studiosi di Scienza dell'Alimentazione: sono numeri che aiutano a conoscere la situazione attuale del panorama lattiero-caseario.

Fra i numerosi dati esposti notiamo che gli acquisti domestici di latte effettuati dalle famiglie italiane nel corso del 2004 hanno fatto registrare, rispetto al 2003, una diminuzione quantitativa complessiva dell'1,28%. Nello specifico, il latte fresco ha influito in misura minore sul calo degli acquisti (-0,4%), mentre il latte UHT, invertendo la tendenza pregressa, ha fatto registrare una flessione dell'1,79%. I cali quantitativi sono da attribuirsi al Sud (-3,18%) ed al Centro (-2,94%); tuttavia sul latte fresco è il Centro a presentare il dato più preoccupante (diminuzione del 5,86%). Il Nord Ovest è l'unica area che continua a far registrare aumenti significativi di latte nel suo complesso(+2,06).

Il latte fresco pastorizzato di alta qualità è l'unica tipologia a presentare un incremento degli acquisti su scala nazionale (+ 4,15%).

L'apprezzamento per i prodotti di latte di capra (formaggi compresi) continua a crescere (+ 10% rispetto al 2003). Crescita analoga si è verificata in Francia. Non si conoscono stime per gli altri Paesi. Aumenta la necessità di aggiornare la regolamentazione normativa di questo specifico comparto, per renderla più rispondente alle moderne esigenze del consumatore.

Gli acquisti di yogurt e lattini fermentati mostrano un andamento positivo (+4,6% in volume e + 4,9% in valore), ma l'Italia continua ad essere uno dei fanalini di coda europei in quanto a consumi pro-capite. Il principale esportatore di yogurt verso il nostro Paese è la

Germania, che con le sue forniture copre oltre il 70% delle nostre importazioni.

Per quanto riguarda il consumo pro-capite di burro nell'UE ed in Italia non si registrano variazioni, rimanendo attestato rispettivamente sui 4,67 Kg ed i 2,78 Kg. La produzione di burro nell'Unione Europea a 15, ha registrato nel 2004 un decremento dell'1,58%.

I consumi nazionali di formaggi fusi sono concentrati nelle fettine e negli spicchi. Nel 2004 sono aumentati sia le esportazioni (+ 12%, soprattutto verso Spagna, Francia e Libia), sia le importazioni (+ 5,2%, soprattutto dal Belgio, Germania e Francia). E' necessario che si giunga in futuro ad una codifica internazionale di questa tipologia di prodotti.

Nel corso del 2004 il mercato dei formaggi a denominazione di origine protetta ha mostrato una crescita delle seguenti produzioni (tonnellate): Grana Padano(+ 2,9%), Parmigiano Reggiano (+ 3,0%), Gorgonzola (+ 2,3%), Pecorino Romano (+ 23,2%), Pecorino Toscano (+ 40%), Pecorino Sardo (+ 12%), Provolone Val Padana (+ 50,3%), Fontina (+ 11,5%), Quartirolo Lombardo(+2,7%), Casera Valtellina (+ 5,2%). Sono in calo: Mozzarella di Bufala Campana (- 2,3%), Asiago (- 2,1%), Montasio (- 5,1), Taleggio (-1,7%).

La mozzarella è uno dei prodotti più rilevanti: rappresenta circa 350 mila tonnellate di prodotto. Lo scorso anno le imprese italiane ne hanno esportato circa 50.000 tonnellate, con un aumento del 78% rispetto all'anno precedente.

La prima destinazione è la Francia (13.100 tonnellate di prodotto), seguono Germania (10.200), Regno Unito (6.600), Austria (5.000).

La mozzarella e i formaggi freschi devono essere posti in vendita preconfezionati all'origine. Da qualche tempo sono in vendita prodotti sfusi, che usano una denominazione di vendita alternativa, facendo concorrenza sleale.

Per la tutela dell'immagine, Assolatte ha commissionato all'INRAN la realizzazione del



“Libro bianco sul latte e prodotti lattiero-caseari”, tutt’ora in fase di ultimazione.

Il Libro Bianco si posizionerà come testo di riferimento rigorosamente scientifico ed esaustivo, sul ruolo dei prodotti lattiero caseari nell’alimentazione umana e sul rapporto tra il loro consumo e la salute. Rappresenterà non solo il punto di riferimento per tutti coloro che vogliono conoscere, approfondire o divulgare, in modo serio e rigoroso, le tematiche del settore, ma anche il benchmark dell’informazione in ambito lattiero caseario. Il board che sviluppa il documento (presieduto da Ferdinando Romano, presidente INRAN), include i delegati delle principali Società Scientifiche nazionali: Istituto Superiore di Sanità, Società Italiana di Igiene, Società Italiana di Medicina Preventiva, Società Italiana di Gastroenterologia, Società Italiana di Medicina Interna, Società Italiana di Pediatria.

#### **Obesità e qualità di vita**

Bracco ha presentato a Intra (Verbania) i risultati dello studio clinico di tipo osservazionale denominato “QUOVADIS” (acronimo di *QU*ality of life in *Obesity*: *eVAL*uation and *Disease Surveillance*), mirato sulla valutazione della qualità di vita del paziente obeso e sulla scarsa risposta alla terapia prescritta.

In tema di russamento, ad esempio, lo studio ha permesso di stabilire che oltre la metà dei pazienti arruolati (56%) aveva questo problema, che ha un suo importante ruolo nella comparsa dell’ipertensione.

In genere gli obesi superano i 40 anni, sono sposati e nel 75% dei casi sono donne. Per lo più sono impiegati o casalinghe, con una carriera scolastica che si è fermata alle superiori. In passato 8 su 10 hanno provato a dimagrire 3-4 volte, per poi finire in balia della cosiddetta sindrome jo-jo. Per il 60-65% di loro mangiare è una droga e meno del 15% fa sport. Quando decidono di curarsi inseguono obiettivi irrealiz-

zabili, poi nel 90 % abbandonano la terapia.

Il progetto è stato avviato nel 1999 e ha consentito di seguire nel tempo circa 2000 pazienti obesi in 25 centri universitari ed ospedalieri in Italia. Sei lavori dedicati allo studio sono già stati pubblicati su prestigiose riviste internazionali e altri quattro sono in corso di pubblicazione.

Lo studio Quovadis – ha spiegato Nazario Melchionda dell’Università di Bologna – ha posto le basi per la definizione della *Sindrome Metabolica*, la più costosa delle malattie conosciute nelle nazioni occidentali: riguarda il 20% della spesa sanitaria totale ed interessa una elevata percentuale di popolazione, circa il 20% di quella adulta e il 60% oltre i 60 anni.

Nell’ambito dello studio è stata anche analizzato il comportamento dei cosiddetti “drop-out”, tramite la compilazione di un questionario telefonico in oltre 750 soggetti che non si sono presentati al controllo medico. A questo proposito è interessante far presente che è nato anche uno studio “Mini Quovadis Due” (coinvolgerà circa 600 obesi): avrà l’obiettivo di analizzare una delle componenti ancora inesplorate dell’obesità, vale a dire i tratti del carattere e del comportamento.

La raccolta dati è avvenuta su una piattaforma internet messa a disposizione da CINECA (Consorzio Interuniversitario di Calcolo di Bologna), con una lunga esperienza nella gestione “WEB-based” degli studi clinici.

#### **Vino e sapore di tappo**

Il sapore di tappo è un difetto imperdonabile per qualsiasi tipo di vino: colpisce il 3-6% dei vini. Altre statistiche danno dei valori oscillanti fra l’1 e il 20% a seconda della qualità.

La molecola responsabile del sapore che tende a filtrare dal sughero è stata individuata nel TCA (2-4-6 Tricloro anisolo) che ha un gusto simile a quello della muffa e rovina in modo inesorabile gli aromi e l’insieme delle sensazioni che può offrire un vino d’annata.



Un'altra molecola è il TBA (Tribromo anisolo): può derivare da contaminanti industriali (vernici ignifughe, malte cementizie) presenti nelle cantine nuove o ristrutturate.

Gli studi dell'AWRI (Australian Wine Research Institute) oggi segnalano buoni risultati nell'eliminazione del TCA con il sistema a chiusura "pro-Cork" e con il processo "Diamant", che impiega una raffinata tecnologia a base di anidride carbonica a uno stato supercritico in grado di penetrare nel sughero e pulirlo da tutte le impurità. Per invecchiamenti superiori a 24 mesi, il sughero è ancora preferibile, tenendo conto che oggi con la gascromatografia, e i lavaggi a vapor d'acqua ad alta pressione si possono scartare le partite difettose con livelli di TCA in qualche modo preoccupanti.

Il sughero ha delle caratteristiche indubbiamente interessanti anche alla luce delle attuali ricerche: la presenza nel tessuto vegetale di suberina (una sostanza dalle eccezionali proprietà di elasticità e impermeabilità) permette al tappo di stringersi, di recuperare la sua forza quando termina la pressione, e consente un minimo scambio gassoso con l'esterno. Purtroppo essendo un materiale biologico, non è uniforme, alcuni difetti sono invisibili, e questo rappresenta un rischio per i vini pregiati.

Il tappo di sughero ha solo 2 secoli di vita. In passato i recipienti venivano sigillati con pezzi di legno, stracci, foglie di granoturco legati con vari materiali. Bisogna dire grazie a Dom Perignon (il monaco benedettino che ha inventato lo champagne con "l'assemblage" di vini di alta qualità nel XVII secolo nell'abbazia di Hautvillier, vicino a Epernay) se conosciamo le virtù della corteccia di sughero.

Oggi si ottengono buoni risultati di chiusura anche con i tappi a vite (screwcap), tuttavia secondo gli enologi questo tipo di chiusura non garantisce la qualità in modo assoluto. Basta pensare agli aromi di riduzione provocati dall'acido solfidrico che si formano in assenza di

ossigeno dai lieviti durante la fermentazione e che traggono beneficio da piccolissime dosi di ossigeno che possono filtrare dal sughero.

### Listeria sottovalutata

Recentemente la cronaca ha avuto occasione di parlare di listeriosi a causa di una serie di disturbi gastrointestinali con mal di testa e febbre, in soggetti che avevano consumato un formaggio molle a pasta cruda (DOP) caratteristico della Val Taleggio (in provincia di Bergamo).

La listeria è poco conosciuta dal grande pubblico, sebbene sia una vecchia conoscenza dei microbiologi. In passato aveva provocato seri guai (riportati anche dal *New England Journal of Medicine*) in Svizzera e nella provincia di Torino. Basta ricordare l'epidemia che si è verificata nel 1997 a Moncalieri e a Giaveno, dove più di 100 bambini delle scuole elementari e studenti universitari del capoluogo piemontese furono ricoverati in ospedale (fortunatamente senza conseguenze preoccupanti) dopo aver consumato un'insalata fredda a base di tonno e chicchi di mais.

La listeria viene poco citata dai periodici di divulgazione scientifica che trattano problemi di igiene e di salute. Invece data la grande distribuzione del germe nell'ambiente esterno e delle sue caratteristiche, vale la pena raccomandare un rigoroso piano di autocontrollo nei responsabili della ristorazione collettiva (HACCP), potenziare la formazione del personale, una profilassi efficace a livello dell'allevamento, del macello, dell'industria di trasformazione, in modo da evitare la creazione di portatori sani.

La listeria monocytogenes (si chiama così perché può provocare monocitosi) crea numerosi problemi ai tecnici delle industrie alimentari: riesce a moltiplicarsi anche alla normale temperatura utilizzata per la refrigerazione degli alimenti, sopporta bene il congelamento, è



in grado di svilupparsi nell'ambito di un pH ampio. Può sopravvivere anche sui piani di lavoro umidi delle cucine dove aderisce formando un biofilm che resiste alle normali pulizie. Per quanto riguarda la termoresistenza oggi si è visto che è influenzata dalla natura del substrato: è aumentata dalla presenza di lipidi. Sopporta bene la presenza di cloruro di sodio a concentrazioni elevate, è sensibile ai comuni disinfettanti e all'azione delle radiazioni ionizzanti. Non tutti i ceppi sono in grado di provocare una forma morbosa nell'uomo, dove penetra per via orale e si moltiplica nell'intestino penetrando nelle cellule del sistema reticolo istiocitario. Fortunatamente soccombe alle normali temperature di pastorizzazione (71°-74°): la comparsa nel latte pastorizzato e nei suoi derivati può essere dovuta a una contaminazione secondaria.

#### Osservatorio nutrizionale

Le abitudini degli italiani a tavola di tutte le Regioni e di tutte le classi di età costituiscono il fulcro dell'Osservatorio Nutrizionale "Grana Padano", nato nel 2004 grazie all'impegno del Consorzio tutela Grana Padano in collaborazione con la Federazione Medici Pediatri (FIMP) e la Società Italiana di Medicina Generale (SIMG).

L'obiettivo dell'indagine è ottenere una stima periodica (a cadenza semestrale) delle effettive abitudini nutrizionali degli italiani, evidenziare ove possibile le carenze di nutrienti strategici e mettere nelle mani dei medici uno strumento aggiuntivo per una migliore anamnesi nutrizionale del paziente e un miglior percorso terapeutico che passa anche dagli alimenti.

Sin'ora sono stati arruolati 8.000 italiani appartenenti a 6 fasce di età: 3 di competenza del medico di medicina generale, 3 di competenza del pediatra. Sono stati inseriti i dati anagrafici, peso, statura, e le loro risposte in un apposito software. Sono stati analizzati non solo i cibi presenti sulle tavole degli italiani, ma

anche la loro composizione in macro e micronutrienti.

Tra gli errori nutrizionali riscontrati emerge innanzitutto un deficit nell'assunzione di calcio, vitamina D, acidi grassi omega-3, rispetto ai valori raccomandati in tutte le fasce di età, ed una insufficiente quantità di fibra, la cui corretta assunzione può mettere al riparo da alcune serie patologie.

Per raggiungere il valore raccomandato di 30 grammi/giorno nell'adulto, è auspicabile (afferma Davide Festi, ordinario di gastroenterologia - Università di Bologna) che venga ottimizzata l'assunzione di cereali, legumi, verdure e frutta, piuttosto che dare preferenza ai concentrati di fibra. Un ulteriore apporto può essere assicurato dai cibi integrali.

I bambini e i ragazzi (dai 3 ai 14 anni) confermano di gradire meno gli ortaggi e la frutta rispetto agli adulti. Alle quasi 2,5 porzioni di ortaggi e 1,7 di frutta per gli adulti corrispondono per i giovanissimi, rispettivamente 1,5 e 1,4 porzioni al giorno. Queste più giovani classi di età consumano più pasta, pane, olio d'oliva e latte rispetto agli adulti. Settimanalmente si riscontra inoltre per loro una maggior numero di porzioni di patate (2,6 contro le 2,3 degli adulti) e carni (4,6 porzioni contro 4,3 per quelle rosse e 2,7 contro 2,5 per quelle bianche).

In materia di condimenti, netta la preferenza dei bambini per l'olio d'oliva e il pomodoro cotto che rappresentano nel loro insieme l'85% delle scelte in età pediatrica, mentre burro e margarina arrivano solo al 9% del totale.

Dall'analisi della frequenza di assunzione dei micronutrienti emerge, inoltre, che in media nei bambini vi è una carenza di calcio, vitamina D, omega-3. Il modesto consumo di latte, limitato a circa una porzione al giorno, contribuisce a spiegare la carenza di calcio.

Per il consumo di formaggi, le differenze rispecchiano le previsioni. E' stato evidenziato un maggior utilizzo di formaggio grana, sia



grattugiato che intero, per i bambini (asserisce Claudio Maffeis, docente di Pediatria - Università di Verona) e una maggior predilezione per i formaggi freschi e stagionati per gli adulti. Poiché la mineralizzazione ossea si realizza prevalentemente durante l'età evolutiva (10-14 anni nelle femmine, 12-16 anni nei maschi) è importante che i bambini vengano educati a mangiare alimenti ricchi di calcio.

Il pesce è presente sulle tavole degli italiani delle regioni meridionali più che settentrionali (mediamente due porzioni e mezzo la settimana contro due del Nord. Più carnivori invece al Nord, ma soprattutto al Centro. Le regioni del Centro risultano infatti, in testa per il consumo di carni rosse (quasi 5 porzioni settimanali), di carni bianche (poco meno di 3 porzioni alla settimana, dato di poco superiore a quello registrato al Nord) e anche di legumi (quasi 3 porzioni alla settimana). Alcuni componenti fondamentali della dieta mediterranea quali olio d'oliva, frutta e cereali sono adesso consumati maggiormente al Nord rispetto al Sud.

Dall'Osservatorio viene confermato l'eccesso ponderale molto frequente ad ogni età nel nostro Paese, ed in particolare per le donne: dai 40 ai 60 anni, una donna su due è in sovrappeso o obesa e oltre i 60 anni il problema riguarda 2 donne su 3. Rispetto agli uomini, le donne obese sono sempre in numero maggiore in tutte le classi di età e in tutte le Regioni. Più si scende lungo lo "Stivale", più appare aumentare il peso generale della popolazione: i normopeso scendono dal 59% del Nord Italia al 53% del Sud e i bambini passano dall'8 al 13%. Tra le cause riconosciute, una dieta troppo povera di fibra, verdura, frutta, legumi e sbilanciata verso cibi grassi fin dai primi anni di vita.

La distribuzione del peso in funzione dell'età conferma come il problema dell'eccesso ponderale stia coinvolgendo progressivamente anche le classi più giovani, un dato in linea con i risultati di altri studi epidemiologici.

L'Osservatorio grazie alla sua rete di pediatri di famiglia e di medici di Medicina Generale proseguirà il monitoraggio delle nostre abitudini alimentari.

### Fitosteroli e colesterolemia

I fitosteroli (betasitosterolo, campesterolo, stigmasterolo) sono composti presenti negli olii vegetali, nella frutta secca, nei cereali, nella frutta e nella verdura e sono naturalmente presenti in forma libera o sottoforma di esteri di acidi grassi. La loro struttura è simile a quella del colesterolo e la loro funzione cellulare nelle piante (mantenimento della struttura e della funzione della membrana cellulare) è analoga a quella del colesterolo negli animali. Grazie a questa similitudine strutturale, i fitosteroli svolgono un'azione ipocolesterolemizzante, risultante dall'effetto competitivo che esercitano con il colesterolo a livello dei recettori intestinali: quindi diminuiscono l'assorbimento intestinale del colesterolo LDL.

L'assunzione regolare di circa 2 g/die di fitosteroli per almeno 3 settimane (all'interno di un regime equilibrato ricco di frutta e verdura) permette una riduzione del colesterolo LDL fino al 10%: non ha effetto su quelle HDL e sui trigliceridi (Unilever Health Institute). Un consumo di dosi superiori ai 2g/die non ha evidenziato un'ulteriore significativa diminuzione del colesterolo. La riduzione del colesterolo è evidente anche in presenza di un'eventuale assunzione di statine e si somma al beneficio derivante da questo tipo di terapia.

L'efficacia aumenta se vengono associati a una matrice alimentare grassa. Più specificatamente, la riduzione del colesterolo LDL che si ottiene è del 15,9% nel caso del latte, 8,6 nello yogurt, 5,4 nei cereali, 6,5 nel pane.

Dal momento che una normale dieta, seppur ricca di vegetali, comporta l'assunzione di una quantità di fitosteroli che varia dai 150 mg ai 500 mg, l'unico modo per assumerne quotidiana-



namente il quantitativo necessario per una riduzione del 10% della colesterolemia è avvalersi del consumo di alimenti funzionali addizionati di fitosteroli, che intensificano notevolmente il benefico effetto della dieta mediterranea sull'abbassamento del livello colesterolemico.

La prevenzione cardiovascolare potrà avvalersi anche in Italia di una bevanda probiotica a base di latte parzialmente scremato (2,9% di grassi) e addizionata di 2 g di fitosteroli e batteri vivi appartenenti alla famiglia del *Bifidobacterium lactis* Bb 12 plus, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus Bulgaricus*: un functional food che ha superato la procedura di sicurezza del Novel Foods Scientific Committee della Comunità Europea.

#### Nuovo approccio antiobesità

Lo studio IDEA (International Day for the evaluation of abdominal obesity) sta verificando, grazie alla collaborazione della SIMG (Società Italiana medici di Medicina Generale), la correlazione fra giro di vita, volume di grasso viscerale, rischio cardiovascolare.

Secondo Uberto Pagotto (Endocrinologia Ospedale Sant'Orsola-Malpighi di Bologna) gli adipociti che si accumulano a livello peritoneale e mesenterico sono diversi da quelli del sottocutaneo perchè sono in grado di condizionare in negativo metabolismo glicidico e lipidico, reattività infiammatoria e omeostasi endoteliale vasale.

Gli adipociti del tessuto viscerale provocano un aumentato rilascio nel torrente ematico di acidi grassi liberi (FFA - Free fatty acids) i quali competono con il glucosio per l'utilizzo muscolare: la glicemia aumenta e stimola la sintesi di insulina. Il fegato però non riesce ad eliminare l'ormone in eccesso, di conseguenza compare insulino-resistenza, porta d'accesso del diabete di tipo 2.

I Ffa sono anche quelli che stimolano il fegato a sintetizzare trigliceridi e Vldl, cioè a

facilitare la via all'accumulo di LDL e ridurre HDL.

Ai fini della prevenzione cardiovascolare è quindi fondamentale la correzione dell'obesità (BMI) e del giro vita (tolleranza massima 88 cm per la donna e 102 per l'uomo). Basta una diminuzione del 10% del peso corporeo per determinare una benefica riduzione del 30% del grasso viscerale.

Secondo Michele Carruba (Farmacologia-Università di Milano) l'eventuale ricorso ai farmaci va inteso come strumento per aumentare la compliance alla dieta e al nuovo stile di vita. In tal senso va segnalato il nuovo approccio basato sul blocco dei recettori degli endocannabinoidi, un modulatore di importanti funzioni fisiologiche, tra cui il controllo dell'appetito e del metabolismo.

Questi recettori sono presenti nel cervello e negli organi periferici, per raccogliere lo stimolo lanciato in presenza di situazioni di allarme e di stress.

Negli obesi c'è un aumento di tali molecole a livello di fegato, muscoli e tessuto adiposo, con continuo stimolo a nutrirsi. Si è visto che la somministrazione di antagonisti selettivi dei recettori degli endocannabinoidi (Cb1) provocano una riduzione del senso di fame, riduzione del peso corporeo e circonferenza -vita, miglioramento dei parametri di rischio. La nuova molecola, definita rimonabant, è ancora in fase di sperimentazione in Italia, però uno studio pubblicato su *The Lancet* definito RIO (Rimonabant in Obesity Europe- 920 soggetti coinvolti) ne conferma l'efficacia con effetti collaterali lievi e comunque transitori.

#### Storia dell'alimentazione: il pollo

In Europa la carne di pollo è arrivata in tavola nel secondo millennio a.C. seguendo le migrazioni che portarono le popolazioni asiatiche verso Ovest. Si ipotizza che le razze principali siano discese dal gallo rosso della giungla



che vive ancora allo stato selvatico nell'Asia sud-orientale. Sembra che galli e pollastre siano arrivati ad Atene al seguito dell'armata d'Oriente di Alessandro Magno.

Aristofane chiama i polli "uccelli di Persia". Inizialmente i galli erano apprezzati come animali da combattimento, per divertire e intrattenere il pubblico e come simbolo di fertilità. A tale scopo venivano anche sacrificati e offerti alle divinità.

Socrate ormai moribondo, raccomanda al discepolo Critone di sacrificare un gallo a Esculapio, il dio della medicina, fungendo l'animale del canto mattutino da nunzio dell'ingresso dell'anima nell'altro mondo.

Il prestigio del pollo sulle tavole romane è dimostrato dagli scritti di Marco Porcio Catone, Marrone e Columella che ci tramandano nozioni sulle tecniche di allevamento. Altre testimonianze sono fornite da poeti e scrittori come Marziale, Giovenale e Petronio. Quest'ultimo nel "Satyricon" descrive le portate del famoso banchetto di Trimalcione dove spicca anche la carne di pollo.

Gli antichi romani furono grandi consumatori di uova e galline: Marco Gavio Apicio, un patrizio appassionato di gastronomia, miscelava alla carne di pollo pane di avena, miele, aceto, formaggi, pinoli, capretto e olio. I raffinati buongustai dell'antica Roma davano inoltre grande risalto ai volatili spettacolari ed esotici come le faraone e i pavoni.

Grazie al Vangelo sappiamo che i galli non mancavano a Gerusalemme (basta ricordare la triplice negazione di Pietro, prima del canto del gallo).

Nel Medioevo, l'allevamento dei polli era una delle poche attività alle quali la contadina poteva dedicarsi liberamente, senza renderne conto al feudatario: doveva però regalare un numero stabilito di polli e uova al padrone per ogni superficie lavorata.

Enrico IV di Francia, conversando con il duca di Savoia, disse (citato da Voltaire): "io

vorrei che nel mio regno, ogni lavoratore potesse mettere in pentola una gallina, la domenica". Un altro pollo "storico" è quello cucinato dal cuoco di Napoleone (saltato in padella con olio e vino bianco) dopo la famosa battaglia di Marengo (Alessandria) dato che fu molto apprezzato dall'imperatore. Secondo l'Artusi il cuoco improvvisò con dei polli rubati.

### Igiene e viaggi

La diarrea del viaggiatore è un disturbo che colpisce spesso chi trascorre le vacanze o si reca per lavoro in Paesi caldi nei quali le condizioni igieniche non sono ottimali. Fino a ieri, per evitarla, oltre a seguire precise norme igieniche per cibi e bevande, si doveva ricorrere a un vaccino iniettabile. Oggi è stato messo a punto un vaccino orale composto da batteri interi di *Vibrio cholerae* uccisi con calore e formaldeide, associati a subunità B ricombinanti di tossina colerica (la subunità che permette il legame tra la tossina e l'epitelio intestinale). Ciò consente un'immunizzazione attiva contro le infezioni da vibrione, ma anche una profilassi delle forme diarroiche causate da *Escherichia coli* enterotossico, in virtù della somiglianza strutturale delle tossine immunogeniche prodotte dai 2 batteri. Il meccanismo d'azione si basa sulla stimolazione della produzione di anticorpi Ig A, diretti sia contro la colonizzazione intestinale dei batteri che contro le tossine da essi prodotte.

Si assume disciolto in un bicchier d'acqua, una dose alla settimana per 2 volte prima di partire. Sono segnalati pochi casi lievi di transitori effetti collaterali (dolori addominali).

L'assunzione del vaccino deve sempre essere accompagnata dalle normali precauzioni igieniche da tenere quando ci si trova in un Paese a rischio.

Il rapido ampliamento delle fasce di popolazione che si mettono in viaggio comporta il fatto che persone con particolari esigenze, come stati fisiologici (gravidanza, età neonatale) o



patologie croniche (diabete, malattie cardiovascolari, polmonari) debbano venire adeguatamente istruite perché il viaggio non si trasformi in un rischio rispetto alle condizioni fisiche. Al riguardo la SIMVIN (Società Italiana Medicina dei Viaggi e delle Migrazioni) ha creato una rete di Centri di Medicina dei Viaggi a disposizione della popolazione ( [www.simvim.it](http://www.simvim.it) ). La SIMVIN è un'associazione che non ha scopi di lucro e persegue scopi esclusivamente culturali e scientifici finalizzati alla protezione della salute dei viaggiatori e del Paese ospite.

Per quanto riguarda la diarrea del viaggiatore, i genitori devono comunque essere preparati ad affrontare situazioni di emergenza disponendo di soluzioni reidratanti orali contenenti sali e glucosio in proporzioni stabilite.

Una soluzione artigianale può eventualmente essere preparata con 1 cucchiaino da caffè di sale da cucina, 4 cucchiaini di zucchero, 1 cucchiaino di bicarbonato, 1 cucchiaino di cloruro di potassio, 1 litro di acqua potabile.

#### Neofobia infantile in aumento

Il mensile "Le scelte del consumatore" edito dall'UNC (Unione Nazionale Consumatori) riporta un articolo di Elsa Addessi sul problema della neofobia infantile, ossia la scarsa propensione ad assaggiare cibi nuovi.

Nei bambini il grado di neofobia varia con l'età: è basso quando sono ancora dipendenti dal latte materno, si innalza durante lo svezzamento e decresce a svezzamento completato. Ovviamente è importante dopo lo svezzamento ed è motivo di preoccupazione per i genitori. Per superare il problema in genere è sufficiente riproporre il cibo inizialmente rifiutato con grande pazienza.

Julie Mennella (Monell Chemical Senses Center di Philadelphia) ha dimostrato che già a pochi mesi di età i bambini preferiscono i sapori dei cibi mangiati dalla madre e gustati attraverso il liquido amniotico. I bambini allattati al

seno sono meno neofobici rispetto ai bambini allattati con il biberon.

Il contesto sociale ha un ruolo importante nel determinare le scelte alimentari.

In età prescolare i bambini accettano maggiormente un cibo nuovo quando la loro maestra lo mangia in loro presenza. Lo accettano volentieri anche se è inserito nella dieta della mamma o di un altro adulto familiare. Leann Birch (Pennsylvania State University) ha dimostrato che l'osservazione dei coetanei può indurre un bambino ad assaggiare un nuovo cibo o a modificare preferenze alimentari già acquisite: osservare il comportamento di un coetaneo è più forte dell'osservare un adulto. Di conseguenza, dietro all'apparente "capriccio" di un bambino vi è una moltitudine di fenomeni psicologici e fisiologici che interagiscono in modo complesso. Nello stesso tempo è proprio durante l'infanzia che si deve praticare una corretta alimentazione.

E' risaputo che subito dopo la nascita le sostanze dolci sono gradite e quelle amare evitate. Queste preferenze sono frutto di un processo evolutivo che, nel corso di millenni ha plasmato il senso del gusto così da massimizzare l'apporto di energia (deriva dai cibi di sapore dolce) e da minimizzare l'ingestione di sostanze tossiche che abbondano invece nei cibi amari. Tuttavia non tutti i sapori vengono percepiti da ciascuno con la stessa intensità.

Linda Bartoshuk (Facoltà di Medicina-Università di Yale) ha dimostrato che il 25% della popolazione umana è di "non degustatori" (hanno una ridotta sensibilità gustativa per i sapori amari e in generale ridotte capacità gustative). Un altro 25% invece presenta un'ipersensibilità gustativa per l'amaro e in genere sono "super degustatori".

#### Integratori alimentari

In Italia il mercato degli integratori alimentari è in continua espansione: si stima che sareb-



bero circa 3 milioni gli italiani che acquistano questi prodotti, di cui la metà sarebbe frequentatrice di palestre e mezzo milione ne farebbe un uso regolare. Tutto ciò alimenta un mercato di oltre 1500 milioni di euro (dati del 2002), con una spesa media annua di 500 euro a persona. Nel 2004 i prodotti in vendita sono stati 1100 in più rispetto all'anno precedente.

Gli integratori alimentari sono spesso considerati erroneamente prodotti "sicuri" senza nessun consulto da parte del medico e del farmacista.

Purtroppo un numero sempre maggiore di studi segnala il contrario e mette in luce i rischi di un uso indiscriminato soprattutto nei pazienti che già assumono farmaci.

Il mensile "Aggiornamento Medico" riporta un articolo di Silvio Garattini (Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri) sulle interazioni tra farmaci e integratori alimentari. Allegato all'articolo (Maggio 2005) ci sono 2 tabelle molto dettagliate che precisano le principali interazioni di rilevanza clinica tra i più comuni integratori alimentari e farmaci e fra minerali e oligoelementi e farmaci.

Piuttosto che ricorrere a questi prodotti in molti casi è consigliabile modificare o aggiustare cattive abitudini alimentari. Non può, né deve essere avallata la tesi che siano privi di rischi, soprattutto nei pazienti in politerapia, con polipatologie o con patologie croniche, con insufficienze d'organo, nei soggetti anziani, nei bambini e nelle donne in gravidanza.

Se da un lato il dosaggio impiegato nelle preparazioni di integratori alimentari di vitamine, minerali, oligoelementi dovrebbe essere minore di quello presente nelle preparazioni registrate come farmaci, dall'altro questo rischio non va mai sottovalutato soprattutto quando il soggetto a rischio prosegue l'assunzione per periodi protratti. Non bisogna mai dimenticare che dosi elevate di vitamina A possono essere epatotossiche, dosi eccessive di vitamina D possono provocare danni renali e

deposito di calcio nei tessuti molli, dosi eccessive di vitamina B6 possono indurre danni neurologici, confusione e difficoltà motorie, dosi elevate di selenio possono causare fragilità ungueale, perdita di capelli, disturbi gastroenterologici, dosi elevate di vitamina E e di vitamina K possono aumentare il rischio di sanguinamenti.

### Alimentazione e sport

Le problematiche nutrizionali connesse all'esercizio fisico sono balzate in primo piano nel corso degli ultimi anni, grazie alla diffusione sempre maggiore delle attività sportive. Parallelamente la Scienza dell'Alimentazione ha acquisito rigore e dignità scientifici crescenti. L'adozione di corrette abitudini alimentari, peraltro, non riguarda solamente coloro che si dedicano allo sport a livello professionale, ma coinvolge sempre di più anche coloro che fanno attività fisica per divertimento e per migliorare la propria salute.

In questo caleidoscopio variegato e articolato di situazioni giunge come un faro a far luce, ma anche chiarezza e dottrina, il volume "L'alimentazione per l'esercizio fisico e lo sport" scritto da Michelangelo Giampietro, docente alla Scuola di Specializzazione in Medicina dello Sport dell'Università Cattolica Sacro Cuore di Roma, edito da "Il Pensiero Scientifico" (660 pagine-euro 65).

Il volume si rivolge contemporaneamente a due target diversi e tra loro complementari. Per un verso, a coloro che praticano l'attività sportiva ma che non possiedono conoscenze altrettanto approfondite di Scienza dell'Alimentazione; sul versante opposto, il libro si rivolge agli esperti di alimentazione, ai quali però mancano competenze adeguate sul mondo dello sport. Sino ad oggi mancava nell'editoria italiana un testo di riferimento così documentato e così ricco di informazioni teorico-pratiche sui rapporti fra nutrizione e sport.





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

Fo.S.A.N. - Piazza Esquilino, 29 - 00185 Roma  
Tel. 06.4881972 - Telefax 06.4744714

Per sottoscrivere un abbonamento inviare l'ordine e l'importo corrispondente alla Fo.S.A.N.  
Fondazione Studio Alimenti e Nutrizione - Piazza Esquilino, 29 - 00185 Roma, a mezzo:

- assegno bancario o circolare
- versamento su c/c postale n. 92508001
- bonifico bancario c/c 000001306235 c/o Banca di Roma Ag. 25 Roma  
cod. ABI 03002 CAB 05051 CIN Z

**COSTI DI ABBONAMENTO PER L'ANNO 2005**

Ordinario Italia	Euro 100,00
Ordinario Estero	Euro 150,00
Collettivo	Euro 200,00
Librerie	Sconto 15%
Sostenitori	Euro 320,00
Un numero	Euro 25,00
Numeri arretrati	Euro 30,00

**Legenda**

- Ordinario* - Liberi professionisti ed altri abbonamenti individuali
- Collettivo* - Biblioteche, Istituti Universitari, ASL, ecc.
- Sostenitori* - Aziende e Associazioni

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

Fo.S.A.N. - Piazza Esquilino, 29 - 00185 Roma  
Tel. 06.4881972 - Telefax 06.4744714

Per sottoscrivere un abbonamento inviare l'ordine e l'importo corrispondente alla Fo.S.A.N.  
Fondazione Studio Alimenti e Nutrizione - Piazza Esquilino, 29 - 00185 Roma, a mezzo:

- assegno bancario o circolare
- versamento su c/c postale n. 92508001
- bonifico bancario c/c 000001306235 c/o Banca di Roma Ag. 25 Roma  
cod. ABI 03002 CAB 05051 CIN Z

**COSTI DI ABBONAMENTO PER L'ANNO 2005**

Ordinario Italia	Euro 100,00
Ordinario Estero	Euro 150,00
Collettivo	Euro 200,00
Librerie	Sconto 15%
Sostenitori	Euro 320,00
Un numero	Euro 25,00
Numeri arretrati	Euro 30,00

**Legenda**

- Ordinario* - Liberi professionisti ed altri abbonamenti individuali  
*Collettivo* - Biblioteche, Istituti Universitari, ASL, ecc.  
*Sostenitori* - Aziende e Associazioni



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

SOMMARIO

<b>Fonti alimentari di nutrienti in un campione della popolazione italiana: proteine, lipidi, glucidi ed aminoacidi</b>	
Gnagnarella P., Parpinel M., Bidoli E.	119
<b>I nitrati negli alimenti: un problema di rilevante interesse sanitario</b>	
Comi R., Molinaro MG., Cecilia A.	133
<b>Metodi a DNA per la valutazione della quantità della pasta</b>	
Pessina G., Natoni a., Mattei A., Merendino N., Tomassi G.	145
<b>L'omocisteina nelle malattie cardiovascolari e neurodegenerative</b>	
Carnovale E., Massignan C.	161
<b>Nutrizione e salute</b>	
Pellati R.	177