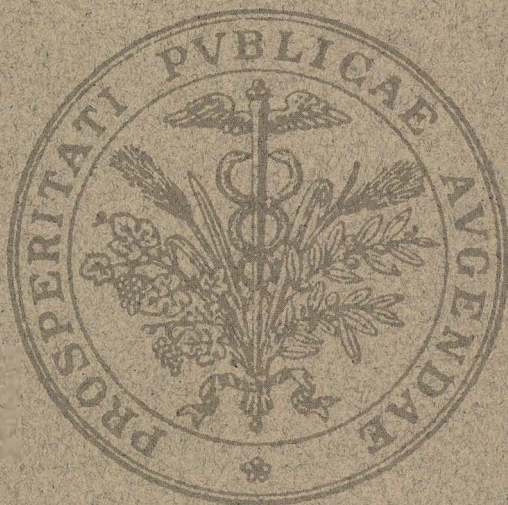


I GEORGOFILI

Quaderni
2000-II



VALORIZZAZIONE DELLE PROPRIETÀ SALUTISTICHE DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE VEGETALE. RUOLO DELLA BIODIVERSITÀ E DELLA BIOTECNOLOGIA

Firenze, 2001

STUDIO EDITORIALE FIORENTINO

I GEORGOFILI

Quaderni
2000-II



Giornata di Studio

VALORIZZAZIONE DELLE PROPRIETÀ SALUTISTICHE
DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE VEGETALE.
RUOLO DELLA BIODIVERSITÀ
E DELLA BIOTECNOLOGIA

Firenze, 14 dicembre 2000

STUDIO EDITORIALE FIORENTINO

*Lo studio e questa pubblicazione
sono stati realizzati nell'ambito della convenzione
Consiglio Nazionale delle Ricerche - Accademia dei Georgofili*

Copyright © 2001
Accademia dei Georgofili
Firenze
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili»
Anno 2000 - Settima Serie - Vol. XLVII (176° dall'inizio)

Responsabile redazionale: dott. Paolo Nanni

Servizi redazionali, grafica e impaginazione
STUDIO EDITORIALE FIORENTINO
Via S. Reparata 22r - Firenze
Tel. 055 481460
Fax: 055 4626769
e-mail: stedifi@tin.it

INDICE

Introduzione

L. Donato; F. Scaramuzzi; C. Galoppini 7

GIAN FRANCO SOLDATINI

Biodiversità fitochimica e proprietà salutistiche degli alimenti II

MARCO PAOLO NUTI, MANUELA GIOVANNETTI,
ANNITA TOFFANIN

Biotecnologie vegetali e microbiche 55

ESTER MORELLI, DANIELA GUZZO, SABRINA PAOLETTI

Valore salutistico degli alimenti di origine vegetale 61



Die Urpflanze

La pianta originaria diventerà la cosa più sorprendente del mondo, per la quale la natura stessa mi invidierà. Con questo modello e con la sua chiave si potranno inventare piante all'infinito, che saranno conseguenti, vale a dire che, anche senza esistere ancora nella realtà, potrebbero tuttavia esistere; che non saranno ombre o parvenze pittoriche o poetiche, ma avranno una verità ed una necessità interiori. La stessa legge si potrà applicare a tutti gli esseri viventi.

(J.W. Goethe, *Italianische Reise*, 1786)

La natura crea forme eternamente nuove; ciò che esiste non è mai stato; ciò che fu non torna; tutto è nuovo, eppur sempre antico.

(J.W. Goethe, *Natur*, 1794)

INTRODUZIONE

LUIGI DONATO*

Ho accettato con grande piacere l'invito di Marco Nuti ad essere presente all'inizio del vostro Convegno e dare il benvenuto dell'Area di Ricerca del CNR di Pisa, area di S. Cataldo come la chiamiamo correntemente. Noi siamo qui da poco. Questo è però un antico amore, perché abbiamo cominciato a parlare di questa area nel 1986, dopo tutta una serie di travagli. La Facoltà di Agraria di Pisa ci ha dato una mano sostanziale. Siamo passati da un'ipotesi militaresca (dovevamo andare in una caserma), ma fortunatamente la Sovrintendenza non volle. Poi abbiamo corso il rischio di andare in una bellissima area, quella della Facoltà di Ingegneria, dove ora hanno scoperto le navi romane. Se fossimo andati lì, sarebbe stato un disastro incommensurabile. Finalmente, grazie ad alcuni amici della Scuola Agraria di Pisa ci è stato assegnato il vecchio podere di S. Cataldo. Questo podere è fortemente legato all'Accademia dei Georgofili e alla storia agraria pisana, perché, come tutti sapete, fu Cosimo Ridolfi, un grande toscano e un grande italiano, che convinse il Granduca che questo terreno andava bene per quello che chiamò Istituto Agrario. Come ho ricordato la settimana scorsa, in presenza del Presidente della Repubblica, è per noi uno stimolo ulteriore utilizzare bene questa sede, perché questo luogo ha una storia molto nobile, una tradizione molto alta, una vocazione a imprese di cultura e di scienza. Non ho molto da aggiungere, se non darvi un cordialissimo benvenuto e l'augurio al vostro Convegno, che sarà certamente molto produttivo. Da un punto di vista personale, considero una bella occasione di aver visto il carissimo amico Franco

* *Presidente dell'Area di Ricerca CNR*

Scaramuzzi, che così degnamente presiede l'Accademia che fu presieduta da Cosimo Ridolfi. Per me è un carissimo amico, non da qualche giorno, così come tanti altri cari amici che oggi ho avuto occasione di vedere. Rinnovo l'augurio che vi troviate bene e che consideriate questa area come casa vostra, nel senso che qualunque sia l'occasione o l'interesse che possiate avere, nell'ambito delle rispettive funzioni, di tenere incontri, rapporti ecc., qui siete e sarete sempre i benvenuti. Questa area di ricerca è nata intenzionalmente aperta; abbiamo rapporti molto stretti con l'Università di Pisa, con la Scuola Normale, con la Scuola Superiore S. Anna. Desideriamo che l'Area di Ricerca del CNR di Pisa sia aperta a tutta la comunità scientifica, nazionale e internazionale. Vorrei considerare questa Giornata di studio un primo passo di buon auspicio al quale, mi auguro, ne seguano altri. Grazie.

FRANCO SCARAMUZZI*

Solo due parole per un saluto e un ringraziamento da parte dei Georgofili e mio personale, anche per i motivi che sono stati ricordati dal professor Donato, non soltanto ora ma anche nella cerimonia ufficiale di inaugurazione di questa area di ricerca. Per quei motivi credo che sia perfettamente giustificato l'orgoglio di essere qui come Georgofili. Dopo la presenza del Presidente della Repubblica era giusto che fra i primi a utilizzare questa struttura ci fossero i Georgofili. Il podere di S. Cataldo, su cui è stata costruita questa area, è stata la prima struttura di cui ha potuto usufruire l'Università di Firenze, quando Cosimo Ridolfi, presidente dell'Accademia dei Georgofili, iniziatore della Scuola Agraria a Meleto, prese a Firenze l'insegnamento di Agronomia e Pastorizia e poi aprì a Pisa il primo Istituto Superiore di Agricoltura. Dal Granduca di Toscana ricevette il podere di S. Cataldo, che non fu una gran bella scelta e non fu un'iniziativa fortunata. Nell'importante periodo della mia vita che ho trascorso a Pisa come docente di questa Università, disponevamo di questo podere sperimentale, nel quale era stato impiantato anche un "vignetino" con molta

* *Presidente dell'Accademia dei Georgofili*

presunzione, perché il terreno era di natura tale da non consentire l'impianto di vigneti e svolgere, faticosamente, qualsiasi attività agraria. Quindi ben è venuta questa Area di Ricerca che altrimenti sarebbe rimasto un podere agrario certamente non rappresentativo, anche se utile, dato che anche i terreni anomali devono essere oggetto di studio. Cosimo Ridolfi mi ha consentito di fare questo piccolo *excursus* per spiegare i motivi per i quali i Georgofili esprimono oggi un vivo compiacimento al professor Luigi Donato, in prima persona, e a tutti coloro che hanno realizzato a Pisa questa importante struttura. Compiacimento che spero possa essere recepito dal CNR, che a Pisa ha dato quello che noi tutti ci auguriamo possa continuare a dare anche in altre sedi. Non è la prima volta che l'Accademia dei Georgofili svolge una propria adunanza pubblica (così si chiamano da 250 anni circa le proprie riunioni) a Pisa. L'ultima credo che sia stata nel 1994. È importante che queste riunioni vengano realizzate in sedi decentrate. Per parlare del riso bisogna andare a Vercelli, per parlare degli agrumi bisogna andare in Sicilia, per parlare di una problematica scientifica multidisciplinare, quale è quella oggetto della riunione odierna, è stato giusto accogliere l'ospitalità offertaci dall'area di ricerca di Pisa. Questo modo di operare ci consente di allargare la sfera delle competenze e di stabilire confronti molto opportuni. A ciò si presta particolarmente il tema di oggi, perché è un tema che confonde purtroppo ideologie e scienza, tanto da non offrire più all'opinione pubblica un'idea di ciò che è o di ciò che potrebbe essere. È un contributo che noi diamo, rivendicando alla scienza il proprio ruolo, che nessuno può negarle, che nessuno può fermare neppure con le leggi più severe, perché il progresso scientifico è inarrestabile. Nessun oscurantismo, e non uso a caso questo termine anche a proposito del tema odierno, potrà bloccare lo sviluppo delle conoscenze. Speriamo che nelle sedi deliberanti ai massimi livelli qualcuno presti attenzione alle parole che scaturiranno anche dalla giornata di oggi. Grazie ancora a Luigi per essere stato qui con noi stamattina e grazie per l'ospitalità che non mancheremo di riutilizzare. Io lascerei l'inizio dei lavori nelle mani del professor Galoppini, che ringrazio vivamente per aver organizzato questa pubblica adunanza, così come a nome dei Georgofili e mio personale, fin da ora ringrazio tutti coloro che hanno collaborato, in primo luogo i relatori. Questi sentimenti di gratitudine volevo manifestarli subito, perché poi mi siedo tra coloro che ascoltano. Grazie.

CARLO GALOPPINI*

Per avviare subito i lavori di questa Giornata di studio inizierò riprendendo lo schema del programma. Già avete avuto l'invito con i temi delle tre relazioni che affrontano lo stesso problema da tre punti di vista diversi.

La prima relazione sarà tenuta dal professor Gian Franco Soldatini, direttore del Dipartimento di Chimica e Biotecnologie dell'Università di Pisa. La sua relazione richiamerà l'attenzione sul problema della biodiversità fitochimica, mettendo l'accento non tanto sui componenti maggiori dei vegetali utilizzati nell'alimentazione soprattutto ai fini energetici, ma su quei componenti minori che sono tanto preziosi per preservare, conservare e migliorare la nostra salute.

La seconda relazione sarà svolta dal professor Marco Paolo Nuti, anch'egli docente dell'Università di Pisa e direttore dell'Istituto di Mutagenesi e Differenziamento del CNR. Come microbiologo, il professor Nuti ha una grande esperienza nel settore delle biotecnologie vegetali e microbiche, e presenterà senza dubbio nel modo migliore le possibilità offerte da queste tecnologie.

La terza relazione, che chiuderà la Giornata di studio, sarà tenuta dalla professoressa Ester Morelli del Dipartimento di Medicina Interna dell'Università di Pisa. La professoressa Morelli svolgerà il tema del valore salutistico degli alimenti di origine vegetale presenti nella dieta, tema strettamente collegato alle due precedenti relazioni. Al termine è prevista una discussione per porre eventuali quesiti ai relatori. Le tre relazioni saranno pubblicate negli «Atti dell'Accademia dei Georgofili» e saranno a disposizione di coloro che ne faranno richiesta.

Darei ora la parola al professor Soldatini, ringraziando prima, anche da parte mia, il Presidente dell'Area di Ricerca del CNR che ci ha offerto l'ospitalità e il Presidente e il Vice-Presidente dell'Accademia che ci hanno onorato della loro presenza.

* *Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Pisa*

GIAN FRANCO SOLDATINI*

BIODIVERSITÀ FITOCHIMICA E PROPRIETÀ SALUTISTICHE DEGLI ALIMENTI

PREMESSA

L'evoluzione dei gusti e delle attese del consumatore denota una attenzione sempre maggiore verso aspetti della qualità connessi con le proprietà nutrizionali e salutistiche dei prodotti alimentari. L'alimento non è più valutato soltanto per la sua capacità di apportare energia contenuta nelle principali classi di composti: glucidi, lipidi e proteine.

Si dà sempre maggiore importanza all'apporto di nutrienti minori, come sali e vitamine. Si attribuisce anche molta importanza alla presenza di sostanze (fitochimici) che non sono a rigore classificate fra i nutrienti ma possono avere un effetto benefico sulla salute.

Stanno infatti aumentando le informazioni sul ruolo di queste sostanze vegetali nella prevenzione di malattie specifiche, specialmente di quelle cardiovascolari e degenerative. Sulla scia di queste nuove acquisizioni le industrie alimentari si stanno orientando verso l'introduzione di cibi e ingredienti innovativi, considerando questa nuova frontiera come una interessante strategia di marketing. Per le problematiche complessive connesse alla qualità degli alimenti si sta pertanto delineando un quadro sostanzialmente diverso dal passato e in continua evoluzione.

* *Dipartimento di Chimica e Biotecnologie Agrarie, Università degli Studi di Pisa*

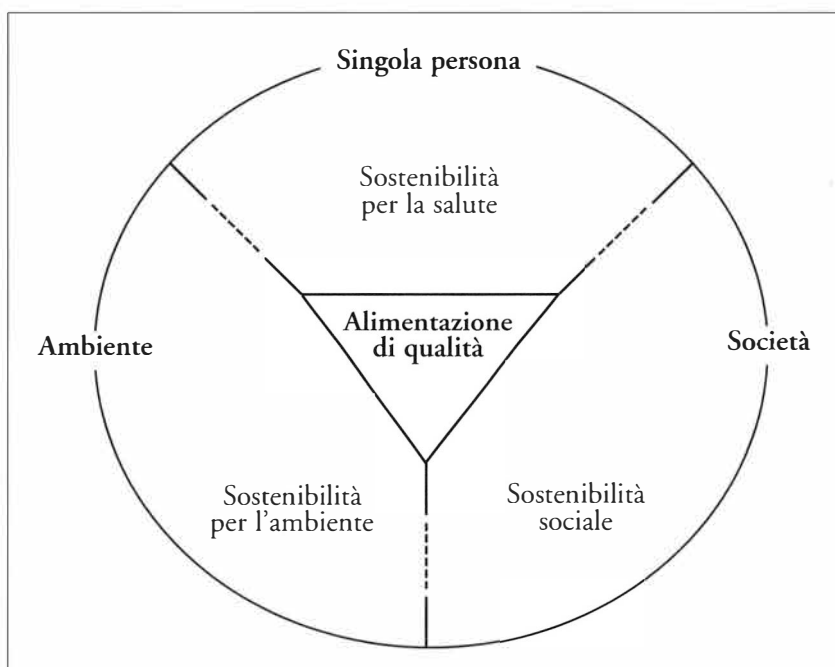


Fig. 1 *Il sistema alimentare e i suoi riflessi sulla salute, sull'ambiente e sulla società*

ALIMENTI E SALUTE

Questo binomio ha sempre attirato l'attenzione degli addetti, medici, nutrizionisti, dietologi e del consumatore, ma i concetti che ruotano intorno ad esso hanno subito di recente una notevole evoluzione. Tradizionalmente si prestava attenzione alle malattie causate o favorite da carenze nutrizionali e a quelle causate da alimentazione eccessiva o errata. Oggi si tende a considerare con attenzione sempre maggiore la relazione fra alimenti specifici e mantenimento dello stato di salute, cioè alla prevenzione di specifiche malattie.

Se da una parte si stanno intensificando gli studi sugli effetti sulla salute di specifiche sostanze contenute negli alimenti, dall'altra si è evoluto anche il concetto di alimentazione. Oggi si parla di alimentazione di qualità (*Vollwerternaerung*) e di alimentazione ecologica (fig. 1).

L'alimentazione viene vista nella molteplicità dei suoi aspetti e

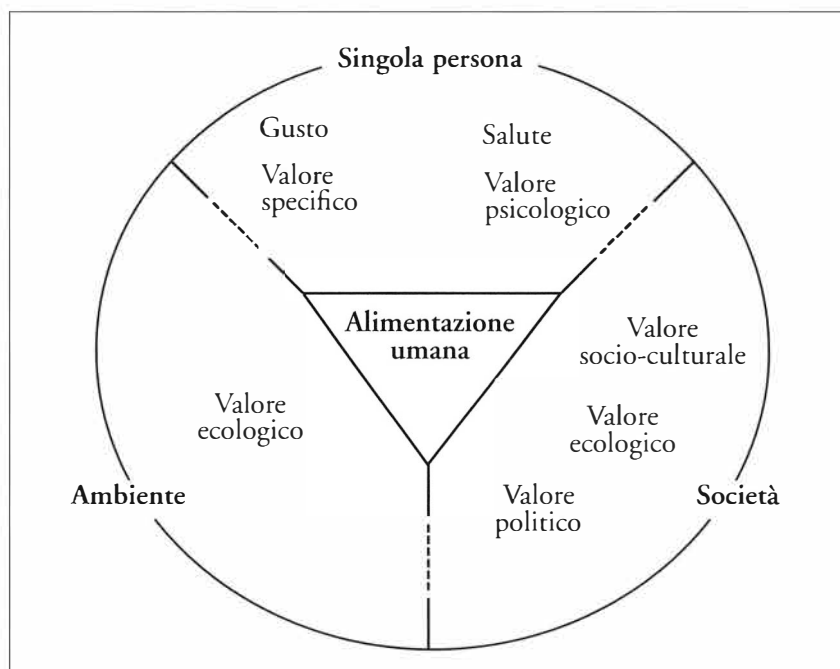


Fig. 2 *Le categorie che concorrono alla determinazione degli effetti dell'alimentazione sulle singole persone, sull'ambiente e sulla società*

delle sue funzioni. Per ciascun individuo essa riveste la funzione primaria di mantenimento della salute. Essa assolve inoltre a una importante funzione sociale e ha riflessi diretti e indiretti sull'ambiente. Ciascuno di questi tre aspetti comprende diverse categorie (fig. 2).

Particolare rilievo nel contesto di questa relazione assumono gli aspetti legati al mantenimento della salute (tab. 1).

ALIMENTI E MEDICINE

L'industria alimentare è uno dei sistemi più strettamente regolati in Europa, attraverso prescrizioni dettagliate per ogni fase della produzione, dalle sostanze di partenza, ai processi di trasformazione, fino all'etichettatura.

CONTENUTI POSITIVI	CONTENUTI NEGATIVI	ULTERIORI CRITERI
Nutrienti essenziali (contenuto e concentrazione)	Sostanze estranee o dannose	Maturità e freschezza
Fibre	Patogeni	Sazietà
Prodotti secondari		Digeribilità
Energia		Biodisponibilità

Tab. 1 *Criteri per la valutazione delle proprietà salutistiche degli alimenti*

D'altro canto anche i prodotti medicinali sono soggetti a una severa regolamentazione, armonizzata a livello europeo.

Dovendo parlare di proprietà salutistiche degli alimenti ci si muove in un'area di confine nella quale la distinzione fra cibo e medicamento non è netta, con importanti implicazioni concernenti il tipo di regolamentazione alla quale far riferimento. La direttiva 79/112 sulla etichettatura dei prodotti considera illegale per qualunque cibo riportare sull'etichetta indicazioni riguardanti la proprietà di trattare, prevenire o curare malattie. A titolo di esempio: una conserva di pomodoro nella cui etichetta si facesse riferimento al ruolo salutistico del licopene verrebbe considerata una medicina e soggetta quindi alla legislazione relativa ai prodotti medicinali.

D'altra parte esiste una sostanziale differenza fra un prodotto alimentare che ha un effetto diretto nella prevenzione di una malattia da un cibo che faccia parte di diete appropriate, in grado di ridurre i rischi di incorrere in malattie. Il primo sarebbe una "medicina", il secondo un "alimento"; ma la distinzione fra i due è tutt'altro che chiara. Le nuove acquisizioni sul ruolo salutistico degli alimenti ripropongono in termini ancora più cogenti un problema già presente da tempo: la carenza di certezza legale su che cosa costituisce un "alimento" e quando un alimento si debba considerare una "medicina".

Il termine *nutraceuticals* coniato negli USA per indicare i fitochimici che non sono da considerarsi né veri nutrienti né veri e propri farmaci, ma che svolgono un'azione positiva sulla salute, costituisce la massima espressione di questa confusione.

ALIMENTI FUNZIONALI

Per alimenti funzionali si intendono quegli alimenti che sono stati progettati specificatamente per apportare benefici fisiologici tali da regolare le funzioni dell'organismo e prevenire o ritardare alcune malattie: disturbi cardio-vascolari, ipertensione, cancro, diabete e osteoporosi.

Si possono distinguere quattro classi:

- alimenti esistenti con funzioni maggiori di altri sulla salute. In questo caso è fondamentale la scelta della cultivar, cioè la valorizzazione della biodiversità;
- alimenti trasformati in modo da valorizzarne alcune proprietà favorevoli. Ad esempio: ridotto contenuto in grassi o arricchimento in antiossidanti;
- alimenti con ingredienti aggiunti per introdurre o esaltare proprietà salutistiche. Ad esempio amido modificato;
- alimenti nuovi, ottenuti attraverso metodi biotecnologici intesi a valorizzare le capacità metaboliche per la produzione di fitochimici utili o le proprietà fermentative di microorganismi.

BIODIVERSITÀ

Il termine biodiversità è diventato negli anni '90 quasi una parola d'ordine in ambito scientifico e la salvaguardia della biodiversità un Leitmotiv della politica europea della ricerca. Il quinto programma quadro della UE è infatti permeato di biodiversità. Come per tutti i concetti abusati, anche per la biodiversità è difficile trovare una definizione onnicomprensiva e univoca. Si tratta infatti di una accezione così composita che, senza precisazioni e aggettivazioni, rischia di rimanere troppo generica e quasi vuota di contenuto scientifico. Nel contesto di questa trattazione intendo far riferimento a un aspetto particolare della biodiversità, la diversità fitochimica, un concetto che solo recentemente è saltato all'attenzione degli studiosi.

IL DILEMMA DELLE PIANTE: CRESCERE O DIFENDERSI

Le piante nel corso della loro evoluzione hanno sviluppato soluzioni strategiche che consentono loro di bilanciare la crescita (dovuta pre-

valentemente al metabolismo primario che interessa gli zuccheri, le proteine e i lipidi) con le necessità legate alla sopravvivenza (difesa dai parassiti, dagli erbivori e da agenti tossici) che sono connesse al cosiddetto metabolismo secondario (Herms e Mattson, 1992).

La stimolazione del metabolismo secondario avviene a spese dell'accrescimento in quanto dirotta una parte degli assimilati verso sostanze destinate alla difesa, cioè alla sopravvivenza.

Il termine "secondario" per questo tipo di metabolismo non deve trarre in inganno. In realtà il suo ruolo è primario. Esso è destinato non solo alla difesa, ma anche ad altre funzioni importanti come l'attrazione degli impollinatori (antociani e flavonoidi), la difesa dai raggi UV (composti fenolici, antociani e flavonoidi), il supporto strutturale (lignina e tannini), la riserva temporanea di nutrienti (alcaloidi e glucosidi cianogenetici), la regolazione mediante fitormoni (flavonoidi e altre sostanze fenoliche semplici), la resistenza allo stress idrico, la facilitazione dell'assorbimento di nutrienti, la protezione delle radici da ambienti acidi e riducenti (tannini), la mediazione nei rapporti simbiotici con batteri azotofissatori (flavonoidi).

Tra gli scopi fondamentali del metabolismo secondario nelle piante rientra la protezione da stress ossidativi. Ciò significa che piante nelle quali il metabolismo secondario è particolarmente sviluppato saranno tendenzialmente più ricche in sostanze antiossidanti. Le condizioni nelle quali crescono (o si coltivano) le piante hanno riflessi importanti sulla qualità dei prodotti. Semplificando un po' il problema si potrà affermare che le condizioni che favoriscono l'accrescimento (disponibilità ottimale di acqua, nutrienti, trattamenti antiparassitari ecc.) porteranno a una grande quantità di prodotto che presenterà però caratteristiche qualitative scadenti, soprattutto per quanto concerne la presenza di sostanze prodotte attraverso il metabolismo secondario. Al contrario piante che sperimentano ambienti sub-ottimali tendono a potenziare il metabolismo secondario e producono alimenti con maggiore valore nutrizionale e salutistico.

BIODIVERSITÀ FITOCHIMICA

Il metabolismo primario si presenta nei vegetali molto omogeneo, mentre il metabolismo secondario presenta una notevole variabilità

da specie a specie e da varietà a varietà. Quindi la biodiversità fitochimica è strettamente connessa al metabolismo secondario, alla sua specificità, alle condizioni in grado di stimolarlo. Il metabolismo secondario dà luogo alla formazione di una miriade di sostanze (fig. 3) molte delle quali svolgono, come si è detto, funzioni di difesa nei confronti di predatori e agenti biotici e abiotici e nei confronti dello stress ossidativo che accompagna questi eventi. Le strategie poste in atto sono molteplici, come molteplici sono le sostanze prodotte dalle piante in seguito a stimoli ambientali.

Queste risposte differenziate sono alla base della grande diversità biochimica che caratterizza il metabolismo secondario.

Un aspetto apparentemente sorprendente riguarda l'effetto notevole, talvolta inaspettato, che molti fitochimici, anche in piccole dosi, esercitano sugli animali e sull'uomo. Questi effetti e la stessa dipendenza degli animali da queste sostanze vegetali che devono essere presenti nella dieta, pena l'insorgenza di malattie, sono spiegabili in termini di coevoluzione.

L'alimentazione è finalizzata all'approvvigionamento energetico ma rappresenta al tempo stesso un rapporto biochimico importante fra la pianta e l'animale: l'alimento non è solo veicolo di energia ma anche delle numerose sostanze che possono esercitare effetti sia positivi che negativi sul metabolismo.

Il rapporto rappresentato dal cibo è divenuto così stretto nel corso dell'evoluzione da costituire una vera e propria dipendenza del metabolismo degli animali da sostanze preformate dalle piante, senza le quali non possono essere mantenute condizioni di salute.

FATTORI CHE AGISCONO SULLA BIODIVERSITÀ

Quando l'agricoltura ha lo scopo di soddisfare il fabbisogno alimentare primario diviene indispensabile spingere la produzione verso l'ottenimento di rese unitarie massime ottimizzando, con elevati input energetici, l'ambiente nel quale le piante vengono coltivate. In queste condizioni le piante, poche specie molto produttive, vengono forzate verso ritmi di accrescimento rapidi e rese elevate. Questo sfruttamento spinto del sistema suolo-pianta, che ha caratterizzato in Europa l'agricoltura dal dopoguerra fino a

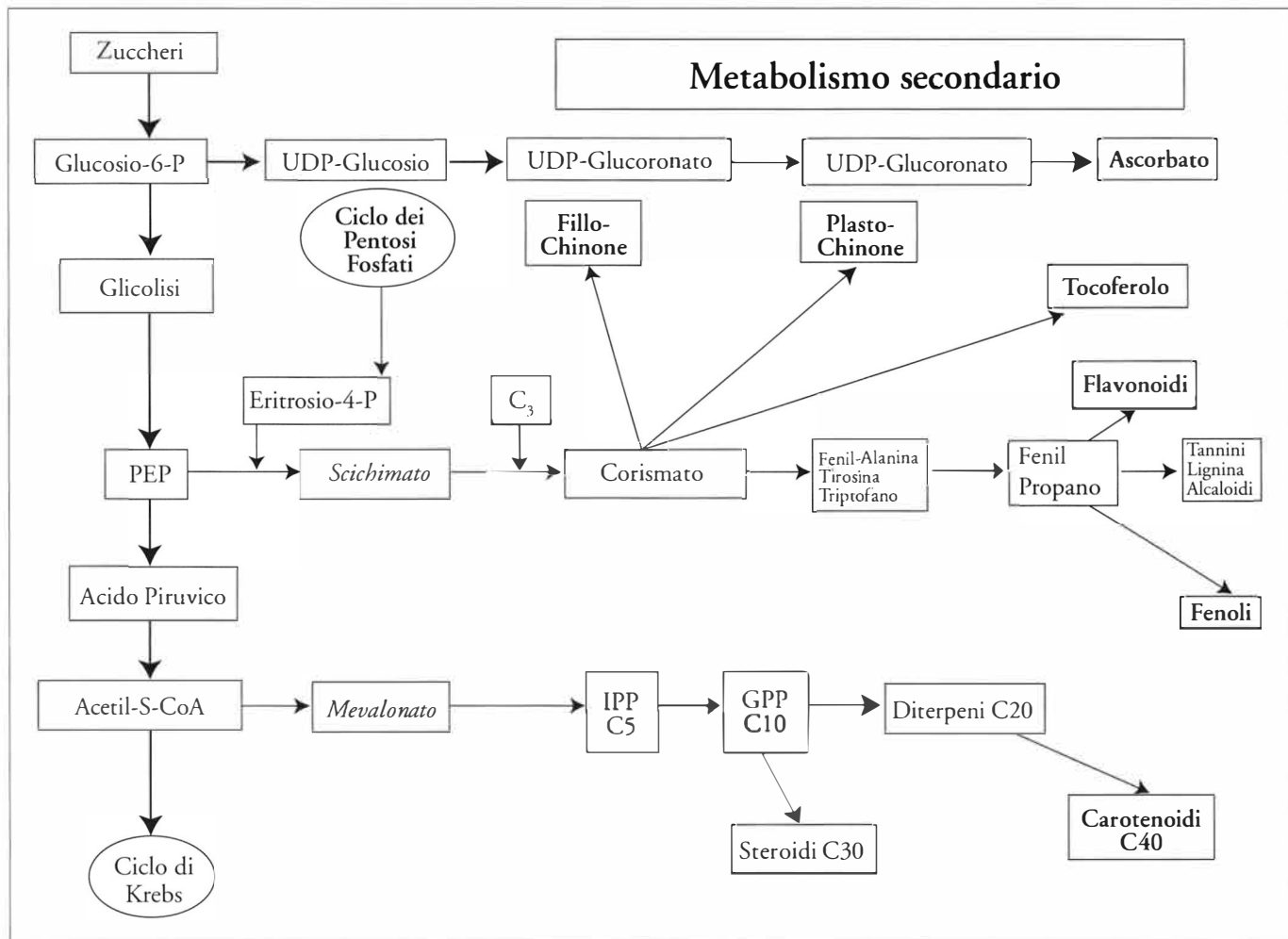


Fig. 3 Il metabolismo secondario che porta alla biosintesi degli antiossidanti prende avvio dal metabolismo primario. Gli antiossidanti derivano infatti dalla trasformazione di zuccheri, amminoacidi e proteine

pochi anni fa, ha presentato riflessi negativi sull'ambiente e sul mantenimento della biodiversità. Mentre è ormai abbastanza diffusa la consapevolezza degli effetti negativi dell'impatto ambientale, meno evidenti sono quelli connessi alla perdita di biodiversità e ancora più trascurato è quello relativo alla biodiversità fitochimica. Per quanto si è detto prima, perdere biodiversità non significa soltanto perdere varietà e specie potenzialmente utili per la produzione di alimenti in ambienti difficili, ma perdere la potenzialità di specie e varietà di produrre attraverso il metabolismo secondario sostanze utili per la nutrizione e la salute, la cui funzione in molti casi è ancora da scoprire. Il rischio è che si perdano capacità di biosintetizzare fitochimici prima ancora che se ne conosca l'utilità.

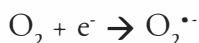
FORMAZIONE DI SPECIE ATTIVE DELL'OSSIGENO NEGLI ORGANISMI VEGETALI E ANIMALI

Gli organismi aerobi rispetto all'ossigeno si trovano in una situazione paradossale: devono utilizzarlo per la respirazione ma devono al tempo stesso attrezzarsi per evitare gli effetti dannosi dell'ossigeno stesso e dei radicali che il metabolismo aerobio produce (Rice-Evans et al., 1995).

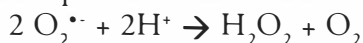
I radicali liberi sono specie chimiche molto reattive per la presenza di uno o più elettroni spaiati. Nei sistemi viventi sono numerose le specie radicaliche che possono formarsi spontaneamente. I radicali di maggiore interesse biologico sono quelli dell'ossigeno (ROI), quelli cioè nei quali l'elettrone spaiato è sull'ossigeno, come i radicali superossido ($O_2^{\bullet -}$) e idrossile ($\bullet OH$).

I processi attraverso i quali si possono avviare e propagare le reazioni radicaliche *in vivo* sono complessi. Si possono tuttavia schematizzare alcune reazioni di formazione dei principali radicali:

1. Riduzione monovalente dell'ossigeno con produzione del radicale *superossido*:



2. Dismutazione del superossido con formazione di *acqua ossigenata*:



3. Riduzione dell'acqua ossigenata con formazione di *radicali idrossilici*:

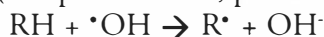


(possono funzionare da donatori di elettroni (D) ioni di metalli di transizione, ma anche molecole organiche del tipo idro e semichinone)

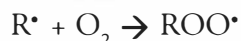
4. Degradazione di idroperossidi organici con generazione di radicali alcossilici:



5. Produzione di radicali alchilici per estrazione di idrogeno da parte di radicali $\cdot\text{OH}$ o per formazione di complessi fra metalli di transizione e l'ossigeno (composti ferrilici, perferrilici e cuprilici):



6. Addizione di ossigeno molecolare a questi radicali alchilici con formazione di radicali perossilici:

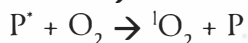


7. Formazione di nuovi radicali alchilici per reazioni a catena:

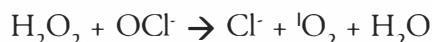


8. In aggiunta a queste specie radicaliche e perossidiche l'ossigeno singoletto è un agente tossico di grande importanza. Può essere prodotto attraverso tre meccanismi di notevole rilevanza biologica e medica:

a) *attività fotosintetica*:



b) *reazione dell'acqua ossigenata con l'ipoclorito nel fagosoma di leucociti attivati*:



c) *per interazione bimolecolare fra radicali perossidici*:



Quando due radicali liberi si incontrano possono riunire in un doppietto i due elettroni spaiati formando un legame covalente e quindi un composto non radicalico. I radicali possono reagire con molecole non radicaliche trasformandole in radicali (reazioni a catena). La reazione radicalica più nota e più studiata è la perossidazione dei lipidi.

Tutti questi processi sono stati dimostrati in cellule aerobiche e possono avere effetti deleteri. D'altra parte essi sono importanti in-

vece per certi processi metabolici: ad esempio il metabolismo dei lipidi (biosintesi delle prostaglandine e del leucotriene negli animali) e la biosintesi della lignina nelle pareti cellulari dei vegetali. Sono quindi inevitabili per le funzioni biologiche in certi compartimenti cellulari.

GLI ANTIOSSIDANTI

La funzione positiva della maggior parte dei fitochimici sulla salute si esercita attraverso la prevenzione dello stress ossidativo.

Per questo una particolare attenzione viene dedicata a una classe molto ampia di sostanze che vanno sotto il nome di *antiossidanti* in quanto possono prevenire i danni cellulari connessi con gli stress ossidativi dovuti all'aumento dei radicali liberi ossidanti. Antiossidanti sono quelle sostanze, presenti nei tessuti vegetali che per la loro prerogativa di ossidarsi facilmente costituiscono un bersaglio preferenziale di ossidanti e radicali liberi e proteggono quindi le cellule, sia vegetali che animali, da stress di tipo ossidativo. La loro predisposizione all'ossidazione rende tuttavia gli antiossidanti molto instabili, poco conservabili e facilmente disattivabili durante i processi tecnologici di trasformazione e confezionamento degli alimenti.

L'interesse per gli antiossidanti è stato decisamente stimolato dalla scoperta che una serie di malattie come il cancro, l'arteriosclerosi, l'artrite, la cataratta, il diabete possono essere correlate all'azione di forme attive dell'ossigeno (ROI: *Reactive Oxygen Intermediates*). ROI possono formarsi nelle piante e negli animali sia per reazioni endogene che in seguito a interazione con inquinanti atmosferici come l'ozono (O_3), l'anidride solforosa (SO_2), gli ossidi di azoto (NO_x) i perossiacilnitrati (PAN). Le acquisizioni sull'origine e sul ruolo dei ROI e di altri radicali liberi e sulla funzione dei sistemi di detossificazione e degli antiossidanti sono recenti. Esse delineano uno scenario di sostanziale parallelismo fra i sistemi vegetali e animali: entrambi possiedono gli stessi sistemi enzimatici di detossificazione con un ruolo centrale e coordinato da parte degli enzimi Superossido Dismutasi e Perossidasi (in particolare ascorbico e glutazione perossidasi). Per gli antiossidanti si ha invece una situazione di collegamento, anzi di vera e propria dipendenza dei sistemi animali da sostanze prodotte dai vegetali.

Gli animali (e l'uomo) durante la loro evoluzione hanno tratto vantaggio dalla disponibilità di sostanze presenti negli alimenti vegetali e non hanno pertanto sviluppato la capacità di sintetizzare in proprio gli antiossidanti. Ciò li rende dipendenti dalla assunzione di tali composti dagli alimenti.

I prodotti del metabolismo secondario delle piante che svolgono azione antiossidante sia nei sistemi biologici vegetali, che animali sono essenzialmente: acido ascorbico (vitamina C), α -tocoferolo (vitamina E), β -carotene (provitamina A), altri carotenoidi, diversi flavonoidi (vitamina P). Si annoverano fra gli antiossidanti anche la riboflavina (vitamina B₂), il plastochinone e diversi altri composti fenolici (oltre ai flavonoidi).

Alcuni antiossidanti (tocoferolo: Vitamina E; acido ascorbico: Vitamina C) sono in grado di interrompere le reazioni a catena provocate dai radicali liberi dell'ossigeno. Altri, pur funzionando da riducenti, non hanno questa proprietà (Vitamina A, retinolo, e il suo precursore β -carotene), anzi, in qualche caso, possono favorire la propagazione delle reazioni radicaliche.

GLI ANTIOSSIDANTI DI ORIGINE VEGETALE

Si è visto come la formazione di radicali dall'ossigeno sia legata al metabolismo respiratorio aerobio. Nelle piante, i cloroplasti producono ossigeno in seguito a reazioni indotte dalla luce e contengono molecole fotodinamicamente attive che catalizzano delle fotoossidazioni. Questi ultimi processi inducono inevitabilmente la formazione di transienti radicalici potenzialmente tossici. È quindi abbastanza logico che le piante abbiano sviluppato una grande varietà di sostanze protettive antiossidanti. Gli antiossidanti svolgono nelle piante una importante azione nel regolare, inibire, evitare effetti dannosi dovuti a processi ossidativi.

Carotenoidi. Le proprietà antiossidanti dei carotenoidi sono note da tempo e sono state ampiamente descritte già in una review di Krinsky nel 1989 e più recentemente dallo stesso autore nel 1992 (Palozza e Krinsky, 1992). Il loro ruolo nella prevenzione delle malattie cardio-vascolari è tuttavia ancora controverso e rimane ancora

ALIMENTO	β -CAROTENE EQUIVALENTE ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	ALIMENTO	β -CAROTENE EQUIVALENTE ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
Latte intero	12	Zucchino	955
Formaggio	126	Spinacio	3535
Olio di palma	500	Mais dolce	97
Fava	170	Pomodoro	640
Fagiolini	315	Mela	12
Piselli	300	Albicocca	560
Asparago	315	Pera	17
Barbabietola	20	Arancia	48
Broccoli	685	Pompelmo	4
Carota (vecchia)	8115	Pesca	115
Carota (nuova)	5330	Banana	20
Cavolo riccio	3145	Kiwi	45
Peperone verde	265	Uva	33
Peperone rosso	3840	Prugna	460
Peperone giallo	185	Fragola	9
Dai contenuti di α -carotene, β -carotene e α -criptoxantina.			

Tab. 2 *Contenuto in carotenoidi in alimenti di uso comune ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) (Ottaway, 1993)*

dubbio il sito di azione del β -carotene (Krinsky, 1995). I carotenoidi sono molto numerosi in natura. Oggi sono noti oltre 400 termini, almeno un quarto dei quali è stato ritrovato nelle piante superiori. Essi sono universalmente distribuiti nel regno vegetale (comprese alghe, funghi e batteri fotosintetici). Nella tabella 2 sono riportati alcuni dati sulla presenza di questi composti nei vegetali e negli alimenti. Essi sono presenti praticamente in tutti i tessuti fotosintetici, nei fiori, nei frutti e nei pollini, mentre nei semi si ritrovano soltanto in tracce. Le foglie delle piante erbacee sono assai ricche di carotenoidi, che possono raggiungere e superare i 250 mg/100 g di sostanza secca e particolarmente ricchi ne sono gli agrumi.

I carotenoidi che si trovano abbondanti in tessuti animali (salmoni, gamberi) o nei prodotti di origine animale (tuorlo d'uovo, grasso del latte) sono sempre di origine vegetale, in quanto gli animali non sono capaci di sintetizzarli.

Numerosi fattori influenzano la biosintesi dei carotenoidi. Nei frutti la loro formazione, oltre che dipendere nettamente dallo stadio di maturazione dipende notevolmente dalla temperatura e dalla luce. Piante eziolate, prive di cloroplasti, sono anche poverissime

in carotenoidi. Quando vengono illuminate si ha un rapido sviluppo di cloroplasti e si verifica la sintesi di β -carotene, luteina, violaxantina e neoxantina. La biosintesi del precursore fitoene può avvenire anche al buio ma la conversione in carotenoidi avviene solo alla luce. Per questa ragione il ruolo della luce durante la maturazione dei frutti è fondamentale e condiziona sia il contenuto in carotenoidi, sia il colore finale e l'aspetto dei frutti stessi.

Le funzioni dei carotenoidi nei vegetali sono molteplici ed è difficile riuscire ad attribuire loro un ruolo universale. Essi hanno certamente una funzione molto importante nella fotosintesi, facendo parte nei grana dei cloroplasti dei fotosistemi I e II.

Una delle funzioni, che oggi viene universalmente riconosciuta ai carotenoidi, è la protezione contro i danneggiamenti fotoossidativi che possono verificarsi a luce intensa. Questo effetto protettivo è stato dimostrato sia nei batteri, che nelle alghe. Nelle piante superiori il fenomeno è stato reso evidente dalla distruzione della clorofilla in presenza di ossigeno in piena luce, operando con mutanti di mais che accumulano solo fitoene. Oltre a proteggere la clorofilla, i carotenoidi potrebbero avere azione anche su altri composti porfirinici e su enzimi contenenti tali raggruppamenti (catalasi).

Vitamina C. La vitamina C (acido ascorbico) chimicamente è il γ -lattone dell'*acido 2-chetogulonico*. Si chiama acido ascorbico poiché l'idrogeno del gruppo -OH in 3 può essere sostituito da metalli. In medicina e in bromatologia si impiegano infatti gli ascorbati di sodio, potassio e calcio. Si presenta in cristalli di sapore acidulo gradevole, solubili in acqua e in alcol. La vitamina C ha potere riducente per cui si ossida rapidamente all'aria, dando *acido L-deidroascorbico*.

Come è noto la carenza di vitamina C porta a una malattia detta *scorbuto*, caratterizzata da emorragie, disturbi digestivi e dolori articolari. Nell'uomo la vitamina ha anche proprietà antidiabetiche, antianafilattiche e disintossicanti. Il rifornimento continuo di vitamina C è necessario perché quando l'acido ascorbico è ossidato a deidroascorbico questo può essere idrolizzato ad acido dichetogulonico che è biologicamente inattivo (fig. 4). Sono comunque pochi, oltre all'uomo, gli animali che abbisognano di questa vitamina in quanto gli altri la sintetizzano dai glucidi come le piante. Nei cibi

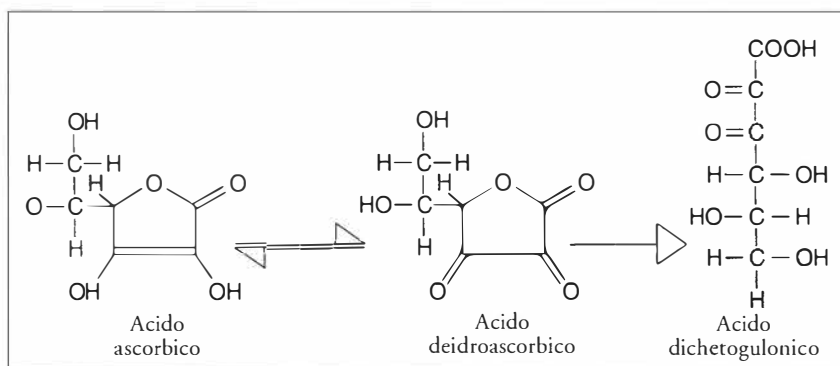


Fig. 4 Disattivazione irreversibile dell'acido ascorbico negli organismi animali

viene distrutta con la cottura. La sua azione biologica è legata al fatto che la vitamina costituisce un sistema redox assai efficiente. Per le proprietà antiossidanti viene spesso utilizzata anche come conservante negli alimenti.

Nelle piante l'acido ascorbico svolge un ruolo molto importante nella riduzione dell'acqua ossigenata (H_2O_2) ad acqua. Esso costituisce il substrato principale delle perossidasi e coopera con il glutatone nel ciclo di detossificazione dell' H_2O_2 nei cloroplasti (fig. 5).

Il contenuto in vitamina C di una serie di alimenti di origine vegetale e animale è riportato nella tabella 3.

Vitamina E (tocoferoli). La vitamina E ha proprietà antisterili in quanto la sua mancanza nella dieta impedisce alla femmina del ratto di portare a termine le gravidanze, mentre la sua somministrazione ripristina la fertilità. Una rassegna tuttora valida sulla funzione della vitamina E nei tessuti animali è quella di Friedrich (1987).

Chimicamente la *vitamina E* appartiene ai tocoferoli. In natura si trovano 4 tocoferoli, l' α -, il β -, il γ - e il δ -tocoferolo.

I tocoferoli sono concentrati nei semi e particolarmente nei germi e si ritrovano nella frazione insaponificabile delle sostanze grasse pur non mostrando alcuna relazione con il contenuto in olio dei vari organi. Il contenuto in tocoferoli di alcuni olii vegetali è riportato nella tabella 4.

L' α -tocoferolo è un olio giallo-chiaro, solubile nei grassi e nei

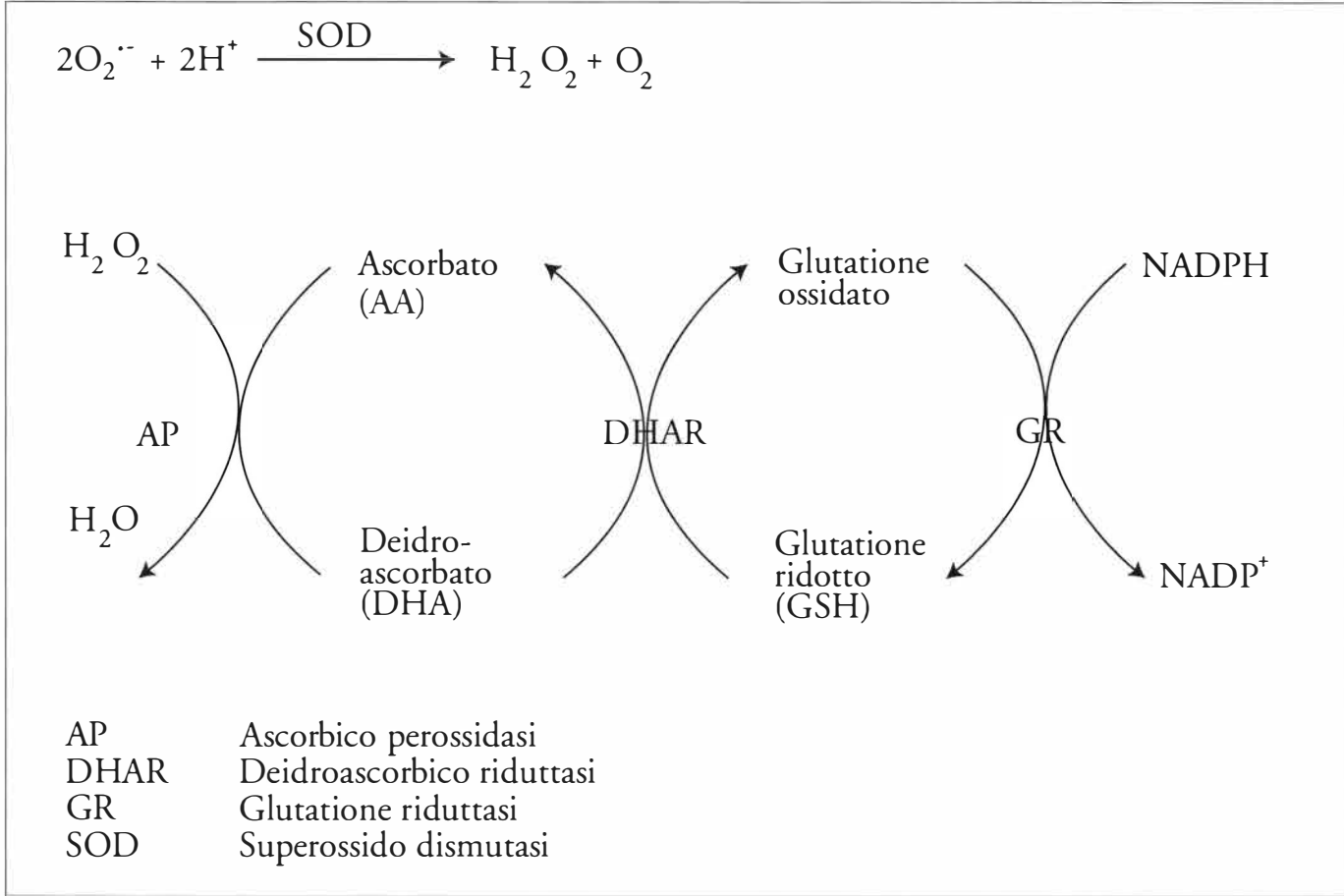


Fig. 5 Ciclo del glutatione-acido ascorbico per la detossificazione dell' H_2O_2

ALIMENTO	VITAMINA C (mg/100g)	ALIMENTO	VITAMINA C (mg/100g)
Latte intero pastorizzato	0,8-1	Ortaggi primaverili	180
Latte parzialmente scremato pastorizzato	0,8-1	Mais dolce	6-12
Latte scremato pastorizzato	0,8-1	Pomodori	17-33
Latte intero sterilizzato	tracce	Crescione	62-101
Fegato	10-23	Mela	5-30
Cervello di vitello e agnello	23	Banana	10-19
Patate nuove	16	Ciliegia	5-18
Patate vecchie	21	Pompelmo	35-45
Patate conservate 3 mesi	9	Guaiva	200 (20-600)
Patate conservate 9 mesi	7	Melone	5-34
Asparagi	12-15	Arancia	40-60
Fave	32-41	Pesca	7-14
Fagiolini	12-32	Ananas	17-40
Broccoli	87-150	Lampone	14-35
Cavoli	21-60	Frutti della rosa canina	1000
Carote	5-10	Fragola	40-90
Cavolo riccio	110	Mandarino	30
Peperone verde	120-200	Prezzemolo fresco	114-190

Tab. 3 *Contenuto di vitamina C in alcuni alimenti di origine animale e vegetale (Ottaway, 1993)*

solventi dei grassi e insolubile in acqua. Termostabile, è invece molto sensibile alla luce (specialmente ai raggi UV), agli alcali e agli ossidanti. Il contenuto di α -tocoferolo in alcuni alimenti viene riportato in tabella 5. I tocoferoli si comportano come *antiossidanti*, il cui potere aumenta dall' α al δ , mentre nello stesso senso diminuisce l'attività biologica.

La funzione biologica dei tocoferoli nelle piante non è chiara. Indubbiamente agiscono da antiossidanti nei rispetti degli acidi grassi essenziali; per la loro costituzione sono poi molto simili ai plastoquinoni e agli ubiquinoni che operano come trasportatori di idrogeno.

Polifenoli. Oltre al ruolo ormai accertato attraverso una serie di evidenze chimiche e biologiche dei nutrienti antiossidanti vitamine E e C e β -carotene, recentemente è aumentata l'attenzione verso le funzioni nutrizionali e salutistiche dei polifenoli vegetali, in particolare dei flavonoidi (Hertog *et al.*, 1993).

I flavonoidi comprendono un gruppo vastissimo di sostanze, aventi gruppi eterociclici ossigenati di tipo piranico o furanico. Va-

Olio	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T-3	β -T-3	γ -T-3	VIT. E attività
Cocco	0,35	0	0,17	0,35	1,29	0,10	1,32	0,78
Mais	14,26	0,38	64,9	2,75	0,58	0	0	21,10
Cotone	35,26	0	29,98	0	0	0	0	38,26
Oliva	11,92	0	0,72	0	0	0	0	11,99
Palma	18,32	0	0	0	11,46	0	5,75	21,82
Arachide	11,62	0	12,98	0,33	0	0	0	12,92
Colza	17,65	0	27,04	0,40	0	0	0	20,35
Cartamo	34,05	0	3,50	0,49	0	0	0	34,40
Soia	10,99	0	62,40	20,40	0	0	0	17,43
Girasole	59,50	0	3,54	0	0	0	0	59,85
Germe di grano	149,44	81,19	0	0	0	0	0	183,00

α -T = α -tocoferolo; β -T = β -tocoferolo; γ -T = γ -tocoferolo; δ -T = δ -tocoferolo
 α -T-3 = α -tocotrienolo; β -T-3 = β -tocotrienolo; γ -T-3 = c
Attività come vitamina E = α -tocoferolo + 0,4 β -tocoferolo + 0,1 β -tocoferolo + 0,01 δ -tocoferolo + 0,3 α -tocotrienolo + 0,05 β -tocotrienolo + 0,01 β -tocotrienolo

Tab. 4 *Contenuto di tocoferoli in olii vegetali (mg/100 g di olio) (Ottaway, 1993)*

riazioni strutturali all'interno dei cicli consentono di suddividere i flavonoidi in varie famiglie (fig. 6):

- flavonoli (ad esempio quercetina) caratterizzati dalla idrossilazione in 3 dell'anello centrale;
- flavoni (luteolina, apigenina) mancanti del gruppo idrossilico nell'anello centrale;
- flavanoli (ruteolina) mancanti del doppio legame 2,3 e del gruppo chetonico in 4 nell'anello centrale;
- isoflavoni nei quali l'anello B è localizzato in posizione 3 sull'anello centrale;
- antocianine dotate di doppi legami in 1-2 e 3-4, che rendono tutti i doppi legami della molecola coniugati e permettono ad esse di assorbire luce nel visibile. Inoltre all'anello piranico si lega un esoso (generalmente glucosio) la cui idrolisi produce gli agliconi noti come antocianidine. Esse si differenziano tra loro per la posizione degli idrossili legati agli anelli benzenici.

Altri composti come le catechine sono costituite dalla struttura tipica dei flavanoli con la differenza che esse sono dotate di vari gruppi idrossilici legati alla struttura benzenica B che donano particolari proprietà antiossidanti.

La glicosidazione dei flavonoidi rende le molecole meno reattive

ALIMENTO	α -Tocoferolo (mg/100 g)	ALIMENTO	α -Tocoferolo (mg/100 g)
Latte intero pastorizzato	0,9	Lattuga	0,5
Latte parzialmente scremato pastorizzato	0,3	Prezzemolo	1,7-3,6
Latte scremato pastorizzato	0	Patate	0,6
Burro	0,5-5,0	Spinaci	1,75
Formaggio	0,6	Crescione	1,3
Uova	1,1	Mela	0,4
Carne di manzo	0,2-0,5	Banana	0,25
Maiale	0,1-0,5	Mango	1,1
Pollo	0,3	Arancia	0,3
Merluzzo	0,2	Grano	0,58-5,2
Aringa	0,2-1,1	Avena	1,1
Fava	0,05-0,5	Riso	0,11
Fagiolini	0,02-0,2	Mandorle	23,96
Piselli	0,13-0,21	Noci del Brasile	6,5
Asparagi	1,5	Arachidi	8,3
Cavolini di Brussels	0,9	Semi di girasole	50
Carote	0,5		

Tab. 5 *Contenuto di α -tocoferolo in alcuni alimenti di origine animale e vegetale (Ottaway, 1993)*

verso i radicali liberi e più solubili in acqua, permettendone così l'immagazzinamento nel vacuolo. Lo zucchero di solito coinvolto nella formazione del glicoside è il glucosio, sebbene anche il galattosio, ramnosio e xilosio talvolta siano presenti nella molecola.

La biosintesi dei flavonoidi è molto complessa per la grande varietà di molecole prodotte. Essa comprende reazioni di condensazione, idrogenazione, metilazione, alchilazione, ossidazione, glicosidazione. È accertato che la biosintesi dei flavonoidi segue in un primo tempo la via generale della formazione delle unità di fenilpropano prodotte nella via dell'acido scichimico. Quindi partendo dal glucosio, attraverso l'acido scichimico e il fenil-piruvico si giunge alla fenil-alanina e da questa all'acido cumarico. L'unione delle unità C6 si verifica a partire da 3 molecole di acetyl-CoA che si trasformano in 3 molecole di malonil-CoA sotto l'azione dell'acetyl-CoA carbossilasi. Questo composto si condensa poi con il cumaril-CoA a dare il nucleo del flavanone (in questo caso la naringenina) o del calcone dal quale si formano gli isoflavoni. Dal flavanone si possono originare i flavoni per deidrogenazione e i flavonoli per idrossilazione. Dai flavonoli possono poi formarsi i flavanoli e da questi le antocianine per perdita del gruppo chetonico e le succes-

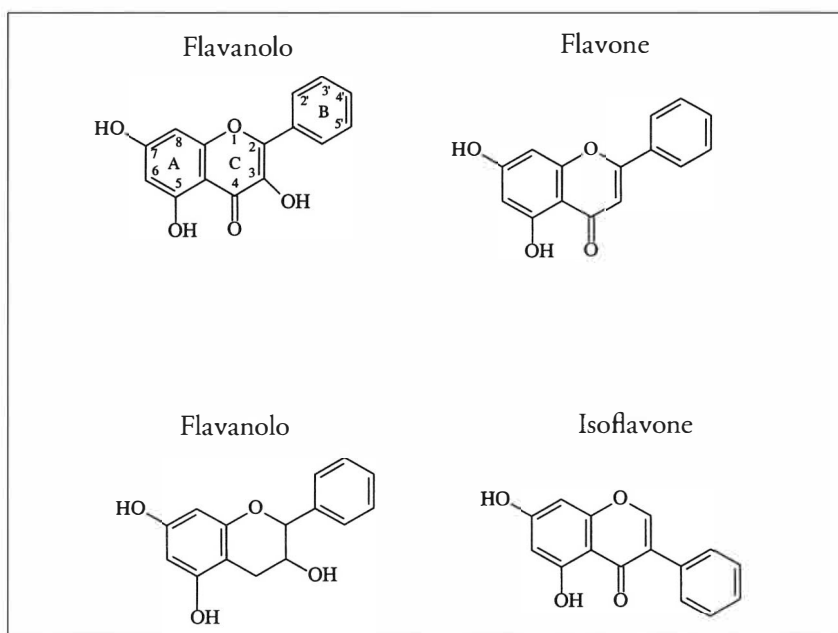


Fig. 6 Strutture fondamentali per le varie classi di flavonoidi

sive catechine a seguito di varie idrossilazioni degli anelli benzenici. L'attività antiossidante dei flavonoidi deriva dalle seguenti proprietà:

- reattività come donatori di idrogeno o elettroni (basso potenziale di ossido-riduzione);
- capacità della forma radicalica di risultare stabilizzata grazie alla presenza della delocalizzazione elettronica dell'anello aromatico;
- capacità di chelare metalli impedendo ad essi di agire come catalizzatori.

I polifenoli mostrano di avere una struttura chimica ideale per neutralizzare i radicali e, infatti, risultano avere una efficacia antiossidante maggiore in vitro rispetto alla vitamina C ed E.

Le strutture chimiche che conferiscono ai flavonoidi maggiori proprietà antiossidanti, sono:

- il gruppo orto 3'-4' diidrossilico nell'anello B;
- il gruppo 5,7 diidrossilico nell'anello A;
- il doppio legame 2,3 in combinazione con il gruppo chetonico in 4 e il gruppo idrossilico in 3 nell'anello C.

FLAVONOIDI	FONTE
<i>Flavonoli</i> Catechina Epicatechina	Tè e vino rosso
<i>Flavanoni</i> Naringenina Toxifolina	<i>Eucalyptus</i> <i>agnum</i>
<i>Flavoni</i> Crisina Apigenina	buccia dei frutti prezzemolo, sedano
<i>Flavonoli</i> Camferolo	insalata, broccoli, ravanelli, tè, pompelmo, mirtillo
Miricetina Quercetina	uva (bianca e nera), vino rosso cipolle, lattuga, broccoli, pomodoro, fragole, mirtilli, buccia di mela, uva, olio di oliva, tè

Tab. 6 Alcune fonti alimentari di flavonoidi

Modificazioni di questi gruppi e glicosidazioni diminuiscono l'attività antiossidante delle molecole.

Per quanto riguarda la chelazione dei metalli, i due punti di attacco dei metalli di transizione sono i gruppi O-difenolici in posizione 3',4' nell'anello B, il gruppo 4-chetonico e 3-idrossilico o, 4-chetonico e 5-idrossilico nell'anello rispettivamente C e A dei flavonoli.

Si stima che il nostro fabbisogno giornaliero vada da 20 mg a 1 g (Hertog et al., 1993). Nella tabella 6 sono elencate le fonti alimentari dei principali flavonoidi polifenolici. Si sa ancora poco sul grado di assorbimento e di disponibilità *in vivo* nell'uomo. Considerata la variabilità dei flavonoidi è probabile che sussistano notevoli differenze rispetto alla biodisponibilità di questi antiossidanti.

Una volta assorbiti dall'organismo essi dovrebbero svolgere un'azione protettiva contro gli agenti ossidanti in quanto il loro potenziale antiossidante è maggiore di quello dell'acido ascorbico e del tocoferolo. Considerano uguale a 1 il valore per questi ultimi, i flavonoidi possiedono un potenziale antiossidante che oscilla dal doppio a più di quattro volte.

Glucosinolati. Sono un importante gruppo di tioglucosidi presenti in piante della famiglia delle crucifere largamente utilizzate nella

alimentazione umana. Numerosi studi epidemiologici suggeriscono che i componenti chimici presenti nei vegetali soprattutto nelle crucifere possano proteggere contro certi tumori dell'uomo (Steinmetz e Potter, 1996). Studi sugli animali hanno dimostrato che i prodotti di degradazione di alcuni glucosinolati stimolano l'attività di enzimi detossificanti sebbene ancora poco chiari siano i meccanismi coinvolti nell'azione inibitoria del cancro (Zhang et al., 1994; Faye et al., 1997). Il meccanismo coinvolto nell'effetto protettivo di queste sostanze sembra legato alla modulazione del metabolismo carcinogenico attraverso l'induzione degli enzimi coinvolti nella fase 2 e l'inibizione dell'attivazione degli enzimi coinvolti della fase 1. In definitiva questi composti alterano l'attività degli enzimi coinvolti nella fase 1 e 2 della carcinogenesi, in modo tale che questa viene ridotta e i processi di detossificazione accelerati. Alcuni isotiocianati hanno mostrato di inibire la promozione di tumori attraverso la stimolazione della morte cellulare programmata nelle cellule animali.

Diverse ricerche hanno indicato che i glucosinolati e i loro derivati possono prevenire il cancro anche nell'uomo.

I vegetali che contengono i glucosinolati possono aiutare nella detossificazione della carcinogenesi da aflatossine. Si è riscontrato che i glucosinolati stimolano l'attività di diversi enzimi epatici coinvolti nei processi di detossificazione. In laboratorio è stato dimostrato che i benzil-tiocianati e i tiocianati inibiscono lo sviluppo dei tumori in animali esposti a carcinogeni. Uno dei prodotti dei glucosinolati, l'indolo-3-carbinolo, è un composto molto promettente nell'ambito delle ricerche contro la lotta al cancro.

La loro biosintesi è ancora in parte sconosciuta. Strutturalmente sono dei tioglucosidi che si formano da reazioni tra vari amminoacidi dotati di gruppi solfidrilici e amminici insieme con molecole di glucosio. Una possibile via di formazione è rappresentata in figura 7. Per ossidazione del gruppo amminico di un amminoacido si forma un gruppo idrossil-amminico. L'amminoacido subisce decarbossilazione e deidrogenazione e dopo reagisce con un gruppo solfidrico di un altro amminoacido (spesso la cisteina). A questo punto il composto reagisce con una molecola di UDP-glucosio e infine per opera di una desolfoglucosinolato transferasi assume la struttura tipica di un glucosinolato.

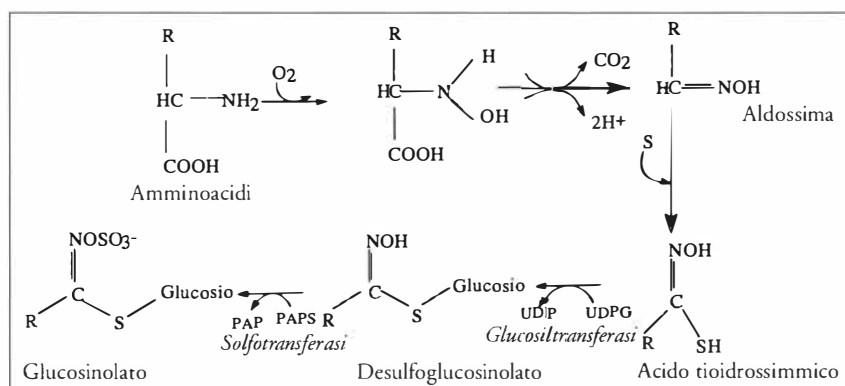


Fig. 7 Possibile via biosintetica dei glucosinolati. PAP: fosfoadenosin fosfato; PAPS: fosfoadenosin fosfosolfato; UDP: uridindifosfato; UDPG: uridindifosfato glucosio

Più conosciuta è la degradazione di questi composti. I glucosinolati sono idrolizzati dagli enzimi glucosinolasi o tioglucosidasi (tioglucoside glucoidrolasi, comunemente detta Mirosinasi) in glucosio, HSO_4^- e uno dei seguenti agliconi: isotiocianati, tiocianati e nitrili. (fig. 8) (Cole, 1976). Gli enzimi che operano l'idrolisi sono presenti nelle piante e anche nei ruminanti. Gli effetti dei prodotti di degradazione dei glucosinolati sono in sintesi i seguenti:

- *isotiocianati*: possono irritare la mucosa, ma difficilmente sono consumati in quantità sufficiente da divenire tossici. Tuttavia, se sono ingeriti come glucosinolati e idrolizzati a isotiocianati nell'intestino possono divenire potenti antitiroidei e interferire con la sintesi di ormoni tiroidei essenziali;
- *nitrili*: deprimono la crescita, causano lesioni al fegato e ai reni e in molti casi determinano danni anche gravi al fegato;
- *tiocianati*: inibiscono l'assorbimento dello iodio da parte della tiroide e come risultato finale provocano una riduzione nella produzione del principale ormone tiroideo, la tiroxina.

MECCANISMI ANTIOSSIDATIVI NEI SISTEMI VEGETALI E ANIMALI

Lo studio della biochimica dei radicali liberi (forme attive dell'ossigeno) ha avuto un grande impulso e si è sviluppato rapidamente do-

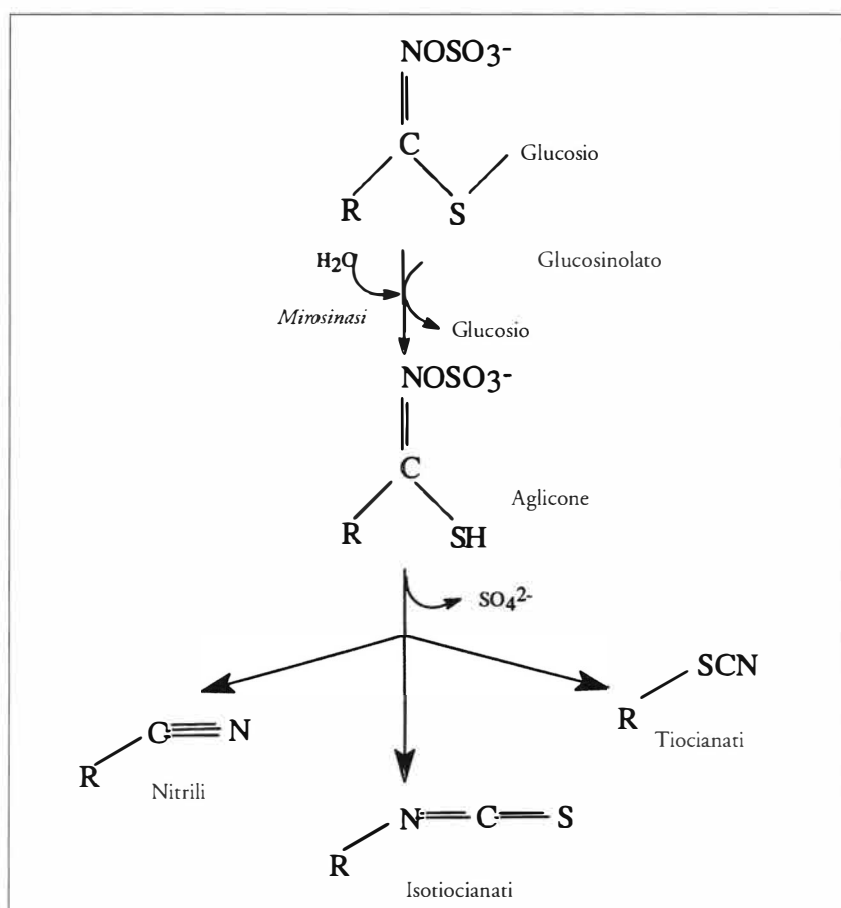


Fig. 8 *Degradazione dei glucosinolati da parte dell'enzima mirosinasi*

po la scoperta di McCard e Fridovich (1969) dell'enzima superossido dismutasi (SOD). Oggi la presenza e il funzionamento di diversi sistemi detossificanti è stata accertata. Le piante e gli animali dispongono di diversi meccanismi per limitare gli effetti dannosi dei radicali liberi ossidanti. I principali sono qui di seguito elencati.

Sistemi enzimatici di difesa. Gli organismi viventi hanno sviluppato meccanismi di difesa per rimuovere $\text{O}_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 . Le cellule umane hanno un enzima SOD contenente Mn nei mitocondri e una SOD rame e zinco nel citoplasma. La catalasi provvede nei perossisomi a

convertire l' H_2O_2 a H_2O e O_2 . Il sistema più efficace per la rimozione dell' H_2O_2 sembra essere nelle cellule umane quello della Glutathione-perossidasi (contenente selenio) che ossida il glutathione (GSH) a glutathione ossidato (GSSG). Quest'ultimo viene a sua volta rigenerato (ridotto) dalla glutathione riduttasi (NADPH dipendente). Al ruolo fondamentale della glutathione perossidasi nella protezione dallo stress ossidativo nelle cellule animali è dovuta essenzialmente l'importanza attribuita al selenio come nutriente essenziale per il mantenimento della salute.

Un sistema di difesa indiretto consiste nel compartimentare e tenere a basse concentrazioni gli ioni dei metalli di transizione che potrebbero altrimenti favorire, come detto in precedenza, la decomposizione di H_2O_2 a radicale ossidrilico $\cdot\text{OH}$.

Antiossidanti scavenger di radicali. Oltre agli enzimi di difesa dagli ossidanti gli organismi viventi possiedono una varietà di sostanze antiossidanti che funzionano da scavenger (scaricatore) di radicali. Di queste fanno parte innanzitutto il GSH, l' α -tocoferolo e l'acido ascorbico. Queste sostanze non sono radicali ma reagiscono preferenzialmente con i radicali trasformandosi essi stessi in radicali. Ad esempio, l' α -tocoferolo può rallentare la perossidazione dei lipidi reagendo con i radicali perossidici prima che questi possano reagire con altri acidi grassi o con proteine.

Si pensa che possa essere l'acido ascorbico a ridurre di nuovo il radicale formato ad α -tocoferolo:



Sembra che anche il GSH e il coenzima Q ridotto (l'ubichinolo) possano rigenerare l' α -tocoferolo.

Spegnimento (quenching) dello stato di singoletto eccitato: le molecole dei pigmenti eccitati possono trasferire fisicamente energia a una sostanza (detta *quencher*) con dissipazione in forma di emissione di luce (fluorescenza) o come calore. Il processo non comporta trasferimento di elettroni. Si comportano da quenchers nei confronti delle molecole di pigmenti eccitati o dell'ossigeno singoletto, i tocoferoli e i caroteni. Essi non subiscono modificazioni durante questa funzione. Soltanto ogni 20 interazioni si può avere un evento ossidativo del *quencher*.

Chelazione di metalli di transizione: i metalli di transizione possono avere un grande effetto sulla progressione di una reazione radicalica. Essi possono, a loro volta, essere attivati o anche disattivati da sostanze chelanti. Questi effetti dipendono dal tipo di metallo e dal chelante. Un metallo molto attivo in questo tipo di reazioni è il ferro che interviene ad esempio nel cosiddetto ciclo Haber-Weiss che produce il radicale $\cdot\text{OH}$ (Cohen, 1977).

Attivazione e inattivazione di enzimi: le sostanze che svolgono questa funzione possono competere con il substrato oppure inattivare il centro attivo dell'enzima. Ad esempio i flavonoidi, la classe di antiossidanti più "eclettica", disattivano la prostaglandina sintetasi (Moroney et al., 1988) e la lipossigenasi (Yamamoto et al., 1990). Di particolare interesse farmacologico sono i flavonoidi del *Silybium marianum* (Minonzio et al., 1988). Altri antiossidanti attivano enzimi in grado di bloccare le reazioni radicaliche.

MECCANISMI DI DETOSSIFICAZIONE DAI RADICALI LIBERI NELLE CELLULE ANIMALI

Acido ascorbico (Vitamina C). L'acido ascorbico costituisce un efficace antiossidante *in vivo* nelle cellule animali. Il radicale semideidroascorbato che si forma è già molto meno reattivo degli altri radicali e viene poi riportato ad ascorbato da sistemi enzimatici che utilizzano il NADH (NADH-semideidroascorbato riduttasi) oppure GSH (deidroascorbato riduttasi) come fonte di elettroni. Questi enzimi sono intracellulari. Pertanto i liquidi extracellulari diventano rapidamente poveri di acido ascorbico in condizioni di stress ossidativo. Gli ioni di ferro e rame abbassano notevolmente l'efficacia dell'acido ascorbico come antiossidante, per cui devono essere mantenuti a livelli molto bassi nelle cellule sane.

L'acido ascorbico è efficace anche nella protezione dalla perossidazione dei lipidi, partecipando alla rigenerazione dell'(-)tocoferolo.

Flavonoidi e fenoli. Si attribuisce a queste sostanze di origine vegetale presenti negli alimenti una funzione antiossidante *in vivo* nelle cellule animali. Tuttavia le loro funzioni non sono del tutto defini-

te. Molti fenoli vegetali possono legare e ridurre il ferro, accelerando così i danni dei radicali liberi al DNA e alle proteine. Molti flavonoidi sono stati descritti come antiossidanti per le loro proprietà di inibire la perossidazione dei lipidi. Tuttavia, essi possono avere un'azione proossidante nei confronti di altre molecole, come le proteine, sia *in vivo* che nella matrice dei cibi. Il significato biologico di questi effetti necessita di essere ancora attentamente valutato. Sarebbe semplicistico concludere che tutto ciò che è “naturale” è anche “salutare”. Non è detto che sostanze che svolgono un'azione protettiva nei confronti della perossidazione dei lipidi siano completamente innocue per altre molecole biologiche.

IMPORTANZA DELLA DIETA PER IL RIFORNIMENTO DI ANTIOSSIDANTI

Le cellule umane non hanno una grande capacità antiossidante. Per gli antiossidanti più importanti (acido ascorbico, α -tocoferolo e β -carotene) la dotazione dipende dal rifornimento attraverso il cibo. Anche i sistemi enzimatici presenti (Superossido dismutasi) possono presentare degli inconvenienti soprattutto quando il prodotto della reazione, l' H_2O_2 , non viene rimosso efficacemente. Questi effetti secondari sono evidenti in mutanti che presentano una superespressione di questo enzima e in soggetti con la sindrome Down. I meccanismi di abbattimento dei ROI non sono calibrati per l'abbattimento totale di queste specie chimiche. Si è accennato infatti alla funzione “positiva” che questi possono svolgere in certe circostanze e in determinati compartimenti cellulari. Questo è il motivo per cui le riserve di antiossidanti sono in genere limitate nelle cellule e situazioni di *stress ossidativo* possono essere indotte da nutrizione inadeguata. La maggior parte degli organismi aerobi possono tollerare moderati stress ossidativi e possono anche essere acclimatati a elevate concentrazioni di O_2 . È dimostrato infatti che, entro certi limiti, i meccanismi di detossificazione sono *inducibili* sia nelle piante che negli animali dall'aumento di O_2 , ma anche da inquinanti atmosferici, fonte potenziale di ROI. Stress ossidativi più forti possono causare tuttavia danni e anche morte delle cellule.

Si è attribuito in passato grande importanza alla perossidazione dei lipidi come evento primario nei danni provocati da stress ossi-

dativo, ma gli studi più recenti dimostrano che gli effetti sul DNA e sulle proteine sono di solito metabolicamente più rilevanti. Anche nelle piante il target primario dei ROI nelle membrane non è costituito dai lipidi ma dalle proteine.

GLI ALIMENTI CONTENENTI FITOCHIMICI BENEFICI

Tutti gli alimenti di origine vegetale contengono sostanze potenzialmente utili per la salute (tab. 7). Tuttavia i contenuti sono per qualità e quantità molto diversi. Ciò è plausibile considerando proprio la biodiversità fitochimica di cui si è parlato.

Vengono qui di seguito riportati alcuni alimenti e bevande particolarmente significativi per le loro proprietà salutistiche.

Il tè

Il tè è la bevanda più consumata su scala mondiale. Il tipo e la quantità di tè bevuto varia notevolmente tra le diverse nazioni a seconda dei costumi delle popolazioni. Il *tè nero* (fermentato) è popolare nell'Occidente, il semifermentato *oolong tè* è comunemente bevuto in Taiwan e in alcune regioni della Cina, il *tè verde* (non fermentato) è preferito nel resto della Cina, in Giappone e nel Nord Africa.

Studi epidemiologici hanno fatto registrare una più bassa incidenza del cancro in associazione con un alto consumo di tè. Il tè contiene elevate quantità di sostanze polifenoliche con proprietà antiossidanti che aiutano l'organismo a prevenire danni al DNA e a impedire perossidazioni delle frazioni LDL (la lipoproteina che trasporta il colesterolo dal fegato ai tessuti).

Comunque i risultati non sono del tutto chiari e il ruolo protettivo degli antiossidanti nel tè deve ancora essere dimostrato. Sembra molto importante la forma in cui il tè viene bevuto. Alcuni tipi di tè (tè verde) hanno sostanze antiossidanti più attive e più facilmente assorbite di altri.

I principali composti presenti nel tè dotati di particolari proprietà antiossidanti sono le catechine (della classe dei flavonoidi) nella forma libera o esterificata.

Durante il processo di fermentazione, le catechine subiscono polimerizzazione ossidativa per opera delle PPO (polifenolossidasi)

ANTIOSSIDANTI* (mM)	FONTE	ATTIVITÀ
VITAMINE		
Vitamina C	Frutta e verdura	1,0 ± 0,02
Vitamina E	Cereali, nocciole ed olio	1,0 ± 0,03
FLAVONOIDI		
<i>Antocianidine</i>		
Oenina	Uva rossa/vino rosso	1,8 ± 0,02
Cianidina	Uva, lampone, fragola	4,4 ± 0,12
Delfinidina	buccia di castagna	4,4 ± 0,11
<i>Flavon-3-olo</i>		
Quercetina	Cipolla, buccia d'arancia, uva nera, tè, broccoli	4,7 ± 0,10
Campferolo	Indivia, porro, broccoli, uva, tè	1,3 ± 0,08
<i>Flavoni</i>		
Rutina	Cipolla, buccia d'arancia, uva nera, tè, broccoli	2,4 ± 0,12
Luteolina	Limone, oliva, sedano, peperone rosso	2,1 ± 0,05
Crisina	Buccia della frutta	1,4 ± 0,07
Apigenina	Sedano, prezzemolo	1,5 ± 0,08
<i>Flavan-3-olo</i>		
(Epi)catechina	Uva nera/vino rosso	2,4 ± 0,02
Epigallocatechina	Tè	3,8 ± 0,06
<i>Flavanoni</i>		
Taxifolina	Agrumi	1,9 ± 0,03
Narirutina	Agrumi	0,8 ± 0,50
Naringenina	Agrumi	1,5 ± 0,05
Esperidina	Succo d'arancia	1,0 ± 0,03
Esperetina	Succo d'arancia	1,4 ± 0,08
<i>Te flavine</i>		
Te flavina	Tè nero	2,9 ± 0,08
Te flavina-3-gallate	Tè nero	4,7 ± 0,16
Te flavina-3'-gallate	Tè nero	4,8 ± 0,19
Te flavina digallate	Tè nero	6,2 ± 0,43
<i>Idrossicinnamati</i>		
Acido caffeico	Uva nera, olive, cavoli, asparago	1,3 ± 0,01
Acido clorogenico	Mela, pesca, ciliegia, pomodoro pera	1,3 ± 0,02
Acido ferulico	Cereali, pomodoro, cavolo, asparago	1,9 ± 0,02
Acido p-cumarico	Uva bianca, pomodoro, cavolo, asparago	2,2 ± 0,06

* Misurata come TEAC (=Trolox equivalent antioxidant activity).

Tab. 7 *Attività antiossidante totale e fonti nella dieta di flavonoidi (Rice-Evans et al., 1997)*

che fanno assumere al tè una certa colorazione nera. Dopo qualche ora gran parte del contenuto di catechine del tè verde è convertito in teaflavine che conferiscono al tè nero il caratteristico sapore astringente. *Oolong tè* ha caratteristiche intermedie tra i due tipi di

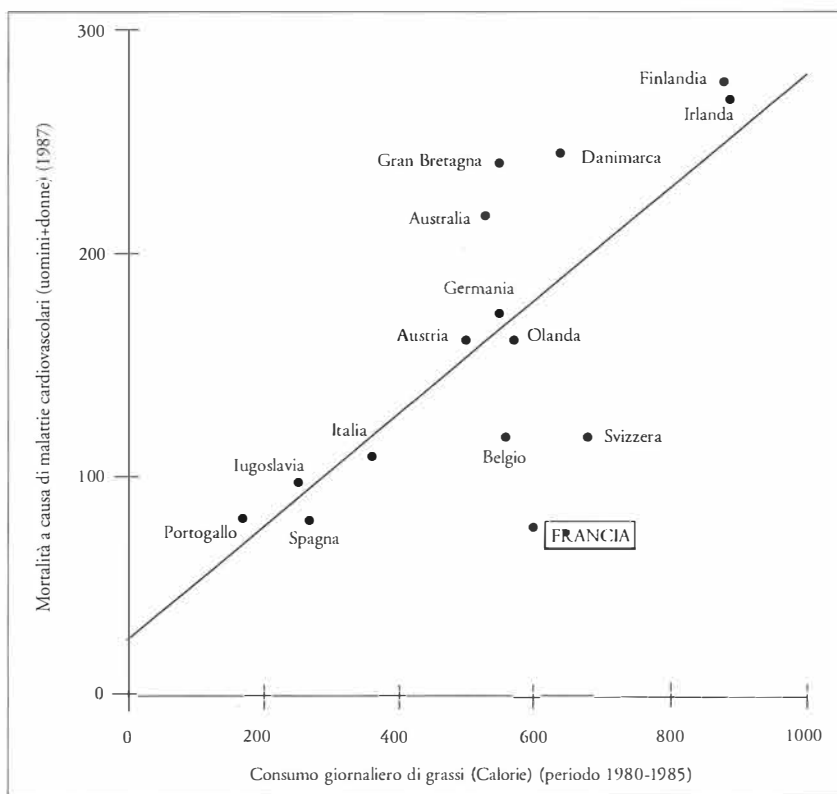


Fig. 9 Tasso di mortalità a causa di malattie cardiovascolari e consumo giornaliero di grassi nella dieta in diversi Paesi

tè (8-20% di catechine sul peso secco totale mentre il tè verde ne contiene 30-42% e il tè nero il 3-10%). A causa del maggior contenuto di catechine il tè verde mostra una maggiore capacità antiossidante rispetto al tipo *Oolong* che ha caratteristiche simili al tè nero. In accordo con la loro struttura chimica le molecole che hanno un maggior numero di gruppi idrossilici mostrano un maggior potere antiossidante. All'interno dello stesso tipo di tè esistono differenze di 2-3 volte nel contenuto in polifenoli probabilmente dovuto a differenze nelle varietà, nelle regioni geografiche dove sono coltivati, nel momento in cui le foglie sono raccolte e nelle diverse condizioni di conservazione. Comunque tutti i tipi di tè hanno un elevato potenziale antiossidante dato che una tazza di tè nero con-

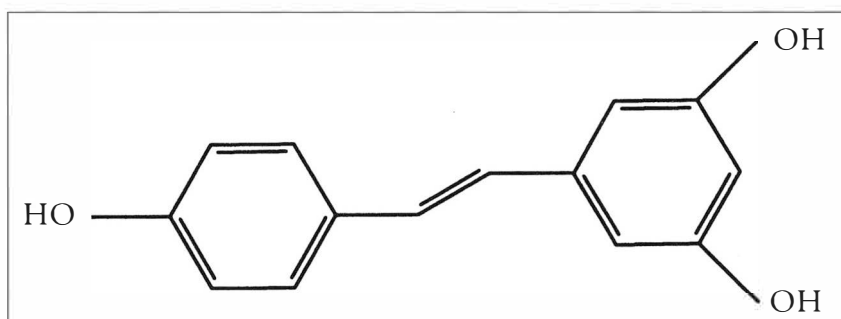


Fig. 10 *Rappresentazione schematica della molecola del resveratrolo*

tiene circa 800 μmol di potere antiossidante e alcune tazze di tè hanno lo stesso potenziale antiossidante di 1 g di vitamina C.

Il vino

Studi epidemiologici sull'incidenza di malattie cardio-vascolari e degenerative in dipendenza del contenuto in grassi della dieta hanno evidenziato da tempo il cosiddetto "paradosso francese" (fig. 9). La popolazione francese, nonostante l'elevato consumo di grassi, presenta una incidenza nettamente meno che proporzionale di malattie correlabili. Questo fatto è stato attribuito al consumo regolare di vino, soprattutto di vino rosso. Questa spiegazione semplice del fenomeno non è oggi universalmente condivisa; essa ha tuttavia contribuito a stimolare le ricerche sugli effetti benefici del consumo moderato del vino.

Molti studi hanno suggerito che il consumo di alcool (soprattutto vino rosso) può ridurre l'incidenza delle malattie cardiovascolari. Si è anche dimostrato che alcuni flavonoidi presenti nel vino, in particolare il resveratrolo, funzionano da antiossidanti (Chanvitayapongs et al., 1997; Belguendouz et al., 1998; Rotondo et al., 1998). Essi inibiscono la perossidazione lipidica delle lipoproteine a bassa densità (LDL) (Chanvitayapongs et al., 1997; Belguendouz et al., 1998) e prevengono la citotossicità delle LDL ossidate (Chanvitayapongs et al., 1997), proteggendo le cellule dalla perossidazione lipidica (Chanvitayapongs et al., 1997). Poiché il resveratrolo presenta elevate proprietà idrofiliche e lipofiliche, può provvedere a una protezione maggiore rispetto ad altri ben noti antiossi-

danti, come la vitamina C e la vitamina E (Chanvitayapongs et al., 1997). D'altra parte, esso è meno efficiente della quercetina e dell'epicatechina ritrovate anch'esse nel vino rosso (Soleas et al., 1997). Da sottolineare che sino ad oggi la maggior parte degli studi sulle proprietà antiossidanti del resveratrolo sono stati condotti *in vitro* per cui saranno necessari ulteriori studi sugli animali e sull'uomo.

Il quadro delineato dagli studi sul resveratrolo è abbastanza complesso. Le piante reagiscono agli attacchi di funghi, erbivori e ad altri stress ambientali producendo delle sostanze di difesa definite *fitoalessine*. Anche il resveratrolo (*trans-3-5-4' triidrossistilbene*) è una fitoalessina sintetizzata da molte specie vegetali, nelle quali induce resistenza agli attacchi fungini (Celotti et al., 1996). Essa è stata trovata in elevate concentrazioni nella vite (*Vitis vinifera*) in seguito all'attacco da parte del fungo *Botrytis cinerea*. La struttura del resveratrolo, un flavonoide stilbenico la cui struttura è rappresentata in figura 10, può difendere non solo dalle malattie cardiovascolari, ma anche dal cancro. Vi sono evidenze sperimentali sia *in vivo* che *in vitro* sull'azione inibitoria del resveratrolo nei confronti della iniziazione e della crescita delle cellule cancerose.

È stato dimostrato che, in risposta all'attacco fungino, il resveratrolo viene sintetizzato attivamente a partire dal p-cumaril-CoA e malonil-CoA (Soleas et al., 1997). La concentrazione più elevata di resveratrolo è presente nella buccia degli acini di uva che ne possono contenere 10-100 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Jang et al., 1997).

Il contenuto di resveratrolo nel vino è correlato anche alla permanenza delle bucce degli acini durante la fermentazione. Per questo motivo il contenuto in resveratrolo è notevolmente più elevato nel vino rosso rispetto al vino bianco, in quanto durante la produzione di quest'ultimo le bucce vengono rimosse. Il succo di uva, bevanda non fermentata, non è una sorgente significativa di resveratrolo.

Il resveratrolo è stato studiato anche per quanto riguarda gli effetti che esso può esercitare sui processi di iniziazione, promozione e progressione del cancro. Riguardo alla iniziazione dei tumori, il resveratrolo agisce come un antiossidante inibendo la formazione di radicali liberi (Jang et al. 1997). Esso diminuisce anche i processi di promozione del tumore inibendo la Cicloossigenasi (COX-1) (Jang et al., 1997; Clement et al., 1998; Fontecave et al., 1998), un enzima che converte l'acido arachidonico a sostanze pro-infiamma-

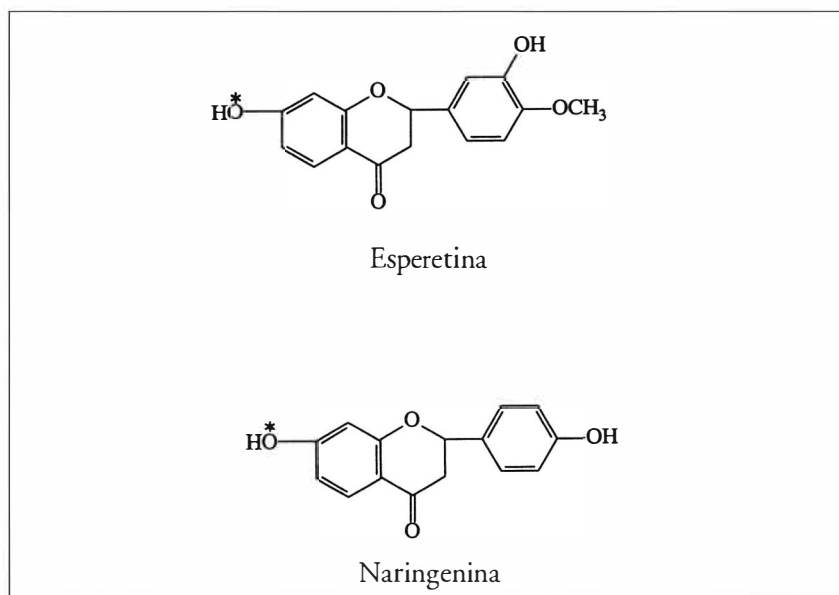


Fig. 11 *Struttura di due dei principali flavonoidi degli agrumi*

torie che stimolano la crescita delle cellule tumorali (Kopp, 1998). Tra l'altro, si è anche trovato che il resveratrolo inibisce la Ribonucleotide Riduttasi, un enzima necessario per la sintesi del DNA nelle cellule proliferanti (Fontecave et al., 1998).

Gli agrumi

Il genere *Citrus* è caratterizzato da un sostanziale accumulo di glucosidi flavanonici che non sono stati ritrovati in molti altri frutti. Alcuni di questi composti sono intermedi nella via biosintetica che porta alla produzione di antocianine, flavanoni, flavonoli a partire da acido idrossicinnamico e malonil-CoA. Nelle arance i flavonoidi abbondanti sono: esperetina, narirutina, naringenina (fig. 11).

Un'altra famiglia di composti aromatici presenti nelle arance sono i fenilpropanoidi e in particolare gli acidi idrossicinnamici: acido caffeico, ferulico, sinapico, p-cumarico (fig. 12). Essi vengono sintetizzati attraverso la via dell'acido scichimico e possono essere presenti in forma libera o glicosidata, metilata o esterificata.

L'acido caffeico è il più rappresentativo degli acidi idrossicin-

namici in frutti del genere *Citrus* anche se in alcuni casi anche l'acido ferulico può arrivare a quantità del 50% del totale degli idrossicinnamici.

Il succo delle arance è caratterizzato da elevate quantità di flavonoidi e fenilpropanoidi: nelle varietà di arance rosse si riscontrano anche alti livelli di antocianine che conferiscono tale colorazione al succo. Studi recenti hanno dimostrato che l'attività antiossidante dipende dalla frazione polifenolica e che questa varia in funzione delle cultivars, delle condizioni ambientali di crescita e del grado di maturazione del frutto. A titolo di esempio viene qui riportato il contenuto totale di polifenoli e acido ascorbico nei frutti di arance di cinque varietà e di diversi cloni (Rapisarda et al., 1999) (tab. 8). È evidente una discreta variabilità nel contenuto in fenoli totali e in flavonoidi maggiore di quella riscontrata per il contenuto in acido ascorbico; solo le arance rosse (moro, tarocco, sanguinello) contengono apprezzabili quantità di antocianine e principalmente la cianidina-3-glucoside.

È stata osservata una stretta correlazione diretta tra la quantità di sostanze polifenoliche e il potere antiossidante (Rapisarda et al., 1999). Ma i risultati *in vitro* non sono direttamente confrontabili con quelli in vivo per gli effetti stabilizzanti o destabilizzanti delle sostanze sulla struttura della membrana e per la diversa partizione delle molecole tra la fase acquosa e lipidica. Inoltre l'efficienza antiossidante della sostanza può essere influenzata dalla sua solubilità nel mezzo di reazione: infatti i fenoli contenuti nel succo di arance sono presenti in forme disciolte o parzialmente sospese o parzialmente colloidali, mentre solo l'attività della frazione disciolta può essere misurata impiegando un sistema acquoso. Inoltre l'attività antiossidante della molecola è fortemente influenzata dal sistema usato come substrato e dalle condizioni usate per catalizzare l'ossidazione. Nonostante questi limiti, i risultati di studi svolti sull'efficacia antiossidante dei succhi di arance (Rapisarda et al., 1999) hanno consentito di fare alcune importanti considerazioni:

- l'efficacia antiossidante del succo di arancia può essere attribuita in larga misura al loro contenuto di fenoli totali;
- l'acido ascorbico sembra svolgere un ruolo minore rispetto a questa frazione (15% sul totale del potere antiossidante);

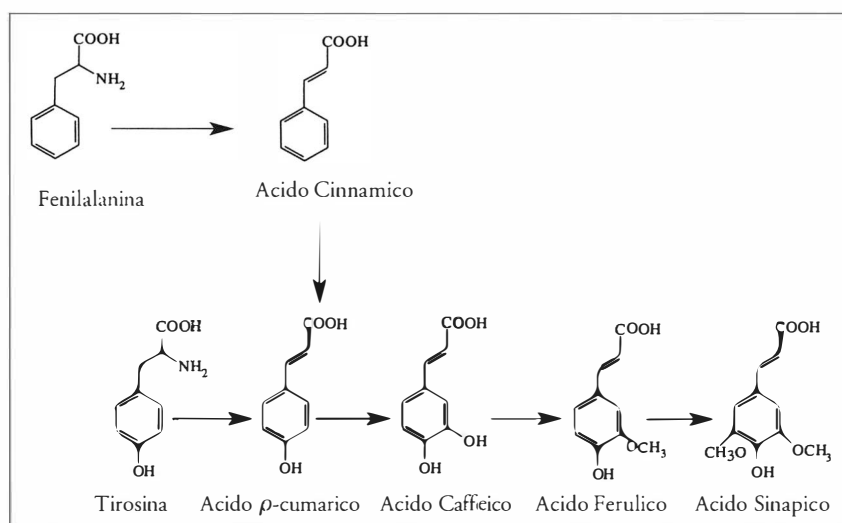


Fig. 12 *Struttura di fenilpropanoidi molto rappresentati negli agrumi e loro derivazione dalla fenilalanina attraverso la via dello scichimato*

- l'attività antiossidante del succo di arancia non è riferita solo alle caratteristiche strutturali dei fitochimici presenti ma anche alla loro capacità di interagire con le membrane;
- l'efficacia antiossidante è profondamente influenzata dai livelli di antocianine.

Appare quindi evidente che le proprietà benefiche dei succhi di arancia non sono determinate esclusivamente da un singolo composto ma sono attribuibili a diversi costituenti fenolici che agiscono in maniera sinergica con la vitamina C, protetta dalla ossidazione proprio dagli stessi composti polifenolici.

Infine sembra che il contenuto in antocianine non solo contribuisca alla efficacia antiossidante dei succhi di frutta di arance rosse, ma possa avere effetti protettivi e terapeutici nei confronti delle malattie cardiovascolari con funzioni antiinfiammatoria, epatoprotettiva e antineoplastica.

In particolare la cianidina 3-glucoside (la più abbondante antocianina presente nelle arance rosse) ha mostrato di avere spiccate proprietà antiossidanti. Ulteriori esperimenti sono comunque necessari per chiarire le capacità antiossidanti del succo di arancia *in vivo*.

SUCCO DI ARANCIA	FENOLI TOTALI ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	ANTOCIANINE ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	FLAVANONI ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	ACIDI IDROSSICINNAMICI ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	ACIDO ASCORBICO ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
Moro I	674	97	260	63	500
Moro II	866	167	355	60	470
Moro III	995	222	422	140	480
Moro IV	1147	278	444	135	510
Tarocco I	387	1	179	38	570
Tarocco II	907	70	167	70	781
Tarocco III	1090	99	150	91	752
Tarocco IV	569	4	180	87	570
Tarocco V	470	20	171	66	691
Sanguinello I	382	6	186	46	515
Sanguinello II	561	41	285	73	535
Sanguinello III	603	53	300	92	490
Valencia late	488	-	244	57	577
Washington navel	361	-	202	33	417

Tab. 8 *Contenuto in antiossidanti nel succo di arancia (Rapisarda et al., 1999)*

La patata

Le patate accumulano una varietà di metaboliti secondari (composti fenolici, fitoalessine inibitori delle proteine e glicoalcaloidi) come protezione contro effetti nocivi dovuti a danneggiamenti meccanici, eccessi di luce, attacchi parassitari (batteri, funghi, insetti). Le sostanze polifenoliche in presenza di ossigeno vengono ossidate da parte delle polifenolossidasi (PPO) e trasformate in chinoni; questi polimerizzandosi formano una barriera efficace contro attacchi patogeni.

I composti fenolici nei tuberi sono localizzati per circa il 50% nella buccia, mentre la rimanente parte diminuisce di concentrazione dall'esterno verso l'interno. Più del 90% del contenuto totale di fenoli dei tuberi di patata è rappresentato dall'acido clorogenico.

I contenuti sono ridotti del 65% dopo che le patate sono bollite e assenti dopo cottura completa. L'acido clorogenico così come gli altri polifenoli della patata si forma dalla fenilalanina prodotta nella via della scichimato. Un tentativo volto ad aumentare il contenuto di polifenoli è stato quello di inattivare mediante la tecnologia del DNA-antisense la PPO in modo da evitarne l'ossidazione a chinoni, a scapito però delle difese antiparassitarie della pianta.

Gli effetti studiati dell'acido clorogenico contro l'instaurarsi di processi mutageni e cancerogeni sono i seguenti:

1. I nitriti negli alimenti possono reagire con ammine secondarie a formare nitrosammine mutagene e cancerogene. L'acido clorogenico e gli altri polifenoli mostrano di bloccare la formazione di nitrosammine reagendo competitivamente con i nitriti.
2. L'acido clorogenico e alcuni altri acidi fenolici inattivano la mutagenicità della aflatoxina B1.
3. Un sistema costituito da acido clorogenico e cellulosa lega il 100% del composto cancerogeno benzo(α) pirene confrontato con il 66% nel caso di sola cellulosa.
4. La buccia di patata mostra di legare più benzo (α) pirene di altri prodotti vegetali.

Si è anche accertato che l'acido clorogenico e gli altri polifenoli esibiscono una forte attività antiossidante in vitro per le lipoproteine legate a malattie cardiovascolari (LDL).

Come si è visto gli effetti benefici dei polifenoli contenuti nelle patate sono molteplici, in particolare quelli dell'acido clorogenico che rappresenta il costituente principale. Tuttavia l'incidenza reale di queste sostanze per la dieta è assai limitata per due motivi essenziali: il contenuto maggiore in polifenoli si ha nella buccia, che viene esclusa dalla dieta; l'effetto antiossidante dei polifenoli viene ridotto dopo sbollentatura e scompare completamente a cottura completa. Se l'effetto benefico dei fenoli contenuti nelle bucce di patate venisse confermato non è da escludere la preparazione di appositi alimenti funzionali arricchiti in estratti di bucce o bucce macinate.

I broccoli

Le piante appartenenti alle crucifere, una famiglia che include alcune verdure importanti per la nutrizione umana, devono la loro importanza al contenuto, vario ma tendenzialmente abbondante, di glucosinolati. Le proprietà anticancerogene di queste sostanze e dei loro prodotti di idrolisi hanno destato interesse da diversi anni, al punto che, specialmente negli USA il consumo dei broccoli è associato nell'opinione pubblica alla protezione contro il cancro.

Durante i processi di lavorazione per rendere commestibili i broccoli, i glucosinolati si idrolizzano e formano composti biologicamente attivi come i nitrili, i tiocianati e gli isotiocianati (vedi fig. 8). La quantità di prodotti che si forma è influenzata da un elevato numero di fattori come la temperatura, il pH, la quantità e la na-

tura dei glucosinolati presenti. La quantità di prodotti di idrolisi non dipende dalla relazione tra contenuto di glucosinolati e l'attività della mirosinasi. Come si può osservare dalla tabella 3 la quantità di ogni componente diminuisce all'aumentare del numero dei giorni dopo la raccolta e soprattutto dopo il *blanching* e la cottura. La bollitura dei broccoli riduce i prodotti di idrolisi dei glucosinolati del 50%. Il *blanching* (trattamento del prodotto ad alte temperature per pochi minuti) permette di inattivare alcuni enzimi indesiderati ma provoca anche l'inattivazione della Mirosinasi.

Stanno aumentando le evidenze sugli effetti specifici degli isotiocianati che sembrano essere i composti più attivi delle crucifere nella prevenzione di alcuni tipi di cancro, per ora limitati a studi su ratti. Questi effetti sono specifici e dipendono dalla struttura degli isotiocianati e dalle molecole induttrici di tumori. Una delle azioni più studiate è l'inibizione del 4-metilnitrosammino-1-3 piridil-1-butanone (NNK, cancerogeno). Sembra che un fenilisotiocianato blocchi l'attivazione metabolica del NNK, aumentando anche l'escrezione dei metaboliti detossificati. Effetti simili sul metabolismo del NNK sono stati osservati in fumatori che consumavano Crescione (altra pianta ricca in isotiocianati). Sulla base di queste osservazioni una dieta ricca in broccoli sembra poter in parte neutralizzare gli effetti negativi del fumo di sigarette e di altri fattori cancerogeni.

Il pomodoro

Il pomodoro costituisce un alimento da tempo presente nella dieta di molti paesi, soprattutto di quelli mediterranei, che ha ricevuto di recente una nuova attenzione per le sue proprietà nutrizionali e salutistiche. Il pomodoro sembra rappresentare l'alimento ideale secondo le più moderne esigenze dietetiche. Limitato apporto di calorie, elevato contenuto in minerali e vitamine, in particolare di antiossidanti: β -carotene, licopene, flavonoidi ecc. (tab. 9).

Il licopene è un carotenoide insaturo a catena aperta; esso conferisce il caratteristico colore rosso al pomodoro, al pero delle Indie (guava), al frutto della rosa canina, all'anguria e al pompelmo rosa (tab. 10). Questa molecola ha una particolare conformazione strutturale (fig. 13) che le conferisce specifiche proprietà di *quencher* e di antiossidante, quindi di sostanza in grado di diminuire il

Acqua (g)	94,20
Proteine (g)	0,95
Lipidi (g)	0,21
Glucidi disponibili (g)	3,45
Fibra alimentare (g)	1,83
Minerali (%)	0,61
Energia (kcal)	3,60
Energia (kJ)	15,00
Glucosio (g)	1,21
Fruttosio (g)	1,54
Saccarosio (g)	0,13
Amido (g)	0,08
Sodio (mg)	6,30
Potassio (mg)	297,00
Magnesio (mg)	20,00
Ferro (mg)	0,50
Calcio (mg)	14,00
Fosforo (mg)	26,00
Carotene (mg)	0,82
α -tocoferolo (mg)	0,80
Vitamina K (μ g)	8,00
Vitamina B ₁ (tiamina) (μ g)	57,00
Vitamina B ₂ (riboflavina) (μ g)	35,00
Nicotinammide (mg)	0,53
Acido pantotenico (mg)	0,31
Vitamina B6 (piridossina) (mg)	0,10
Biotina (μ g)	4,00
Acido folico (μ g)	39,00
Vitamina C (mg)	24,20
Acido clorogenico (mg)	9,70
Acido chinico (mg)	8,10
Acido sinapico (mg)	0,70

Tab. 9 *Composizione chimica e valore energetico del pomodoro riferiti a 100 g di peso fresco (Souci et al., 1990)*

rischio di malattie cardiovascolari e di alcuni tipi di cancro. Studi *in vivo* e *in vitro* sulla crescita delle cellule tumorali supportano questa conclusione.

Nell'organismo il licopene si deposita nel fegato, nei polmoni, nel colon e nella pelle; la sua concentrazione nei tessuti tende ad essere maggiore rispetto a quella di tutti gli altri carotenoidi messi insieme e può variare da 1 nmol g⁻¹ nel tessuto adiposo a 20 nmol g⁻¹ nelle ghiandole surrenali. Il suo livello nel sangue è approssimativamente di 0,5 mol l⁻¹ di plasma. Prodotti dell'ossidazione del licopene sono stati recentemente trovati nel siero umano, a conferma della azione antiossidante che esplica anche nel sangue.

PRODOTTO	LICOPENE (mg/100 g)	PORZIONE CONSIGLIATA	LICOPENE (mg/porzione)
Succo di pomodoro	9,5	250 ml	25,0
Ketchup	15,9	15 ml	2,7
Sugo di pomodoro	21,9	125 ml	28,1
Zuppa condensata	42,2	250 ml	9,7
Concentrato di pomodoro	42,2	30 ml	13,8
Anguria	4	368 g (una fetta)	14,7
Pompelmo rosa	4	123 g (mezzo)	4,9
Pomodoro crudo	3	123 g (uno medio)	3,7

Tab. 10 *Contenuto in licopene in diversi alimenti*

Studi epidemiologici hanno dimostrato che un consumo elevato di vegetali contenenti licopene (che risulta essere uno dei maggiori carotenoidi nella dieta di nord-americani ed europei) è inversamente proporzionale rispetto all'incidenza di particolari tipologie di cancro. Ad esempio si è scoperto che l'uso abituale di prodotti a base di pomodoro diminuisce il rischio di cancro all'apparato digerente. Infatti recenti studi condotti comparando due gruppi di giovani appartenenti a zone a diversissimo consumo di pomodoro e derivati, Bristol e Napoli, hanno dimostrato che i giovani napoletani presentano un livello di antiossidanti nel sangue decisamente superiore e si è notata anche una minore incidenza nello sviluppo di cellule tumorali (Parfitt et al., 1994)

Altri studi condotti in varie parti del mondo hanno dimostrato l'azione benefica dell'assunzione quotidiana di licopene nella prevenzione di malattie cardiache e dell'apparato circolatorio; ciò, in virtù della presenza di questo carotenoide e della sua azione nel torrente sanguigno, che sembra diminuire l'incidenza di anomalie a carico di arterie e vene e di altri tessuti dell'apparato circolatorio, proteggendoli da danni ossidativi. I benefici dovuti a questa molecola si possono ottenere bevendo un minimo di 540 ml (circa due bicchieri, pari a 54 mg di licopene) di succo di pomodoro al giorno.

Il licopene, essendo un idrocarburo, risulta sensibile agli effetti del calore, anzi si è accertato che la sua biodisponibilità aumenta quando il pomodoro viene elaborato in succhi, salse, concentrati, ketchup (tab. 10).

L'efficacia del licopene come *quencher* e antiossidante ha catalizzato l'attenzione dei ricercatori, prima concentrata sul β -carotene. Si

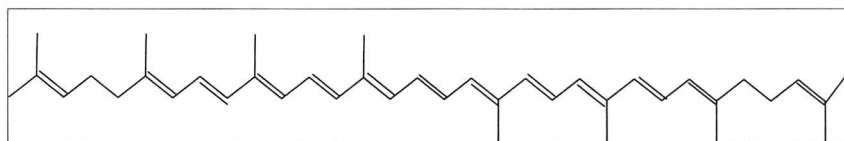


Fig. 13 *Rappresentazione schematica della molecola del licopene*

è visto tuttavia che sia il licopene che il β -carotene da soli, estratti e concentrati, non presentano efficacia, anzi talvolta possono agire da pro-ossidanti e avere effetti negativi. Sembra più probabile che l'azione combinata e spesso sinergica di diverse sostanze antiossidanti, presenti negli alimenti di origine vegetale, costituisca la soluzione più efficace nella prevenzione delle malattie. Ci si dovrebbe quindi astenere dalla preparazione di concentrati di singole sostanze commercializzate in forma di pastiglie, che presentano in genere minore efficacia e possono risultare talvolta dannose per l'organismo.

Un'alimentazione varia e ricca in prodotti di origine vegetale costituisce la migliore garanzia per il mantenimento della salute.

NOTA CONCLUSIVA

In questa relazione, destinata a un pubblico ampio, ho tentato di affrontare, in modo necessariamente superficiale, gli aspetti vari, problematici e spesso complessi connessi con le proprietà salutistiche degli alimenti.

Le nuove acquisizioni in questo ambito, stanno modificando il modo in cui il consumatore percepisce la qualità degli alimenti e ciò potrebbe avere riflessi importanti sul piano commerciale e più in generale sulla organizzazione del sistema alimentare.

BIBLIOGRAFIA

- BELGUENDOZ L., FREMONT L., GOZZELINO MT. (1998): *Interaction of transresveratrol with plasma lipoproteins*, «Biochem. Pharmacol.», 55, pp. 811-816.
- CELOTTI E., FERRARINI R., ZIRONI R., CONTE L.S. (1996): *Resveratrol content of some wines obtained from dried Valpolicella grapes: Recioto and Amarone*, «J. Chromatography», 730, pp. 47-52.
- CHANVITAYAPONGS S., DRACZYNSKA-LUSIAK B., SUN A.Y. (1997): *Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells*, «Neuroreport», 8, pp. 1499-1502.
- CLEMENT M.V., HIRPARA J.L., HAWDHURY S.H., PERVAIZ S. (1998): *Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells*, «Blood», 92, pp. 996-1002.
- COHEN G. (1977): *In defense of Haber-Weiss*, in Michelson A.M., McCord J.M. e Fridovich I. (eds), *Superoxide and superoxide dismutases*, Academic Press, London, pp. 317-322.
- FAHEY J.W., ZHANG Y., TALALAY P. (1997): *Broccoli sprouts: An exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens*, «Proceed. Nat. Ac. Sci.», 94, pp. 10367-10369.
- Fontecave M., Lepoivre M., Elleingand E., Gerez C., Guittet O. (1998): *Resveratrol, a remarkable inhibitor of ribonucleotide reductase*, «FEBS Letters», 421, pp. 277-279.
- HERMS D.A., MATTSON W.J. (1992): *The dilemma of plants: to grow or defend*, «The Quarterly Rev. Biol.», 67 (3), pp. 283-335.
- HERTOG M.L.G., HOLLMAN P.C.H., KATAN M.B. (1993): *The content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and fruits commonly consumed in the Netherlands*, «J. Agric. Food Chem.», 40, pp. 2379-2383.
- JANG M., CAI L., UDEANI G.O., SLOWING K.W., THOMAS C.F., BEECHER C.W., FONG H.H., KINGHORN A.D., MEHTA R.G., MOON R.C., PEZZUTO J.M. (1997): *Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes*, «Science», 275, pp. 218-220.
- KOPP P. (1998): *Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'?*, «Europ. J. Endocrinol.», 138, pp. 619-620.
- KRINSKY N.I. (1989): *Antioxidant functions of carotenoids*, «Free Radical Biol. Med.», 7, pp. 617-635.
- KRINSKY N.N. (1995): *Plant carotenoids and related molecules*, in *Free Radicals and Oxidative Stress* (Rice-Evans C., Halliwell B., Lunt G.G., Eds), pp. 117-126, Biochemical Society Symposium, 61, Portland Press, London.
- MCCARD J.M., FRIDOVICH I. (1969): *Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein)*, «J. Biol. Chem.», 244, pp. 6049-6055.
- MINONZIO F., VENEGONI E., ONGARI A.M., CIANI D., CAPSONI F. (1988): *Modulation of human polymorphonuclear leukocyte function by the flavonoid silybin*, «Int. J. Tissue React», 10, pp. 223-231.

- MORONEY M.A., ALCARAZ N.J., FORDER R.A., CAREY F., HOULT J.R.S. (1988): *Selectivity of neutrophyl 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids*, «J. Pharm. Pharmacol.», 40, pp. 787-792.
- OTTAWAY P.B. (1993): *The technology of vitamins in food*. Blakie Academic & Professional, Chapman & Hall, Glasgow.
- PALOZZA P., KRINSKY N.I. (1992): *Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: an overview*, «Methods Enzymol.», 213, pp. 403-420.
- PARFITT V.J., RUBBA P., BOLTON C., MAROTTA G., HARTOG M., MANCINI M. (1994): *Comparison of antioxidant status and free radical peroxidation of plasma lipoproteins in healthy young persons from Naples and Bristol*, «Europ. Heart J.», 15, pp. 871-876.
- RAPISARDA P., TOMAINO A., LO CASCIO R., BONINA F., DE PASQUALE A., SAIJA A. (1999): *Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices*, «J. Agric. Food Chem.», 47, pp. 4718-4723.
- RICE-EVANS C., HALLIWELL B., LUNT G.G. (1995): *Free radicals and oxidative stress: environment, drugs and food additives*, Portland Press, London.
- RICE-EVANS C.A., MILLER N.J., PAANGA G. (1997): *Antioxidant properties of phenolic compounds*, «Trends Plant Sci.», 2, pp. 152-159.
- ROTONDO S., RAJTAR G., MANARINI S., CELARDO A., ROTILIO D., DEGAETANO G., EVANGELISTA V., CERLETTI C. (1998): *Effect of trans-resveratrol, a natural polyphenolic compound, on human polymorphonuclear leukocyte function*, «British J. Pharmacol.», 123, pp. 1691-1699.
- SOLEAS G.J., DIAMANDIS E.P., GOLDBERG D.M. (1997): *Resveratrol: A molecule whose time has come? And gone?*, «Clinica Biochem.», 30, pp. 91-113.
- STEINMETZ K., POTTER J. (1996): *Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review*, «J. Am. Diet. Assoc.», 96, pp. 1027-1038.
- YAMAMOTO S., UEDA N., HADA T., HORIE T. (1990): *Flavonoids as 5-lipoxygenase inhibitors*, in Das N.P. (Ed.), *Flavonoids in biology and medicine*, III, *Current issues in flavonoid research*, Nat. Uni., Singapore Press, Singapore, pp. 435-446.

MARCO PAOLO NUTI*, MANUELA GIOVANNETTI*,
ANNITA TOFFANIN*

BIOTECNOLOGIE VEGETALI E MICROBICHE

I. GENERALITÀ

Nell'accezione attuale, il termine biotecnologia significa l'uso tecnologico di microbi, piante e animali per la produzione di beni e servizi, e per la tutela ambientale. Ciò implica un vastissimo campo applicativo (di per sé il termine biotecnologia significa applicazione, altrimenti si dovrebbe parlare di bioscienze se ci limitiamo all'integrazione di conoscenze multidisciplinari), dall'industria farmaceutica a quella chimica, dalla salute umana e animale all'agricoltura e all'alimentazione. Nello sviluppo ormai trentennale delle moderne biotecnologie un contributo particolarmente significativo è stato dato dalle scienze informatiche, dalla genetica e biologia molecolari, dall'ingegneria biochimica. Una testimonianza del carattere fortemente innovativo delle biotecnologie è costituita dagli oltre quindici ricercatori insigniti del premio Nobel tra il 1953 e la fine del secolo. Se da un lato la creazione di nuove conoscenze si concretizza in veri e propri corsi di studio per la formazione di biotecnologi (in Italia diciannove Atenei hanno organizzato in totale quarantanove tra corsi di diploma e lauree e cinque Scuole di specializzazione in biotecnologia), dall'altro lo sviluppo di prodotti biotecnologici dà un fatturato di venti miliardi di dollari in oltre tremila imprese (circa mille soltanto in UE)

* *Dipartimento di Chimica e Biotecnologie Agrarie, Università degli Studi di Pisa*

(*The European Biotechnology Directory '99 e 2000*) per centocinquanta-ducentomila addetti.

Le biotecnologie vegetali e microbiche contribuiscono già oggi in modo innovativo al settore agro-alimentare (Spalla, 1995) e costituiscono uno dei comparti con maggiore tasso di crescita previsto per i prossimi dieci-quindici anni nella valorizzazione delle proprietà salutistiche degli alimenti.

2. BIOTECNOLOGIE E BIODIVERSITÀ

Con la Conferenza mondiale di Rio de Janeiro su ambiente e sviluppo del 1992, e i suoi corollari di Nairobi dello stesso anno, di Tokyo del 1994, della FAO nel 1996, si pongono le basi per riconoscere la fondamentale importanza della biodiversità e per realizzare a pieno le ricadute positive delle biotecnologie, minimizzando se non eliminando i possibili effetti negativi (potenziali rischi per la salute umana e per l'ambiente, scenari connessi con la brevettabilità, riduzione della biodiversità). Con il trattato di Rio e l'Agenda 21 si vogliono raggiungere tre scopi: la conservazione della biodiversità, l'uso sostenibile della diversità biologica e la giusta distribuzione dei prodotti ottenuti dallo stock genetico. Come può la biotecnologia contribuire al raggiungimento di questi obiettivi?

In primo luogo per conoscere più a fondo, qualitativamente e quantitativamente, la biodiversità. La messa a punto di potenti, precise e riproducibili tecniche molecolari d'analisi proteomica e genomica consente:

- lo studio delle relazioni filogenetiche di organismi viventi;
- una definizione dello "status" di specie;
- l'assegnazione tassonomica a gruppi e individui indipendentemente dalle loro caratteristiche fenotipiche;
- l'individuazione di specie che si trovano in uno stato, spesso transitorio, di non colturabilità pur essendo metabolicamente vive.

Qualche esempio dal mondo microbico: *Pseudomonas* (Spiers et al., 2000), i funghi simbionti micorrizici (Helgason et al., 1998), le cellule vitali ma non coltivabili di rizobi (Toffanin et al., 2000). Il genere *Pseudomonas* abbraccia il gruppo di batteri ecologicamente più rilevante del pianeta. Si trova in ambienti terrestri,

acquatici e marini, ha capacità di adattamento fisiologico straordinarie anche in presenza di xenobiotici, in una parola ha una biodiversità eccezionale. In aggiunta a ciò le dimensioni genomiche sono esse stesse variabili, da 3,7 Mbp per *P. stutzeri* a 7,1 Mbp per *P. aeruginosa*, con intervalli più ristretti di 5,6 a 6,7 Mbp per *P. syringae* e *P. putida*. Le differenze di dimensioni non si riflettono in diversità di sequenza per quelle comuni alle varie "specie". Tra le cause di diversità sono state identificate l'opportunità ecologica e la competizione (a livello fisiologico, fenotipico), le mutazioni e la ricombinazione intragenomica e il trasferimento laterale di geni a livello di genotipo.

Analoghe considerazioni valgono per i funghi micorrizici. Sappiamo che l'attività agricola è fonte di modificazione, quasi sempre diminuzione, di biodiversità vegetale e microbica. Non sfuggono i funghi micorrizogeni a questa pressione selettiva, come è stato recentemente dimostrato per i generi *Glomus*, *Acaulospora* e *Scutellospora*. Nel terreno coltivato sottoposto a semplici lavorazioni meccaniche diventa dominante *G. mosseae*, indicando l'opportunità di identificare questi importanti microrganismi come ecologicamente rilevanti e sensibili alla più comuni pratiche agricole.

Lo stato, spesso transitorio, di non coltivabilità dei microrganismi ha rappresentato un problema d'indagine non indifferente; tale stato impedisce di fatto i conteggi vitali (unità formanti colonie) e l'attribuzione tassonomica a porzioni assai rilevanti del microbiota terricolo. Oggi, con le più moderne tecniche biotecnologiche, s'incomincia a sollevare il velo di ignoranza sull'argomento. Appare chiaro, con riferimento ad alcuni gruppi microbici quali i rizobi simbiotici delle leguminose, che lo stato VNC (*viable-not-culturable*) è uno stato transitorio che i batteri assumono per superare situazioni particolari di tipo ambientale quali la limitazione di O₂, le variazioni di pH e temperatura, elevate concentrazioni saline, deficienze nutrizionali. Con l'uso delle più avanzate biotecnologie, è stato possibile verificare che per *Rhizobium hedysari* l'attività nitrito-riduttasica, che si abbassa in presenza di scarsa ossigenazione, porta a sua volta a una drastica diminuzione del contenuto energetico delle cellule e quindi della coltivabilità.

La biodiversità vegetale viene affrontata nello stesso modo di

quella microbica: la salvaguardia della diversità della patata *kumara* dei Maori (Anonimo, 2000), dei lupini nell'emisfero sud del pianeta, degli stessi centri di diversità e origine biologica di mais, patata, legumi può giovare delle attuali capacità descrittive e di preservazione dell'esistente.

3. BIOTECNOLOGIE E TRANSGENI

La prima generazione di piante e microbi geneticamente modificati sta per essere superata ormai dall'avvento di una seconda generazione, che tra l'altro raccoglie le istanze della società civile per il più accurato controllo soprattutto in via preliminare e di monitoraggio post-rilascio finalizzati alla massima tutela della salute del consumatore e dell'ambiente.

L'esempio del "Golden Rice" può servire allo scopo per i vegetali. Dal narciso è possibile isolare dei geni che codificano per il β -carotene, correggendo un difetto nutrizionale dalle gravi conseguenze per le popolazioni che vivono di questo cereale (Sala, 2000). Parimenti possono essere affrontati i temi come la qualità del vino attraverso l'uso di lieviti modificati per un migliore rilascio dei terpenoidi dell'uva, per la produzione di esteri volatili o miglior produzione di glicerina, riduzione dell'acidità o dell'intorbidamento proteico (Rainieri e Pretorius, 2000).

4. BIOTECNOLOGIE E BIOSICUREZZA

Dal 1990 in UE vige un quadro normativo assai stringente per l'uso di OGM (Organismi Geneticamente Modificati) in favore della tutela della salute del consumatore e dell'ambiente. Ma già dal 1988 la Commissione Europea ha finanziato l'attività di ricerca in questo settore promuovendo studi specifici in tema di sicurezza, sia indirizzati alla messa a punto di nuovi metodi (in genere anch'essi derivati dalla tecnologia del DNA ricombinante) oppure al controllo in ambiente aperto di piante e microbi modificati. Fermi restando quindi l'applicazione sensibile del principio cautelativo (non blocco della ricerca) e di tutte le normative già esistenti, ed escludendo

frodi alimentari che purtroppo sono e saranno ancora possibili (mucca pazza e polli alla diossina, che con le biotecnologie non hanno niente da spartire), l'avvento delle moderne biotecnologie va inquadrato in quello che ormai in molti chiamano il nuovo ciclo di umanesimo, cioè l'umanesimo tecnologico.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Anonimo (2000): *Oceania*, "Premio Slow Food", C. Scaffioli, C. Kummer, Slow Food Ed. srl, Bra (Cuneo), pp. 118-127.
- HELGASON T., DANIELL T.J., HUSBAND R., FITTER A.H., YOUNG J.P. (1998): *Ploughing up the wood-wide web?*, «Nature», 394, p. 431.
- RAINIERI S., PRETORIUS I.S. (2000): *Selection and improvement of wine yeasts*, «Annals of Microbiology», 50, pp. 15-31.
- SALA F. (2000): *Biotechnologie vegetali: tra rifiuto e accettazione*, «Le Scienze», 386, pp. 34-52.
- SPALLA C. (1995): *Le biotechnologie in Italia e nel mondo*, Federchimica-Assobiotec, pp. 1-223.
- SPIERS A.J., BUCKLING A., RAINEY P.B. (2000): *The causes of "Pseudomonas" diversity*, «Microbiology», 146, pp. 2345-2350.
- The European Biotechnology Directory '99*, edited by Anita Crafts-Lighty and Ruth Williams, BioCommerce Data Ltd.
- The European Biotechnology Directory 2000*, edited by Anita Crafts-Lighty, Caroline Stupnicka and Ruth Williams, BioCommerce Data Ltd.
- TOFFANIN A., BASAGLIA M., CIARDI C., VIAN P., POVOLO S. (2000): *Energy content decrease and viable-not-culturable status induced by oxygen limitation coupled to the presence of nitrogen oxides in "Rhizobium hedysari"*, «Biol Fertil Soils», 31, pp. 484-488.

ESTER MORELLI*, DANIELA GUZZO*, SABRINA PAOLETTI*

VALORE SALUTISTICO DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE VEGETALE

INTRODUZIONE

Iddio disse ancora: «Ecco, Io vi do ogni pianta che fa seme e che è su tutta la terra e ogni albero in cui è il frutto, che produce seme: questi saranno il vostro cibo. E a tutte le bestie della terra e a tutti gli uccelli del cielo e a tutto ciò che si muove sulla terra e che ha in sé anima vivente, Io do l'erba verde per cibo» (Genesi 1:29).

Dopo la cacciata dall'Eden, l'uomo ha cercato di soddisfare i suoi fabbisogni nutrizionali con gli alimenti che aveva a disposizione, spesso condizionato dalle risorse economiche; la frugalità dei pasti giustificata con motivazioni religiose, etiche e mediche nascondeva spesso l'indigenza.

Il cibo quindi è stato, per secoli e per molti, un mezzo di sopravvivenza e l'obiettivo medico-sociale era di limitare le carenze nutrizionali; ma via via che le condizioni di vita miglioravano, lo stesso cibo diventava causa delle malattie croniche correlate agli eccessi alimentari. L'inversione di tendenza ha messo in allarme il mondo scientifico; le ricerche sulla relazione fra abitudini alimentari e patologia hanno documentato che le malattie croniche sono meno frequenti fra i vegetariani; questi forti consumatori di frutta e verdura, generalmente non fumatori e abituati all'esercizio fi-

* Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Pisa

sico, hanno un tasso di mortalità ridotto rispetto alla popolazione generale.

Si è andata quindi affermando la convinzione che una alimentazione più ricca di cibi vegetali e meno di animali fosse più salutare.

È affascinante per il medico, forse un po' meno per l'industria farmaceutica, pensare che i cibi e i loro componenti possano migliorare lo stato di salute, o ridurre il rischio di malattia. L'età media della vita si è elevata e i costi sociali delle malattie croniche sono enormi: identificare la dieta ideale che permetta a un vecchio di morire sano nel suo letto potrebbe davvero essere la sfida del terzo millennio. Il nuovo ruolo del cibo oggi è in definitiva l'affermazione dei principi di Ippocrate, che vedeva in esso la base della terapia, con un pizzico di magia per l'indubbia quota di effetto placebo; perché tutti possano condividere questo costume, è necessario abbattere le barriere di mercato e sviluppare nuove politiche per indirizzare verso un più sano stile di vita (Nestle, 1999).

CHI SONO I VEGETARIANI?

La definizione di vegetariano è piuttosto ampia, e comprende in realtà anche coloro che assumono piccole quantità di proteine "animali", con esclusione in genere della carne e del pesce; il tipo più diffuso di vegetariano, almeno nel nostro paese, è quello che inserisce nella sua alimentazione latte e derivati e, più raramente, uova.

Alcuni hanno un concetto singolare del termine vegetariano, soprattutto i ragazzi con il loro mostruoso consumo di hamburger, patatine, merendine, gelati e bevande gassate, e la pressoché totale assenza di frutta e verdura fresche.

I vegetariani hanno un minor apporto di proteine totali, e in genere di proteine animali rispetto agli onnivori, tuttavia è provato che soddisfano i LARN, che le proteine rappresentano il 10% dell'apporto energetico, e che la quota di aminoacidi essenziali è assicurata; l'apporto di grassi totali, grassi saturi e colesterolo è ridotto, mentre è aumentato quello di carboidrati complessi e fibre; in alcune condizioni particolari come la gravidanza, l'allattamento, l'accrescimento i vegetariani possono presentare qualche rischio nutrizionale, se non accuratamente monitorati (Johnston, 1999).

Ci sono molti e importanti studi su popolazioni vegetariane e non:

- a) *German Vegetarian Study*
- b) *Oxford Vegetarian Study*
- c) *Seventh-day Adventists Study*

Questi studi, fra i più famosi, hanno chiaramente dimostrato la correlazione fra le abitudini dietetiche e il rischio di malattia cardiovascolare e altre malattie croniche in migliaia di soggetti osservati per oltre dieci anni; i risultati di questi e altri studi sono stati recentemente riesaminati (Key, 1999).

a) Le abitudini vegetariane riducono il rischio di mortalità per tutti i tipi di cancro del 52% negli uomini e 26% nelle donne rispetto alla previsione. Il consumo di frutta oltre una volta al giorno, invece di 2-3 volte alla settimana, riduce del 75% il rischio di tumore polmonare, indipendentemente dalla condizione di fumatore o non; datteri, uvetta, e altra frutta secca, pomodori e fagioli mostrano significativa protezione verso il cancro della prostata. Il consumo di legumi secchi e frutta secca più di due volte alla settimana riduce dell'80% il rischio di tumore pancreatico.

I vegetariani hanno meno fattori di rischio per malattie cardiovascolari rispetto agli onnivori, perché sono più magri, normotesi e con migliore profilo lipidico.

b) I vegetariani hanno colesterolo totale e LDL più bassi degli onnivori, ma simile a coloro che mangiano il pesce. Il colesterolo totale in entrambi i sessi correla positivamente con il consumo di carne e formaggio, e inversamente con quello di fibre. La mortalità per tutte le cause è inferiore in coloro che non mangiano carne, anche normalizzata per l'abitudine al fumo, per l'indice di massa corporea, per la classe sociale.

La mortalità per cardiopatia ischemica è anche positivamente correlata con il consumo stimato di grassi animali totali, saturi, e colesterolo. Un aspetto singolare emerso da questo studio è che il rischio di appendicectomia d'urgenza aumenta del 50% per i consumatori di carne.

c) Gli Avventisti sono sia vegetariani che onnivori, e questo ha permesso di comparare due popolazioni con stile di vita simili e con diete diverse: la maggior parte non fumano sigarette e non bevono

alcool. Circa il 50% mangiano carne meno di una volta alla settimana. La mortalità è più bassa nei vegetariani e le malattie compaiono in età più avanzata.

Il consumo di “noci” (termine che comprende tutti i frutti in guscio) 5 o più volte alla settimana correla positivamente con la malattia cardiovascolare in entrambi i sessi rispetto a quelli che non ne mangiano, e minor rischio esiste per chi preferisce il pane integrale al pane bianco. Abbondante consumo di tutta la frutta o di frutta secca è associato con minor rischio di cancro del polmone, prostata, pancreas. I vegetariani hanno inoltre minor rischio di diabete mellito, ipertensione e artrite dei non vegetariani (Fraser, 1999).

I vegetariani occidentali paragonati con i non-vegetariani, hanno l'Indice di Massa Corporea ridotto di 1 kg/m^2 , il colesterolo totale ridotto di circa 0.5 mmol/l , e il 25% in meno di mortalità da cardiopatia ischemica; rischio minore generico per altre patologie tipo costipazione, diverticoli, calcoli della colecisti, appendicite. Ipotesi preliminari, che devono essere verificate, suggeriscono che la diffusione a tutta la popolazione inglese della dieta vegetariana potrebbe prevenire circa 40.000 morti cardiache all'anno (Key, 1999). Donne anziane vegetariane comparate con onnivore di pari età avevano minor incidenza di malattie cardiovascolari, però fumavano meno ed erano più magre, richiamando alla mente che la prognosi della cardiopatia ischemica è multifattoriale (Woo, 1998).

NON SOLO A TAVOLA

È quindi abbastanza documentato che gli alimenti vegetali in genere assicurano la sopravvivenza, soddisfano l'appetito e il gusto, promuovono lo stato di benessere e riducono il rischio di malattia. Il passo successivo sarà identificare quali sono i cibi e i loro componenti con effetto preventivo-terapeutico sulla salute in generale e sull'invecchiamento, delle cui modificazioni fisiche e psicologiche ignoriamo ancora molti aspetti.

Nell'area delle malattie cardiovascolari, prime fra le cause di morte, le ricerche sono dirette verso l'identificazione del tipo e, se possibile, della quantità di lipidi che possano ridurre al massimo i

rischi; qualche luce brilla già sulle fibre e la soia, ma ci sono ancora molte zone da chiarire.

La nostra conoscenza sulla relazione cibo-malattia è veramente molto approssimativa, poiché le variabili in un campo così ampio come la nutrizione umana offrono il fianco a infinite critiche. Un problema da risolvere è se l'effetto salutistico sia dovuto alla dieta in toto, o a uno dei suoi componenti; i nutrienti in realtà non possono agire da soli, perché i processi metabolici sono in continua attività (Milner, 2000).

I vegetariani in genere seguono anche uno stile di vita più sano, non fumano, praticano regolare attività fisica, ed evitano situazioni stressanti, quindi la loro minore morbidità e mortalità non può essere riferita alla sola dieta (Segasoty, 1999).

LE NEOPLASIE

Molti pazienti neoplastici si affidano a terapie alternative, in cui le diete vegetariane sono ampiamente rappresentate, segno dell'esigenza di provvedimenti terapeutici diversi da quelli della medicina tradizionale, e della fiducia che istintivamente si ripone nei prodotti della terra, Gea, madre di tutti. I rapporti fra alimentazione e cancro diventano sempre più evidenti: misure dietetiche come il ridotto apporto calorico, il minor consumo di grassi, alcool, cibi affumicati o in salamoia sono associate a minor incidenza di alcuni tumori dell'adulto, mentre le fibre hanno dimostrato un ruolo protettivo.

Non vi sono studi che ipotizzino la manipolazione dietetica come terapia di prima scelta in un tumore clinicamente evidente, anche quelli la cui incidenza è ridotta dalla modificazione del costume alimentare, mentre è indiscusso il ruolo di terapia adiuvante: una buona alimentazione può infatti migliorare la qualità della vita, e insieme alla terapia convenzionale può prolungare la sopravvivenza in alcuni pazienti selezionati. L'alimentazione "antineoplastica" in genere soddisfa i fabbisogni nutrizionali dell'adulto; i tumori dei bambini invece non sembrano influenzati dalle diete, che potrebbero anche rivelarsi nutrizionalmente inadeguate (Weitzman, 1998). Gli orientali hanno minore incidenza di tumori della prostata e forse anche di ipertrofia prostatica benigna degli occidenta-

li, e i vegetariani rispetto agli onnivori. Sia gli asiatici che i vegetariani seguono diete povere di lipidi e ricche di fibre, con una certa attività estrogenica (Denis, 1999). I fitoestrogeni sono stati identificati come agenti chemiopreventivi: le tre principali classi di fitoestrogeni sono gli isoflavonoidi, flavonoidi e lignani.

La soia, uno degli alimenti più diffusi in molti paesi dell'Asia è la maggior fonte di isoflavonoidi. Mele, cipolle e foglie di tè sono eccellenti fonti di flavonoidi; i lignani sono presenti in molti cereali, legumi, frutta e verdure; in aggiunta alla loro attività estrogenica molte di queste sostanze vegetali possono interferire con il metabolismo degli steroidi o di enzimi importanti per la proliferazione cellulare (Weitzman, 1998).

I FRUTTI IN GUSCIO

Da qualche anno la novità in nutrizione clinica è che il consumo di noci, nocciole, arachidi ecc. sembra proteggere contro la malattia cardiovascolare.

I vegetariani hanno un abbondante consumo di “noci”, che fanno parte anche dell'alimentazione normale nei paesi mediterranei e orientali. Il *The Iowa Women's Health Study* (Sabate, 1999) riporta la relazione inversa fra consumo di “noci” e mortalità coronarica; anche se il consumo di “noci” è meno frequente che in altri studi, sembra che la comparsa di cardiopatia ischemica sia ritardata di parecchi anni, quindi con un importante effetto sulla durata della vita.

Lo studio degli Avventisti riporta una relazione inversa altamente significativa fra consumo di “noci” e rischio di infarto e morte per cardiopatia ischemica in maschi, femmine e anziani, e inoltre la relazione è simile fra vegetariani e non vegetariani, e non è inficiata da morte per altre cause o dalla razza; questo dato è importante perché la cardiopatia ischemica è la più importante causa di morte in uomini e donne in post-menopausa nel mondo intero.

Le “noci” hanno un buon profilo nutrizionale, pochi grassi saturi e molti mono-polinsaturi e Vitamina C, fibre, rame e magnesio, steroli, e altro.

I risultati degli studi condotti mostrano che le “noci” hanno un

effetto ipolipemizzante superiore a quanto prevedibile per il loro basso contenuto di grassi saturi, quindi si ipotizza la presenza di sostanze fisiologicamente attive.

Finora questi frutti non erano stati considerati «buoni» perché ipercalorici; i vegetariani usano noci e legumi come parte integrante della loro alimentazione, non come uno snack occasionale.

Lo studio degli Avventisti è stato il primo da cui, inaspettatamente, è emerso il ruolo protettivo delle “noci” che è indipendente da tutti gli altri fattori di rischio; coloro che mangiano “noci” frequentemente hanno una percentuale di rischio minore sia di morbidità che di mortalità cardiaca di quelli che ne mangiano una sola volta alla settimana.

I critici avversi affermano che il beneficio è apparente, e dipende dalla dieta vegetariana; gli Avventisti invece sostengono che le “noci” hanno tutto il merito, perché l’effetto benefico si è verificato anche nei non vegetariani. La mortalità generale e la mortalità per cancro sembrano ridotte e inversamente correlata al consumo di “noci” nei bianchi, neri e anziani.

LEGUMI E SOIA

Daniele si mise in animo di non contaminarsi con le vivande del re e con il vino (...) mettici alla prova per dieci giorni, dandoci a mangiare dei legumi e da bere dell'acqua, poi si confrontino le nostre facce con quelle dei giovani che mangiano le vivande del re (...) terminati i dieci giorni le loro facce erano più grasse e più belle di tutti gli altri; da allora in poi il custode invece delle vivande e del vino dette loro soltanto legumi (Daniele 1:5-16).

Questi versi della Bibbia sottolineano ancora una volta l’indissolubilità fra dieta e stile di vita: i giovani che mangiano i legumi rifiutano la ricca mensa del re e verosimilmente anche gli eccessi mondani della vita di corte. I legumi sono presenti nell’alimentazione tradizionale di quasi tutti i paesi del mondo, e a ragione perché il profilo nutrizionale è eccellente: alto contenuto in proteine, carboidrati complessi e fibre, basso in grassi saturi, con una buona percentuale di micronutrienti.

La soia è simile dal punto di vista nutrizionale all'albumina dell'uovo, quindi può sostituire le proteine della carne, avendone tutti i vantaggi senza gli effetti nocivi.

La soia in particolare è una importante riserva di sostanze fisiologicamente attive: fitosteroli, fitati, saponine e isoflavoni. Questi ultimi meritano una particolare attenzione per il loro probabile ruolo nella prevenzione e terapia del cancro, dell'osteoporosi e di altre malattie croniche; l'area di ricerca è quindi estesa e di grande impatto sociale.

Per quanto riguarda le neoplasie l'ipotesi nasce dall'osservazione che le donne orientali hanno una bassa mortalità per carcinoma della mammella: in Giappone è circa un quarto rispetto agli Stati Uniti.

Gli isoflavoni hanno dimostrato effetti antiestrogenici su tumori sperimentali; i dati per la mammella non sono ancora conclusivi, mentre quelli per il cancro della prostata sono più incoraggianti. Gli studi "in vitro" mostrano che la genistina, uno dei principali isoflavoni della soia, inibisce la crescita di una larga serie di cellule, e inibisce l'attività metastatica delle cellule del cancro della mammella e prostata indipendentemente dagli effetti sulla crescita cellulare. Studi recenti riportano che la genistina aumenta in vitro la concentrazione del Transforming Growth Factor β (TGF β), particolarmente importante per l'inibizione della crescita di cellule cancerogene (Messina, 1999).

La somiglianza della struttura chimica tra gli isoflavoni della soia e l'isoflavone sintetico, che pare aumentare la densità minerale dell'osso in donne in post-menopausa, suggerisce che gli isoflavoni possono ridurre il rischio di osteoporosi. Questa patologia coinvolge una popolazione sempre più vasta considerando che l'età media della vita si è così elevata, quindi il consumo di fagioli in genere e di soia in particolare deve essere fortemente incoraggiato.

CEREALI E FIBRE

Il pane, la pasta e il riso sono sulle tavole di tutto il mondo da sempre; fino a poco tempo fa i cereali venivano definiti «buoni» soltanto perché poveri di lipidi e ricchi di carboidrati complessi. I vegetariani preferiscono i cereali integrali, quindi con più fibre; la correlazione inversa fra apporto di fibra e diabete ha evidenziato l'importan-

tante ruolo terapeutico dei cereali. L'associazione di una dieta povera in fibre con cibi ad alto indice glicemico è estremamente pericolosa; i cereali sono a basso indice glicemico e le loro fibre sono le più importanti per ridurre i fattori di rischio per le complicanze di questa importante malattia.

Le fibre riducono il livello di colesterolo, quindi sono utili nelle malattie cardiovascolari; alterano il metabolismo degli acidi biliari, aumentano la massa fecale e ne accelerano il transito per cui hanno un importante ruolo preventivo-terapeutico anche in tutte le patologie del colon. I cereali integrali conservano vitamine e altri oligoelementi che non vengono aggiunti ai cibi raffinati; i vegetariani, i quali preferiscono cibi non manipolati, hanno un apporto superiore di questi micronutrienti.

ALIMENTAZIONE: UNA STORIA ANCORA TUTTA DA VIVERE

I vegetariani sembrano godere di buona salute, con indice di morbidità e mortalità in genere ridotta, soprattutto per neoplasie e malattie cardiovascolari, che sono in realtà le principali cause di morte nel mondo occidentale.

Gli interrogativi che sorgono spontanei sono se questo stato di benessere sia legato anche a fattori non dietetici propri dei vegetariani, come l'astensione dal fumo e la regolare attività fisica, oppure siano il risultato del ridotto apporto di sostanze nocive contenute nei cibi animali, o se piuttosto i cibi vegetali contengano sostanze favorevoli per la salute (Willett, 1999). La risposta è affermativa a tutti i tre quesiti. L'abitudine a non fumare contribuisce senz'altro alla ridotta incidenza di malattie cardiovascolari e di molti tumori; il minor consumo di carne è un fattore protettivo, ma certo non l'unico o il principale, e infine le evidenze cliniche confermano l'importanza di abbondante consumo di frutta e verdura fresche, cereali e legumi, e regolare consumo di lipidi vegetali; è importante quindi identificare le sostanze fisiologicamente attive per minimizzarne la perdita durante i procedimenti industriali.

La dieta nel suo insieme, l'astensione dagli eccessi voluttuari e la modificazione dello stile di vita sono l'asso nella manica del nostro futuro.

BIBLIOGRAFIA

- APPLEBY P.N., THOROGOOD M., MANN J.I., KEY T.J. (1999): *The Oxford Vegetarian Study: an overview*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70 (3 suppl.), pp. 525S-531S.
- DENIS L, MORTON M.S. (1999): *Diet and its preventive role in prostatic disease*, «Eur. Urol.», 35 (5-6), pp. 377-387.
- FRASER G.E. (1999): *Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all-cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-day Adventists*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70 (3 suppl.), pp. 532S-538S.
- FRASER G.E. (1999): *Diet as primordial prevention in Seventh-Day Adventists*, «Prev. Med», 29 (6 Pt 2), S18.
- JOHNSTON P.K. (1999): *Nutritional implications of vegetarian diets*, in *Modern Nutrition in Health and Disease*, eds Shils M.E., Olson J.A., Shike M., Ross A.C., Williams & Wilkins, Baltimore, USA, pp. 1755-1767.
- KEY T.J., DAVEY G.K., APPLEBY P.N. (1999): *Health benefits of a vegetarian diet*, «Proc. Nutr. Soc.», 58 (2), pp. 271-275.
- KRIS-ETHERTON P.M., YU-POTH S., SABATÉ J., RATCLIFFE H.E., ZHAO G., ETHERTON T.D. (1999): *Nuts and their bioactive constituents other factors that affect disease risk*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70 (suppl.), 504S-11S.
- KUSHI L.H., MEYER K.A., JACOBS D.R. (1999): *Cereals, legumes, and chronic disease risk reduction: evidence from epidemiologic studies*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70 (suppl.), 451S-8S.
- MESSINA M.J. (1999): *Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70 (suppl.), 439S-50S.
- NESTLE M. (1999): *Animal v. plant foods in human diets and health: is the historical record unequivocal?*, «Proc. Nutr. Soc.», 58 (2), pp. 211-218.
- SABATE J. (1999): *Nut consumption, vegetarian diets, ischemic heart disease risk, and all-cause mortality: evidence from epidemiologic studies*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70 (3 suppl.), 500S-503S.
- SEGASOTHY M., PHILLIPS P.A. (1999): *Vegetarian diet: panacea for modern lifestyle diseases?*, «QJM», 92 (9), pp. 531-544.
- WEITZMAN S. (1998): *Alternative nutritional cancer therapies*, «Int. J. Cancer. Suppl.», 11, pp. 69-72.
- WILLETT W.C. (1999): *Convergence of philosophy and science: the third international congress on vegetarian nutrition*, «Am. J. Clin. Nutr.», 70 (3 suppl.), pp. 434S-438S.
- WOO J., KWOK T., HO S.C., SHAM A., LAU E. (1998): *Nutritional status of elderly Chinese vegetarians*, «Age Ageing», 27 (4), pp. 455-461.

Finito di stampare
dalla Tipografia ABC
nel mese di aprile 2001

ISSN 0367/4134

Direttore responsabile: prof. Sergio Orsi
Autorizzazione del Tribunale di Firenze n° 1056 del 30 Aprile 1956

