



# Alimenti funzionali: valorizzazione della risorsa e caratterizzazione nutraceutica

Un alimento è «funzionale» quando, oltre i normali effetti nutrizionali, produce effetti positivi su una o più funzioni specifiche dell'organismo, determina il miglioramento dello stato di salute, riduce il rischio di malattia, favorendo il benessere individuale

*DOI 10.12910/EAI2017-043*

*di Barbara Benassi, Silvia Procacci, Chiara Santi, Francesca Pacchierotti e Loretta Bacchetta, ENEA*

L'attenzione della Ricerca Scientifica, della Filiera Agroalimentare e della Salute Pubblica è da lungo tempo rivolta al cibo funzionale, risorsa naturale e facilmente disponibile, in grado di garantire benefici effetti sulla salute umana attraverso la dieta quotidiana. Il forte interesse dei consumatori per il rapporto tra alimentazione e salute ha favorito la comparsa di numerosi prodotti alimentari con proprietà benefiche; è emersa di conseguenza la necessità di regolamentarne la produzione e commercializzazione mediante la definizione di standard e linee guida. Il termine "alimento funzionale" è nato in Giappone negli anni 80; in tale contesto, i suddetti alimenti sono stati classificati sostanzialmente in due gruppi: utilizzabili per la tutela della salute e indicati per la riduzione del rischio di insorgenza di patologie.

Anche negli Stati Uniti, nel 1993 la Food and Drug Administration (FDA) ha approvato, sulla base di evidenze scientifiche, gli *health claims* relativi alla capacità di riduzione del rischio di malattia di determinati alimenti.

In Europa, nell'ambito del Progetto Fufose (Functional Food Science in Europe) del 1999, l'EUFIC (European Food Information Council) ha elaborato una definizione di alimento funzionale ancora oggi ritenuta esaustiva: *Un alimento può essere considerato «funzionale» se dimostra in maniera soddisfacente di avere effetti positivi su una o più funzioni specifiche dell'organismo, che vadano oltre gli effetti nutrizionali normali, in modo tale che sia rilevante per il miglioramento dello stato di salute e di benessere e/o per la riduzione del rischio di malattia. Gli alimenti funzionali devono comunque restare*

*«alimenti» e dimostrare la loro efficacia nelle quantità normalmente consumate nella dieta. Gli alimenti funzionali non sono pillole o pastiglie, ma prodotti che rientrano nelle normali abitudini alimentari.*

Il Regolamento CE n. 1924/2006 e successive modifiche e il Regolamento UE n. 432/2012 sono stati redatti per disciplinare l'utilizzo in etichetta delle indicazioni salutistiche e nutrizionali approvate, previa evidenza scientifica, dall'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA).

L'EFSA è chiamato a esprimere il proprio Parere nell'autorizzazione delle richieste di *health claims* per le diverse molecole bioattive, i Pareri dell'EFSA sono contenuti nel Registro Europeo ([http://ec.europa.eu/food/safety/labelling\\_nutrition/claims/register/public/?event=search](http://ec.europa.eu/food/safety/labelling_nutrition/claims/register/public/?event=search))

pubblicato on line nel maggio 2012. Tale registro è in continua evoluzione, in quanto viene aggiornato ogni qualvolta l'Autorità esprima nuovi pareri favorevoli o contrari.

Rientrano nella categoria dei *functional foods* cibi che contengono determinati minerali, vitamine, polifenoli, acidi grassi o fibre alimentari, ma anche alimenti addizionati con sostanze biologicamente attive. Tali molecole possono essere classificate in base al loro ruolo funzionale nella prevenzione di diverse malattie e/o favorendo il benessere individuale [1].

### **La caratterizzazione molecolare dei cibi funzionali per la prevenzione delle patologie croniche**

L'alimentazione rappresenta pertanto una componente imprescindibile nell'ambito delle strategie atte a proteggere l'organismo nei confronti di

danni indotti da stile di vita errati e dall'esposizione a stress ambientali, due tra i principali fattori di rischio alla base dell'insorgenza di patologie cronico-degenerative. Diverse componenti svolgono un ruolo chiave nell'eziopatogenesi di queste malattie, ma l'eccesso di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) (stress ossidativo) associato a un cronico stato infiammatorio, e le variazioni epigenetiche nei tessuti bersaglio rappresentano due meccanismi molecolari comuni a numerosi stati degenerativi tra cui malattie cardiovascolari, patologie neuro-degenerative e neoplastiche. Agendo a livello di questi due meccanismi, il cibo può giocare un ruolo determinante nella protezione e nella prevenzione di patologie, anche e soprattutto se integrato in un corretto stile alimentare a partire dalla giovane età dell'individuo. Numerosi studi hanno infatti dimostrato come le variazioni epigenetiche indotte dall'ambiente in senso lato durante l'infanzia, comprese le abitudini alimentari, siano determinanti nel caratterizzare la predisposizione, in età adulta, a specifiche malattie degenerative, quali ad esempio l'Alzheimer.

Le modificazioni epigenetiche sono variazioni reversibili ed ereditarie dell'espressione genica che non implicano cambiamenti nella sequenza del DNA. Esse includono metilazione del DNA, modificazioni post-traduzionali a carico degli istoni, e regolazione dell'espressione genica via RNA non codificanti, tra cui i microRNA [2]. L'epigenetica gioca pertanto un ruolo fondamentale nel mantenimento della stabilità genomica, e assicura una pronta risposta a stimoli sia fisiologici che ambientali. Diversi studi sperimentali hanno dimostrato come stress ossidativo e meccanismi epigenetici possano agi-

re in sinergia. Lo stress ossidativo è in grado di intervenire nei meccanismi di silenziamento genico mediato dai microRNA, agendo sia a monte (biogenesi dei microRNA), che a valle della loro azione, interferendo con l'attività del complesso proteico RISC (*RNA-induced silencing complex*). Ad esempio, l'oncogene RAS induce un processo di senescenza precoce in fibroblasti umani stimolando la produzione di ROS che a loro volta regolano la proteina AGO2 (Argonate 2), una componente fondamentale del complesso RISC. Allo stesso tempo, i microRNA possono modulare l'espressione di geni coinvolti nella produzione di ROS, contribuendo all'amplificazione dello stress ossidativo e dei danni ossidativi da esso indotti. Anche nell'ischemia cerebrale è stata documentato il *cross-talk* tra disequilibrio redox a livello mitocondriale e alterata attività degli enzimi che controllano la struttura cromatinica attraverso modificazioni degli istoni e metilazione del DNA, a ulteriore testimonianza dell'attiva "collaborazione" molecolare tra stato redox e plasticità epigenetica.

Sulla base di questa attività sinergica, numerosi studi hanno caratterizzato le componenti attive degli alimenti dal punto di vista funzionale, in termini sia di proprietà antiossidanti/anti-infiammatorie e, più recentemente, di modulatori epigenetici. Ne sono un chiaro esempio i polifenoli, una famiglia di metaboliti secondari presenti in foglie, bacche e frutti di numerose piante quali tè verde, fave del cacao, uva e frutta secca. Ad essi sono state attribuite un ampio spettro di proprietà biologiche non solo anti-ossidanti/anti-infiammatorie ma anche anti-virali/anti-batteriche, nonché anti-trombogeniche e anti-aterogeniche che li hanno resi dei componenti chiave negli studi

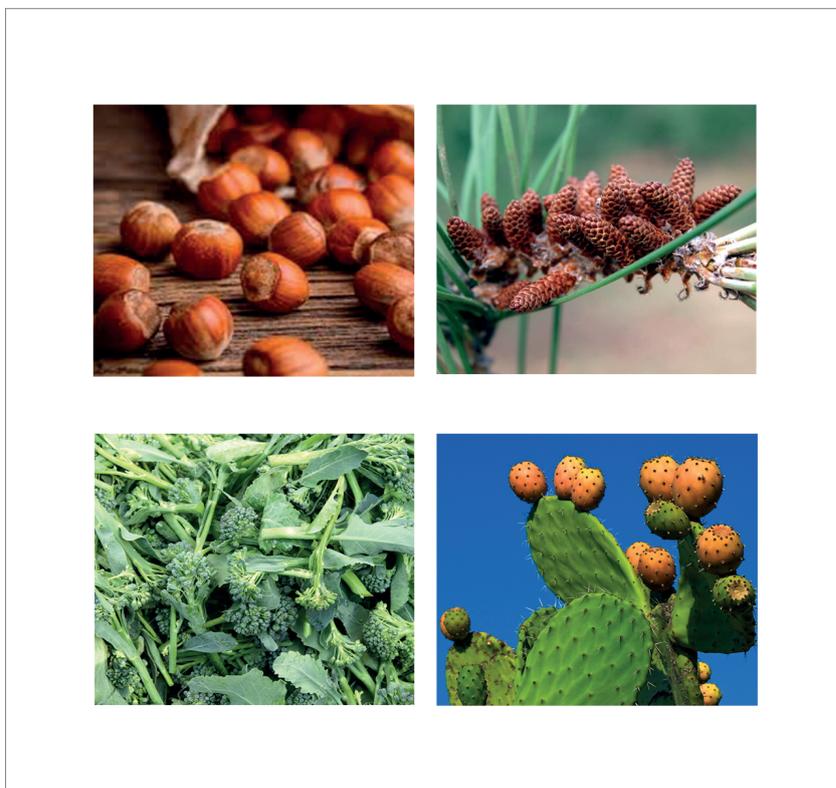


Fig. 1 Specie in studio nei programmi di caratterizzazione nutraceutica presso il Centro Ricerche Casaccia dell'ENEA

epidemiologici sulla prevenzione di patologie cronic-degenerative, soprattutto cardiovascolari.

A tal proposito gli studi sulla dieta mediterranea – un regime alimentare ricco di fonti nobili di polifenoli quali olio extra vergine di oliva, legumi, cereali oltre a frutta e verdura – hanno evidenziato il ruolo protettivo di tale stile alimentare nei confronti di patologie infiammatorie croniche e dell'insorgenza delle placche aterosclerotiche, e documentato un potente effetto *anti-aging*. Tale ruolo protettivo è stato recentemente messo in relazione con la capacità dei polifenoli di modulare la macchina epigenetica: molecole polifenoliche quali quercetina, epigallocatechina, e soprattutto curcumina e resveratrolo, sono in grado di agire

a livello della cromatina istonica e della metilazione del DNA, interferendo o stimolando l'attività degli enzimi coinvolti nel rimodellamento cromatinico e/o nel trasferimento di gruppi metilici alla citosina (DNA metil-transferasi). È stata inoltre documentata la capacità di queste molecole di regolare l'espressione e l'attività di specifici microRNA coinvolti nella patogenesi delle malattie cardiovascolari e cronic-degenerative, aprendo un nuovo scenario nella definizione della capacità funzionale degli alimenti ricchi di polifenoli.

### Categorie nutraceutiche e funzionali

La presenza e la disponibilità delle sostanze fitochimiche negli alimenti



è funzione di alcuni fattori di criticità della filiera produttiva che possiamo distinguere in: fattori intrinseci (con riferimento alla variabilità genetica intraspecifica della specie) e fattori edafici (che riguardano l'effetto di condizioni pedo-climatiche e processi tecnologici o di trasformazione subito dai prodotti vegetali, artigianali o industriali). Alcuni di questi trattamenti possono essere responsabili di diminuzioni, incrementi o cambiamenti nel contenuto e nell'attività delle biomolecole funzionali espresse nel genotipo.

L'esperienza pluriennale di ENEA-Laboratorio BIOPRO nella caratterizzazione biochimica e molecolare delle nocciole (*Corylus avellana*) (Figura 1), tipica produzione del Mediterraneo il cui uso è documentato fin dal paleolitico, rappresenta un valido caso studio. Tra le differenti specie di frutta secca, le nocciole sono caratterizzate da un elevato contenuto in acidi grassi insaturi (circa il 60% costituito prevalentemente da acido oleico 70-80%) vitamina E,  $\alpha$ -tocoferolo (potente *scavenger*), e folati (113  $\mu\text{g}/100\text{gr}$ ), fattori chiave nella metilazione del DNA. Lo studio di 75 cultivars presenti nelle collezioni Europee, ha permesso di analizzare la variabilità genetica per questi caratteri, e di sviluppare un metodo chemiometrico basato sull'analisi fattoriale e cluster, in grado di identificare genotipi ad alto contenuto di oleico e  $\alpha$ -tocoferolo; tale studio ha anche evidenziato la variabilità dell'espressione del gene FAD2 e dell'attività della delta-desaturasi coinvolti nel processo di irrancidimento. In aggiunta agli antiossidanti endogeni, è noto che fitomolecole, come i polifenoli, contenuti negli alimenti possono contribuire all'attività an-

Fasanese	104.57 b
Cima di rapa 120	3.14 g
Cima di rapa 90	53.68 cd
Cima di rapa 40	0,59 f
Foglie d'Ulivo	37.81 de
Fasano Cima Grande (40gg)	1.34 g
Fasano Cima Grande (60gg)	15.06 efg
Natalina Cima Grande (90gg)	8.66 fg
Marzatica sel. Murgie (120gg)	252.57 a
Broccoletto Anguillara	3.86 g
Sessantina	19.48 ef
Quarantina Cima grossa	5.28 g
Novantina	14.43 efg
Cima grossa ecotipo Altamura	70.10 c

Tab. 1 Contenuto in sulforafano ( $\mu\text{g}/\text{g}$  peso secco) in ecotipi locali di *Brassica rapa* L.

tiossidante sia come composti attivi redox che come *scavenger*, in grado di neutralizzare radicali liberi o di attivare l'espressione genica, anche via regolazione epigenetica, di antiossidanti endogeni. Nelle nocciole abbiamo identificato 18 composti fenolici di cui 10 flavonoidi e 7 fenolici e 1 diidrocalcone che variano in funzione della cultivars e come conseguenza delle condizioni pedo-climatiche e delle tecniche di coltivazione. Un componente chiave è l'(-)-epigallocatechina-3-gallate, capace di interagire con l'attività enzimatica della DNA metil-transferasi. Nei nostri studi abbiamo rilevato come una parte importante dei polifenoli sia contenuta nel perisperma, il sottoprodotto della tecnica di tostatura;

la nocciola fresca ha pertanto una maggiore capacità antiossidante rispetto al prodotto tostato. Altri componenti di interesse funzionale nelle nocciole sono rappresentati dai minerali, per il ruolo in diverse attività metaboliche, e dalle proteine, come la cardio-protettiva arginina; le nostre attività di ricerca condotte su 92 varietà hanno dimostrato l'ampia variabilità del germoplasma analizzato: il contenuto di potassio è variato da 440,5 a 828,4 su mg 100g di peso secco (ps); il calcio da 238,8 a 552,0 mg su 100g ps; il fosforo da 172,0 a 460,9 mg su 100 g ps; il magnesio da 121,3 a 211,0 mg su 100g ps mentre il contenuto proteico è variato da 8 a 19,7 mg/100g DW con effetto significativo degli anni di coltivazio-

ne e delle aree di produzione [3]. Sulla base di queste conoscenze, e dei diversi studi che evidenziano il ruolo funzionale delle nocciole a carico del profilo lipidico ematico umano, è stato condotto, in ENEA-Casaccia in collaborazione con l'Università di Tor Vergata - Dipartimento di Biomedicina e Prevenzione, uno studio multidisciplinare finanziato dal Progetto Bioservice della Regione Lazio (LR 13/2008 PROT.FILAS-RU-2014-1168-2017) in 24 volontari sani.

Il disegno sperimentale ha previsto una dieta arricchita con nocciole (40 g al giorno) per sei settimane, e un monitoraggio dell'assetto ematico al tempo iniziale (T0), alla fine della dieta (T1) e dopo sei settimane dalla dieta stessa (T2) su variabili di routine, per stabilire lo stato di salute generale [4]. Il punto di forza del lavoro è stato infatti la valutazione di un effetto complessivo che mira ad una visione olistica della problematica dieta/salute. I risultati hanno confermato l'effetto di molecole bioattive del nocciolo sul profilo lipidico dei volontari con una riduzione significativa del colesterolo totale e dell'LDL ed aumento del rapporto HDL/LDL (Figura 2).

Sono stati inoltre scoperti altri effetti del tutto innovativi, quali la diminu-

zione significativa dell'acido urico e della creatinemia; i risultati dopo 6 settimane dalla dieta arricchita hanno dimostrato la reversibilità degli effetti benefici verso i valori iniziali. Inoltre, benché l'analisi statistica non abbia evidenziato marcate differenze significative, questo studio ha messo in evidenza come i benefici sulle LDL varino a seconda della condizione iniziale: nelle donne, in chi è più giovane e in chi parte con un valore di LDL minore di 130, i benefici sono più marcati [4].

Studi analoghi sono stati portati avanti in altre specie di frutta secca come il mandorlo (*Prunus dulci*), e sono in corso su pinolo (*Pinus pinea*); su altre specie come *Brassica rapa*, sono stati effettuati recuperi e valorizzazione del germoplasma locale con la determinazione del contenuto in sulforafano, molecola funzionale con proprietà antiinfiammatorie, antibatteriche e antitumorali (Tabella 1). Nei nostri laboratori è in corso lo studio su *Opuntia ficus indica* con molecole funzionali implicate in processi di detossificazione dell'organismo, con proprietà antiiperglicemiche e di riduzione del colesterolo (Figura 1).

Le piante spontanee edibili sono state oggetto di una progettualità in collaborazione con il CNR di Mon-

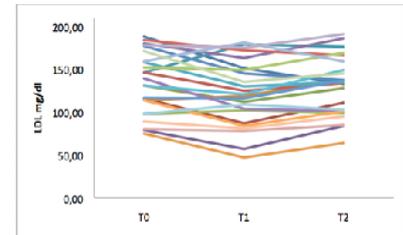


Fig. 2 Curva di tendenza dei valori di LDL misurati nell'arco di tempo sperimentale  
Fonte: Santi et al., 2017

terondo-Istituto di Biologia Cellulare e Neurologia perché ritenute un prezioso componente della dieta tradizionale, salutare, un concentrato di biomolecole antiossidanti [5].

## Conclusioni

I cibi funzionali rappresentano un mercato in continua evoluzione, un'opportunità per il settore agroalimentare. Il supporto finanziario alla ricerca di base, all'innovazione di processo e di prodotto sono fattori determinanti per una maggiore competitività dell'industria alimentare. Il link dei concetti 'salute, tecnologia e nutrizione' ai fini dello sviluppo di alimenti ad alta valenza nutraceutica, in filiere dedicate, è possibile se si promuove il continuo dialogo ed interazione tra specialisti del settore, consumatori, industria.

## BIBLIOGRAFIA

1. Polito P, Procacci S, Brunori A, Vitali F (2013) Alimenti funzionali: quadro normativo, opportunità per l'industria agroalimentare e per la ricerca. Rapporto tecnico 2013 ENEA RT/14/ENEA
2. Benassi B, Flavin R, Marchionni L, Zanata S, Pan Y, Chowdhury D, et al. (2012) MYC is activated by USP2a-mediated modulation of microRNAs in prostate cancer. *Cancer Discov* 2(3):236-47
3. Bacchetta L, Rovira M, Tronci C, Aramini M, Drogoudi P, Silva AP, Solar A, Avanzato D, Botta R, Valentini N, Boccacci P (2015). A multidisciplinary approach to enhance the conservation and use of hazelnut genetic resources. *Genet Resour Crop Evol* 62:649–663
4. Santi C, Giorni A, Toriani Terenzi C, Altavista P, Bacchetta L (2017) Daily Hazelnut Intake Exerts Multiple Reversible Effects on Plasma Profile of Healthy Subjects. *Food and Nutrition Science* 8(6): 633-646
5. Bacchetta L, Visioli F, Cappelli G, Caruso E, Martin G, Nemeth E, Bacchetta G, Bedini G, Wezel A, van Asseldonk T, van Raamsdonk L, Mariani F, on behalf of the Eatwild Consortium (2016) A manifesto for the valorization of wild edible plants. *I J. of Ethnopharmacology* 191:180-187