

Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale

Brunella CARRATÙ e Elisabetta SANZINI

*Centro Nazionale per la Qualità degli Alimenti e per i Rischi Alimentari,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto. - I composti fitochimici comprendono un insieme estremamente disomogeneo di sostanze per i quali studi recenti hanno dimostrato un'azione protettiva sulla salute umana se assunti a livelli significativi. Tali sostanze esercitano funzioni biologiche, quali l'attività antiossidante, la modulazione degli enzimi detossificanti, la stimolazione del sistema immunitario, la riduzione dell'aggregazione piastrinica e la modulazione del metabolismo ormonale. Vengono trattati i glucosinolati e la numerosissima classe dei polifenoli, di cui i flavonoidi rappresentano la categoria principale. Particolare attenzione è stata data agli isoflavoni ora oggetto di interesse per la loro debole attività estrogenica. Il contenuto e la disponibilità delle sostanze fitochimiche è in funzione delle condizioni ambientali e del trattamento subito dagli alimenti di origine vegetale, sia esso domestico artigianale o industriale. La biodisponibilità delle sostanze fitochimiche può essere influenzata da fattori intrinseci all'alimento e all'organismo umano; i composti generalmente vengono poco assorbiti, largamente metabolizzati e rapidamente eliminati. Per tale motivo è consigliabile che la loro assunzione sia costante nel tempo affinché rimangano alte le concentrazioni plasmatiche dei relativi metaboliti.

Parole chiave: alimenti vegetali, sostanze fitochimiche, classificazione, glucosinolati, polifenoli, biodisponibilità,

Summary (*Biologically-active phytochemicals in vegetable food*). - Phytochemicals constitute a heterogeneous group of substances and evidence for their role in the protective effect on human health, when their dietary intake is significant, is emerging. These compounds have biological properties as antioxidant activity, modulation of detoxification enzymes, stimulation of the immune system, decrease of platelet aggregation and modulation of hormone metabolism. Glucosinolates and widely group of polyphenols, including the main category of flavonoids, are examined. Since their weak estrogenic activity is of interest at present, isoflavones are discussed at length. Numerous factors affect the phytochemical content and availability in plants; these factors include environmental conditions and industrial or domestic processing. The bioavailability of phytochemicals can be influenced by intrinsic factors in food and/or in human, in general the substances are little adsorbed, largely metabolized and rapidly eliminated. For this reason it is advisable that their consumption is constant in the time to maintain high concentrations of metabolites in the blood

Key words: edible plants, phytochemicals, classification, glucosinolate, polyphenols, bioavailability.

Introduzione

L'uomo ingerisce quotidianamente con la dieta circa 500 g di composti chimici di cui la maggior parte sono componenti di piante o di vegetali in genere. Oltre le ben note proteine, grassi, carboidrati e i micronutrienti essenziali quali minerali e vitamine, il mondo vegetale fornisce fenoli, terpeni, terpenoidi, alcaloidi, purine, pirimidine, acidi nucleici, steroidi, ecc. che esercitano potenti attività biologiche. Tali componenti vengono denominati genericamente sostanze fitochimiche (*phytochemicals*) e comprendono decine di migliaia di composti appartenenti a

svariate classi chimiche e a famiglie botaniche anche estremamente differenti. Parecchi composti esercitano un'attività biologica così marcata da poterla definire farmacologica, mentre altri possono produrre effetti avversi (come il beta-sitosterolo) o effetti tossici (digossina) verso i quali il corpo umano ha spesso sviluppato meccanismi di difesa (blocco dell'assorbimento del beta-sitosterolo) [1].

Studi epidemiologici hanno accertato che diete ricche di alimenti di origine vegetale contribuiscono a prevenire molte patologie, quali malattie cardiovascolari, malattie metaboliche, malattie neurovegetative e patologie infiammatorie [2-6].

Un largo spettro di composti fitochimici sono stati evidenziati e studiati sulla base della struttura chimica, dell'attività *in vitro* o della evidenza epidemiologica; la farmacocinetica è stata invece a lungo ignorata: un composto chimico giudicato interessante per una certa attività biologica *in vitro* potrebbe *in vivo* essere non biodisponibile o essere metabolizzato velocemente e, quindi, inefficace. Un'indagine completa dovrebbe includere lo studio dell'assorbimento, della distribuzione, del metabolismo, dell'emivita effettiva, del meccanismo di attività, dell'inattivazione, dell'escrezione; sfortunatamente solo una minima parte di composti con una accertata attività biologica è stata adeguatamente studiata da questo punto di vista.

I composti fitochimici sono un insieme estremamente disomogeneo accomunati comunque dalle seguenti caratteristiche: sono peculiari del regno vegetale; sono sostanze organiche generalmente a basso peso molecolare che si distinguono da quelli ad alto peso molecolare, come proteine, acidi nucleici quantitativamente prevalenti; non sono sintetizzate dall'uomo; non sono indispensabili; hanno azione spesso protettiva sulla salute umana se assunte a livelli significativi; hanno meccanismi di azione complementari e sovrapponibili.

Tali sostanze esercitano diverse funzioni biologiche quali l'attività antiossidante [5, 7-10], la modulazione degli enzimi detossificanti [6, 11], la stimolazione del sistema immunitario [12], la riduzione dell'aggregazione piastrinica [13, 14], la modulazione del metabolismo ormonale [15, 16], la riduzione della pressione sanguigna, l'attività antibatterica e antivirale [17-19].

In questo articolo vengono trattate alcune problematiche relative ai principali composti fitochimici che sono assunti quotidianamente con la dieta e per i quali studi recenti hanno provato una attività benefica sulla salute umana.

Classificazione

Le piante sintetizzano 80 000 dei 100 000 metaboliti secondari distribuiti sul pianeta. Tale miriade di composti può essere suddivisa in parecchi gruppi contenenti ognuno anche migliaia di composti chimici distinti. Alcune sostanze sono proprie di quella specie o genere, altre sono ubiquitarie per cui risulta difficile un criterio di classificazione. La Fig. 1 mostra una schematizzazione desunta sulla base della letteratura recente a questo proposito.

Qui di seguito vengono presi in esame i gruppi di composti ritenuti attualmente più significativi o emergenti.

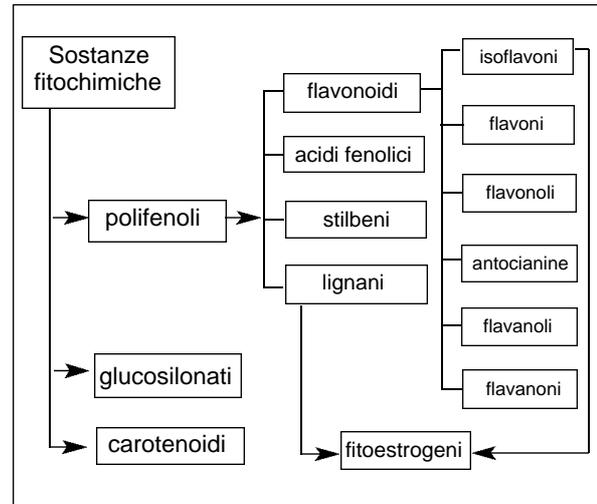


Fig. 1. - Suddivisione delle sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale.

Polifenoli

Nel mondo vegetale i polifenoli sono composti ubiquitari e fondamentali nella fisiologia della pianta, contribuendo alla resistenza nei confronti di microrganismi e insetti, alla pigmentazione e alle caratteristiche organolettiche. È noto infatti che frutta e vegetali necessitano di una molteplicità di composti per preservare la loro integrità dovuta alla continua esposizione a tensioni ambientali, compresi i raggi UV e le alte temperature. Questi fattori stimolano la sintesi di composti protettivi come le antocianine; proprio per la particolare combinazione di calore e luce ne sono ad esempio particolarmente ricchi vegetali e frutta tipici dell'area mediterranea.

Il termine polifenoli include parecchie classi di composti con una struttura chimica comune: sono derivati del benzene con uno o più gruppi idrossilici associati all'anello [20]. Questa struttura consente a tali composti di funzionare attivamente da: *scavenger* per stabilizzare i radicali liberi, agenti riducenti, chelanti di metalli pro-ossidanti e *quencher* della formazione di ossigeno singoletto [21-23].

I polifenoli costituiscono i principi attivi di molte piante medicinali e i meccanismi d'azione responsabili della loro attività farmacologica non sono ancora completamente conosciuti.

Generalmente influenzano la qualità, l'accettabilità e la stabilità dell'alimento agendo come aromatizzanti, coloranti e antiossidanti. Si stima che l'assunzione media giornaliera della popolazione occidentale con la dieta sia di circa 1 g. Tuttavia questo dato è influenzato sia dal metodo utilizzato per la loro determinazione sia dalla disponibilità di banche dati attendibili [20].

Le principali classi di polifenoli vengono distinte in flavonoidi, acidi fenolici, stilbeni e lignani in funzione del numero degli anelli fenolici e degli elementi strutturali che legano tali anelli.

Flavonoidi

Costituiscono una categoria di sostanze polifunzionali ad elevata bioattività, che comprende più di 5000 composti. Possiedono proprietà biochimiche di interesse funzionale nel campo nutrizionale e terapeutico; per citare alcuni esempi, rutina, diosmina ed esperidina sono presenti in alcune specialità farmaceutiche; i flavonoidi del ginkgo biloba, biancospino e vite rossa sono invece i componenti principali di molti estratti fitoterapici; la quercetina nel tè, il kaempferolo nei broccoli e cavoli, la mericitina nell'uva e nel mirtillo sono solo alcuni dei numerosi flavonoidi presenti negli alimenti.

È stato dimostrato che i flavonoidi hanno un ruolo importante nella cardioprotezione, dal momento che molti studi riportano che diete ricche in flavonoidi riducono il rischio di malattie cardiovascolari. Inoltre, nella neuroprotezione, frutti ricchi di antocianine svolgono un ruolo protettivo contro il declino della funzione cognitiva legata all'invecchiamento e nella chemioprotezione essi aumentano l'attività degli enzimi detossificanti della fase II.

Dal punto di vista chimico sono difenilpropani distinti in varie classi a seconda del grado di ossidazione dell'anello eterociclico. Nella Fig. 2 vengono rappresentate le strutture chimiche dei principali componenti; il numero e le specifiche posizioni dei gruppi OH o la natura dei gruppi funzionali determinano la funzione dei flavonoidi come agenti antiossidanti, agenti antinfiammatori, agenti citotossici e agenti mutageni *in vitro* o *in vivo*, a dimostrazione di come piccole differenze di struttura determinano grandi diversità nelle attività biologiche.

Nella Tab. 1 è inoltre riportata la classificazione nei sottogruppi con le relative sostanze più rappresentative.

La categoria degli isoflavoni ha ricevuto recentemente particolare attenzione per le sue peculiari proprietà; questi composti vengono anche inclusi nel gruppo di sostanze vegetali ad attività estrogenica denominate fitoestrogeni.

Fitoestrogeni

Sono sostanze ubiquitarie di origine vegetale che hanno proprietà ormonali di tipo estrogenico e sono state identificate in oltre 300 piante delle quali solo poche sono commestibili. Si trovano in concentrazioni elevate nella soia e in quantità inferiori in molti tipi di frutta, verdure e cereali integrali. Negli alimenti di origine vegetale sono presenti i fitoestrogeni precursori delle forme attive che, dopo la loro ingestione, devono essere metabolizzati ed attivati da parte della flora batterica intestinale per essere assorbiti ed essere biologicamente attivi [24].

Oltre agli isoflavoni tra i fitoestrogeni sono compresi altre due categorie di composti: i lignani e i cumestani; i primi costituiscono la principale fonte di fitoestrogeni per la popolazione occidentale. Sono presenti in quasi tutti i cereali (integrali) e in gran parte delle sostanze vegetali, con più alte concentrazioni nei semi di sesamo e di lino. I cumestani invece si formano prevalentemente durante i processi di germinazione. Il cumestrololo è il principale composto presente nei germogli di fagioli, nei cavoletti di Bruxelles e nei semi di girasole [24, 25].

Isoflavoni

Le evidenze epidemiologiche e sperimentali sugli effetti benefici degli isoflavoni si riferiscono soprattutto alle seguenti condizioni: patologie cardiovascolari, ipercolesterolemia, sindrome premenstruale,

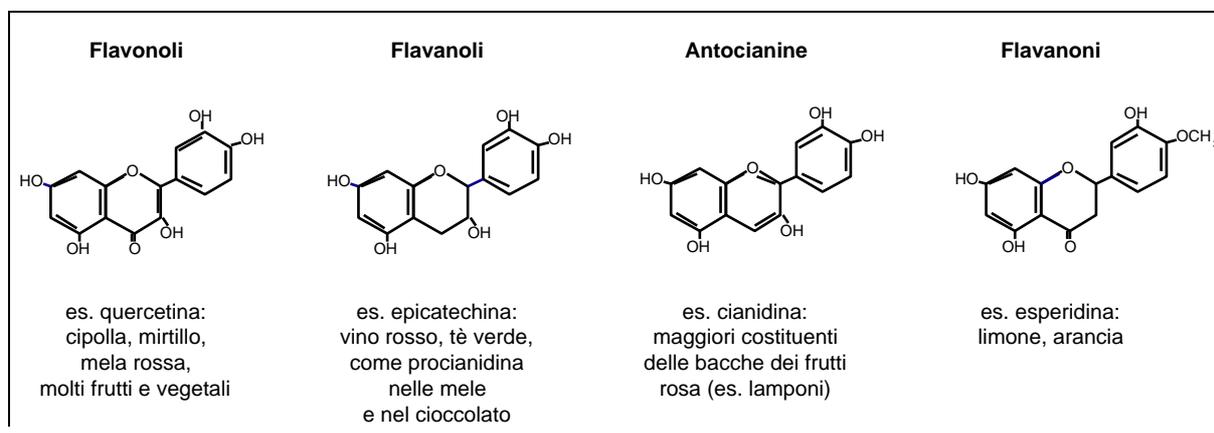


Fig. 2. - Strutture chimiche dei principali componenti dei flavonoidi.

Tabella 1. - Suddivisione dei flavonoidi in classi e relativa indicazione delle sostanze più rappresentative

Classe	Sostanza	Alimento
Isoflavoni	Genisteina Daidzeina	Soia Soia
Flavoni	Rutina Luteolina Crisina Apigenina Esperedina Tangeretina	Cipolla, mela, uva, broccoli e tè Limone, olive e sedano Buccia della frutta Sedano e prezzemolo Arance Agrumi
Flavonoli	Quercetina Miricetina Kemferolo	Tè, cipolle, broccoli, fagioli, cereali, mele e uva Uva Indivia, broccoli e tè
Antocianine	Enina Cianidina Delfinidina	Uva nera e vino rosso Uva, lamponi e fragole Melanzane
Flavanoli	Catechine Epicatechina Epigallocatechine	Mele, tè, vino e cioccolata Uva nera e vino rosso Mele, tè, vino e cioccolata
Flavanoni	Naringinina Taxifolina	Buccia degli agrumi Agrumi

menopausa, osteoporosi e neoplasie [24-34]. La daidzeina e la genisteina sono i composti più attivi e sono particolarmente rappresentati nella soia e in tutti i suoi derivati quali farina, salse, olio, latte e formaggio. Si trovano anche in altre leguminose quali lenticchie, fagioli, piselli, fave, ceci e nei cereali integrali come grano, riso, orzo, segale e avena; nella Tab. 2 viene riportato il contenuto di isoflavoni totali in alcuni alimenti e il loro apporto con la dieta.

La genisteina mostra un'attività 5-6 volte maggiore della daidzeina, ma quest'ultima è il principale isoflavone introdotto con la dieta; entrambi esistono principalmente come beta-glucosidi che vengono rapidamente assorbiti previa idrolisi nel tratto gastrointestinale nei corrispondenti agliconi [25-35, 36]. Nell'intestino essi subiscono ad opera della microflora una biotrasformazione in numerosi metaboliti, ad esempio la daidzeina è ridotta a diidrodaidzeina che può essere metabolizzata ulteriormente a o-desmetilangolesina e/o ad equolo, un isoflavone [35].

È stata riscontrata una variabilità individuale considerevole nel tipo di risposta metabolica all'intervento dietetico con soia o daidzeina. Tale variabilità è da correlarsi alla capacità individuale di conversione in equolo; è stato riscontrato che la conversione della daidzeina ad equolo avviene solo nel 35% della popolazione. L'entità della trasformazione è legata al tipo di microflora, al tempo di transito intestinale e al pH, fattori che possono essere influenzati dalla dieta, dai farmaci assunti, da malattie intestinali e da interventi chirurgici.

E' ormai evidente che esistono due distinti gruppi di persone e che i soggetti "batterio-tipi", per la loro capacità di produrre equolo, forniscono la chiave per comprendere l'efficacia delle diete a base di proteine di soia nel trattamento o nella prevenzione delle patologie ormono-dipendenti. Il non aver distinto i soggetti produttori di equolo da quelli non produttori potrebbe spiegare in modo plausibile la variabilità dei dati ottenuti in studi clinici sui benefici salutistici della soia [37]. Comunque dai risultati di alcuni studi su donne in premenopausa si evince che gli effetti fisiologici non dipendono esclusivamente dalla conversione dell'aglicone ad equolo, ma suggeriscono che altri metaboliti non identificati sono anche biologicamente attivi.

Rimane controverso l'utilizzo degli isoflavoni nella prevenzione dei tumori ormoni-dipendenti o come alternativa "naturale" alla terapia ormonale classica durante la menopausa. Sono inoltre anche carenti dati sugli effetti endocrini della daidzeina e genisteina della soia nell'infanzia. La sicurezza degli isoflavoni negli *infant formula* a base di soia è stata studiata recentemente in relazione ai possibili effetti ormonali, ad una eventuale riduzione della fertilità e all'incremento delle disfunzioni sessuali, ma sono necessari comunque ulteriori studi in proposito [38, 39]. E' stata anche ipotizzato un aumento di tumori al seno e all'apparato riproduttivo in relazione ad una elevata assunzione di isoflavoni.

Tabella 2. - Contenuto di isoflavoni totali in alcuni alimenti e apporto con la dieta per porzione

Alimento	Isoflavoni totali ($\mu\text{g/g}$)	μg per porzione media (g)
Soia semi	579-3812	34740-228720 (60)
Tofu	79-674	70270-87620 (130)
Soia farina	833-1778	16660-35560 (20)
Soia proteine testurizzate	707-1184	28040-47360 (40)
Soia latte	34-175	3400-17500 (100)
Miso	256-890	4608-16020 (18)
Soia formaggio	34-47	1360-7880 (40)
Tofu yogurt	151	18120 (120)
Soia salsa	13-75	65-375 (5)
Piselli sgranati	73	2920 (40)

Relativamente agli eventuali effetti citotossici degli isoflavoni è stato trovato che la daidzeina non induce danno cromosomico *in vitro* anche ad alte concentrazioni [40-42], mentre la geneisteina, anche se si differenzia per un gruppo idrossilico in più, ha mostrato attività genotossica e mutagenica [42-44].

Comunque è stato riportato recentemente che il rapporto rischio-beneficio in seguito all'assunzione di isoflavoni dipende dalla dose e dal tempo di assunzione.

Glucosinolati

I glucosinolati sono un gruppo di sostanze fitochimiche che comprendono una miscela di più di 130 differenti composti largamente distribuiti soprattutto nella famiglia delle Crocifere (*Brassicaceae* come cavolfiori, cavoletti di Bruxells, broccoli) [45]. Negli ultimi anni sono stati oggetto di speciale interesse sia per gli effetti fisiologici che esercitano sia per la potenziale attività come *plant food protection agent* (PFPA). Da un punto di vista chimico sono costituiti da un glicone comune, caratterizzato da un tioglucosio e da una ossima sulfonata, e da un aglicone derivato da aminoacidi, in particolare metionina, fenilalanina, tirosina e triptofano. In seguito alla rottura del tessuto i glucosinolati, contenuti nella cellula, sono rapidamente idrolizzati da mirosinasi (tioglucosidasi) a intermediari instabili che si riarrangiano spontaneamente in isotiocianati, tiocianati o nitrili. Questi prodotti di idrolisi sembra svolgano una funzione nei meccanismi di difesa delle piante contro erbivori, parassiti e batteri patogeni e sicuramente contribuiscono all'aroma.

L'interesse per i glucosinolati è dovuto alla correlazione riscontrata in recenti studi fra consumo di *Brassicaceae* e ridotto rischio di cancro [46, 47]. Essi da soli esibiscono bassa bioattività, ma la protezione da carcinogenesi e dalla progressione dei tumori appare essere correlata ad una serie di prodotti di

degradazione, volatili e non, ottenuti da sistemi enzimatici in particolare dalle mirosinasi esogene. Gli isotiocianati derivati da glucosinolati aromatici e alifatici hanno mostrato in modelli animali una attività chemioprotettiva, in quanto agenti bloccanti la carcinogenesi chimica. In particolare il meccanismo di azione si esplica attraverso una induzione nella fase II degli enzimi detossicanti, quale chinone riduttasi, NADPH-riduttasi, glutatione-sulfotrasferasi e glucoriniltrasferasi, e inibizione degli enzimi della fase I che attivano la carcinogenesi [48-50].

Contenuto delle sostanze fitochimiche negli alimenti

Il contenuto delle sostanze fitochimiche nelle piante è influenzato da molteplici fattori, quali le stagioni, le differenze territoriali e le modalità di coltivazione e di conservazione (luce, umidità, temperatura, tempo). In uno studio dove sono stati analizzati 92 alimenti di origine vegetale la concentrazione totale di polifenoli, espressa come equivalenti di acido gallico (GAE) in mg/g di sostanza secca, variava da circa 0,5 nelle carote e nei piselli a più di 50 nel mirtillo [51]. Inoltre i dati relativi alle quantità risultano spesso discordanti a causa delle metodiche analitiche utilizzate che si diversificano per strumentazione, procedimento estrattivo, specificità e sensibilità; va altresì sottolineata l'importanza delle procedure di campionamento che dovrebbero garantire il massimo della rappresentatività statistica. Oltre a ciò è da considerare che la presenza e la disponibilità delle sostanze fitochimiche è in funzione anche del trattamento eventualmente subito dagli alimenti vegetali, sia esso domestico, artigianale o industriale. Alcuni trattamenti che possono essere responsabili di diminuzioni, incrementi o cambiamenti nel contenuto e nella funzionalità di tali sostanze sono riportati qui di seguito.

Trattamento tecnologico

Frammentazione. - Quando l'alimento viene sottoposto ad un trattamento di frammentazione subisce delle modifiche che possono portare ad una maggiore utilizzazione di alcuni composti. Studi recenti hanno suggerito che polifenoli parzialmente ossidati durante il trattamento possono mostrare una attività antiossidante più elevata delle corrispondenti forme originarie; così come, durante la produzione di succhi, centrifugati, concentrati e del vino, le operazioni di macerazione facilitano la solubilizzazione dei polifenoli nel succo rendendoli disponibili per l'organismo umano. Il medesimo trattamento può portare ad una eliminazione non vantaggiosa di parte dell'alimento, come nel caso della crusca dei cereali ricca di fibre e vitamine, della buccia della frutta e dei pomodori che contiene oltre alla fibra e alle vitamine anche numerosi polifenoli [52]. A questo proposito Manach *et al.* riportano che, durante la produzione di marmellate e conserve di frutta, il trattamento di frammentazione dei tessuti vegetali comporta una degradazione ossidativa dei polifenoli per effetto di una decompartmentazione e contatto dei substrati fenolici presenti nei vacuoli con le ossidasi citoplasmatiche. Successivamente questi sono trasformati in pigmenti marroni e polimerizzati; durante la produzione di succhi di frutta gli stadi di chiarificazione e stabilizzazione sono rivolti proprio a rimuovere certi flavonoidi responsabili di intorbidimento [53].

Fermentazione. - Il trattamento di fermentazione può rendere attivi alcuni composti per effetto di una modifica chimica della molecola. Questo procedimento è necessario per la produzione soprattutto dei derivati della soia, quali tofu, miso, salse di soia, yogurt e succedanei della carne; durante il trattamento avviene l'idrolisi delle forme gliconate degli isoflavoni che si trasformano in molecole più attive [54]. Anche durante la fase di fermentazione della vinificazione, i polifenoli (la parte colorata del vino), presenti nella buccia dell'uva, vengono vantaggiosamente rilasciati nel mosto. Inoltre, durante la fermentazione delle foglie di tè verde, necessaria per la preparazione del tè nero, le catechine presenti si ossidano in sostanze aromatiche rendendo il tè più gradevole ma meno ricco in polifenoli [53].

Temperatura. - La temperatura è uno dei fattori quasi sempre presente nelle manipolazioni di un alimento ed è il principale responsabile delle modificazioni a carico delle sostanze fitochimiche. La scottatura, che è un pretrattamento abbastanza comune a partire dal materiale crudo prima delle operazioni successive, provoca la denaturazione degli enzimi prevenendo così la distruzione enzimatica di alcuni fitocomposti che sono invece termoresistenti.

Viceversa, durante la cottura delle *Brassicacee*, si ha una riduzione delle proprietà funzionali dei glucosinolati dovuta alla inattivazione delle mirosinasi, alla degradazione termica dei glucosinolati stessi e dei loro prodotti di idrolisi, alla degradazione dei cofattori enzimatici, acido ascorbico e ferro, e dissoluzione degli stessi e dei loro prodotti di idrolisi nell'acqua di cottura [55, 56]. Anche la quercetina è sensibile alla temperatura: si è visto infatti che cipolle e pomodori perdono il 75-80% del contenuto iniziale dopo bollitura per 15 minuti, il 65% dopo cottura a microonde e il 30% dopo frittura [57]. Similmente gli acidi fenolici subiscono una perdita nelle patate durante la preparazione industriale di frittura [58]. La temperatura, mentre è causa della diminuzione del contenuto di vitamina C nei pomodori, aumenta le quantità di licopene e la capacità antiossidante totale e lascia inalterati i livelli di polifenoli e flavonoidi totali [59]. Gli isoflavoni della soia non vengono distrutti dal calore, ma piuttosto sono soggetti ad una intraconversione fra forme differenti; inoltre, le eventuali perdite riscontrate durante la cottura sarebbero il risultato del procedimento di lisciviazione e non della temperatura. Anche Coward *et al.* non hanno trovato modificazioni significative nel contenuto totale di isoflavoni della soia in seguito alla cottura in forno o alla frittura, ma piuttosto un cambiamento nel profilo. Un'alterazione è stata riscontrata solo a temperature e tempi maggiori di quelli usualmente utilizzati nei trattamenti tecnologici (temperature comprese fra i 95 e 215 °C per più di 90 minuti) [60].

Alta pressione. - Nel panorama dei trattamenti subiti dagli alimenti, bisogna anche considerare la tecnologia dell'alta pressione che viene utilizzata come valida alternativa ai metodi convenzionali di pastorizzazione e sterilizzazione. Studi condotti su carote, pomodori e broccoli hanno dimostrato che il loro contenuto in licopene, beta-carotene, vitamina C e la capacità antiossidante non subisce modifiche anche dopo un trattamento di pressurizzazione di 60 minuti; tuttavia, si possono produrre alterazioni strutturali fisico-chimiche che potrebbero alterarne la biodisponibilità [61, 62].

Inoltre, per effetto della luce e/o dell'ossigeno atmosferico si può avere anche un depauperamento per modificazioni della struttura chimica; il trattamento può poi favorire o accelerare reazioni redox tra antiossidanti, ossigeno e/o altri costituenti [63, 64].

Comunque le conseguenze del trattamento sul destino delle sostanze fitochimiche differisce in relazione, oltre che al tipo di intervento che viene applicato, alla concentrazione, alla struttura chimica, allo stato ossidativo, alla localizzazione nella struttura vegetale e alle possibili interazioni con altri componenti dell'alimento.

Biodisponibilità

Si intende con questo termine la velocità e l'entità con la quale una sostanza attiva viene assorbita e diventa disponibile nel sito di azione. La determinazione del composto attivo nel sito di azione non è generalmente possibile, ma poiché esistono relazioni predeterminate fra la concentrazione nel sito d'azione e nel circolo sistemico, la biodisponibilità può essere intesa come disponibilità sistemica ottenuta misurando la concentrazione nel circolo sanguigno per un tempo determinato dopo la somministrazione orale. La biodisponibilità può essere influenzata da fattori intrinseci all'alimento e all'organismo umano quali l'efficienza del processo digestivo, la composizione della microflora intestinale, l'assorbimento intestinale e il metabolismo post-assorbitivo durante il quale si possono formare degli analoghi con attività biologica diversa dai composti di partenza.

La letteratura recente è particolarmente ricca di studi meccanicistici concernenti l'assorbimento e il metabolismo, soprattutto dei polifenoli, dal momento che essi appartengono alla categoria di composti più rappresentativa comprendente un gran numero di sostanze fitochimiche biologicamente attive. I polifenoli generalmente sono poco assorbiti, largamente metabolizzati e rapidamente eliminati; il loro metabolismo avviene attraverso un *pathway* comune (Fig. 3) [20, 65]. La maggior parte dei composti è presente negli alimenti come esteri, glucosidi o polimeri che non possono essere assorbiti nella loro forma originaria, ma devono essere idrolizzati dagli enzimi intestinali e/o dalla microflora del colon. Questa microflora possiede una grande capacità di deglicosilazione che avviene molto rapidamente. L'assorbimento a livello gastrico è invece limitato sia per la ridotta area di scambio, confrontata con quella dell'intestino, sia per la resistenza all'idrolisi dovuta al pH e agli enzimi gastrici. Quando è coinvolta la flora intestinale l'efficienza dell'assorbimento è spesso ridotta in quanto la flora può degradare anche gli agliconi e produrre acidi aromatici semplici. Ha inoltre in questa fase una funzione importante anche lo stato fisiologico dell'organismo quando ad esempio vengono assunti farmaci. L'aglicone libero può passare nella cellula epiteliale passivamente o per diffusione facilitata; comunque, la forma glucosidica può essere trasportata anche intatta all'interno della cellula attraverso un *carrier* e poi essere idrolizzata dalle beta-glucosidasi presente nel citosol [20, 53, 65]. Nelle cellule dell'intestino tenue avviene la coniugazione a glucuronide e in minor misura a forme solfate e metilate; le antocianine rappresentano una eccezione perché è stata riscontrata la presenza nel plasma e nelle urine della forma glicosilata immodificata, fatto che implicherebbe il coinvolgimento di recettori di trasporto

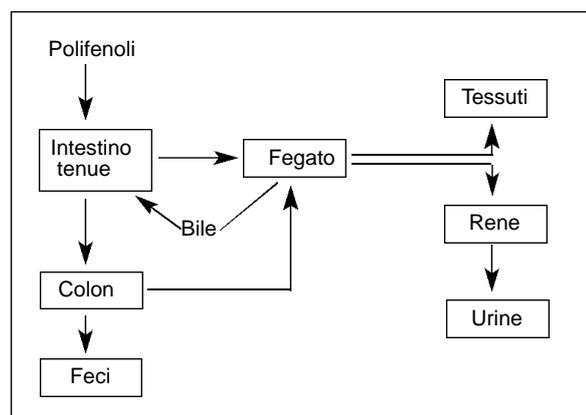


Fig. 3. - Ciclo metabolico dei polifenoli introdotti con la dieta.

di glucosio durante l'assorbimento [66]. Alcuni flavonoidi, come ad esempio la rutina, non vengono deglicosilati e raggiungono l'ileo terminale e l'intestino crasso [67]. Gli isoflavoni invece vengono assorbiti nel colon perché genisteina e daidzeina sono relativamente resistenti alla degradazione, anche se la daidzeina in alcuni individui viene convertita dagli enzimi batterici in equolo [37, 68]. La quercitina è rapidamente idrolizzata dalla flora del colon in composti fenolici a basso peso molecolare pertanto viene assorbita meno efficientemente rispetto all'intestino tenue; in uno studio dove venivano utilizzati soggetti ileostomizzati si è riscontrato un assorbimento della quercitina aglicone, somministrata oralmente, pari al 24% [67, 69].

Nel fegato i flavonoidi coniugati vengono deglucuronidati dalle beta-glucuronidasi e poi solfate, mentre i glucuronidi intatti sono metilati; invece gli agliconi che raggiungono il fegato come tali vengono ivi coniugati. I coniugati sono secreti via biliare nel duodeno dove sono soggetti all'azione degli enzimi batterici beta-glucuronidasi e poi riassorbiti (circolo enteropatico).

Le assunzioni con la dieta di flavonoli, flavoni e flavanoli monomerici sono relativamente basse e le concentrazioni plasmatiche raramente eccedono 1 $\mu\text{mol/l}$ a causa dell'assorbimento limitato e della rapida eliminazione. Invece i flavanoni ed isoflavoni, anche se sono contenuti solo negli agrumi e nella soia, sono i flavonoidi con il profilo di biodisponibilità migliore: infatti, la concentrazione plasmatica può raggiungere i 5 $\mu\text{mol/l}$ [53]. Le proantocianidine e analogamente le antocianine non sono assorbite o assorbite molto poco e pertanto la loro attività è limitata all'enterocita.

I bassi livelli di polifenoli riscontrati nel plasma rispetto ai 10-100 mg di ogni singolo composto assunti con la dieta mettono in evidenza i complessi meccanismi che regolano la biodisponibilità. Sono necessarie ulteriori informazioni sulla influenza della microflora intestinale, sulla natura dei metaboliti e sulla distribuzione nei tessuti [20].

Conclusioni

Dalle tematiche prese in esame in questa rassegna si comprende l'interesse crescente verso le svariate classi dei composti peculiari del mondo vegetale. Sono necessari ulteriori approfondimenti relativi alla assunzione, alla definizione dell'attività biologica, al metabolismo e alla identificazione strutturale anche dei metaboliti.

Per quei composti provvisti di una attività biologica affermata, quale quella antiossidante, i molti studi *in vivo* hanno evidenziato che l'attività della molecola isolata è ben differente da quando è presente nell'alimento, infatti, l'effetto protettivo di frutta e vegetali con assunzioni che costituiscono parte di una dieta abituale non è lo stesso di quello riscontrato in studi epidemiologici basati sull'uso di supplementi; ciò suggerisce che la matrice alimentare svolga una funzione fondamentale nel modulare l'attività fisiologica svolta da tali componenti.

Dalle ricerche condotte in proposito risulta che esistono meccanismi di azione sovrapposti, sinergici o di inibizione reciproca, che si verificano nell'ambito del singolo alimento vegetale e/o della dieta, ma che è anche fondamentale che il consumo di frutta e verdura sia costante nel tempo per mantenere un'alta concentrazione nel plasma dei metaboliti affinché siano assicurati gli effetti benefici esercitati da tali sostanze.

Lavoro presentato su invito.
Accettato il 18 novembre 2004.

BIBLIOGRAFIA

- Newmark HI, Yang CS. Phytochemical pharmacokinetics. In: Meskin MS, Bidlack WR, Davies AJ, Omaye ST (Ed.). *Phytochemicals in nutrition and health*. Boca Raton: CRC Press; 2002. p. 79-85.
- Ronco A, De Stefani E, Boffetta P, Deneo-Pellegrini H, Mendilaharsu M, Leborgne F. Vegetables, fruits and related nutrients and risk of breast cancer: a case-control study in Uruguay. *Nutr Cancer* 1999;35(2):111-9.
- Agarwal S, Rao AV. Tomato Lycopene and its role in human health and chronic disease. *CMAJ* 2000;163(6):739-44.
- McKlown N. Antioxidants and breast cancer. *Nutr Rev* 1999;57(10):321-24.
- Slattey ML, Benson J, Curtin K, Ma KN, Shaeffer D, Potter JD. Carotenoids and colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2000;71(2):575-82.
- Lampe JW. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr* 1999;475S-90S.
- Giammarioli S, Filesi C, Sanzini E. Danno ossidativo e antiossidanti della dieta. *Riv Sci Alim* 1998;1:63-76.
- Jacob RA, Burri BJ. Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr* 1996;63:985S-90S.
- Halliwell B. Antioxidant in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 1996;16:33-50.
- Aruoma OI, Pfannhauser W, Fenwick GR, Khokhar S (Ed.). *In vitro and in vivo methods for the assessment of antioxidant activity in Biologically-active phytochemicals in food*. Cambridge (UK): The Royal Society of Chemistry; 2001. (Special publication, n. 269).
- Hollis DM, Mug S, Wargovich MS. Structure-activity relationships of garlic compounds and the inhibition of hepatic CYP2E1. *Proc Amer Assoc Cancer Res* 2001;42:867-8.
- Kubena KS, McMurray DN. Nutrition and the immune system: a review of the nutrient- interactions. *J Am Diet Assoc* 1996;96:1156-64.
- Visioli F, Borsani L, Galli C. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovasc Res* 2000;47:419-25.
- Morton LW, Caccetta RA, Puddey IB, Croft KD. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. Review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2000; 27(3):152-9.
- Collins BM, McLachlan JA, Arnold SF. The estrogenic and antiestrogenic activities of phytochemicals with the human estrogen receptor expressed in yeast. *Steroids* 1997;62(4):365-72.
- Niwa T, Swaneck G, Bradlow HL. Alteration in estradiol metabolism in MCF-7 cells induced by treatment with indole-3-carbinol and related compounds. *Steroids* 1994;59(9):523-30.
- Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect* 1999;2:125-9.
- Elnima EI, Ahmed SA, Mekkawi AG, Mossa JS. The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. *Pharmazie* 1983;38(11):747-48.
- Reuter HD, Koch HP, Lawson LD. Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. In Kock HP, Lawson LD (Ed). *Garlic: the science and therapeutic application of Allium sativum L. and related species*. London (UK): Williams and Wilkins; 1996. p. 135-62.
- Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 2000;130:2073S-85S.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 1996;20:933-56.
- Rice-Evans CA. Plant polyphenols: free radical scavengers or chain-breaking antioxidants? *Biochem Soc Symp* 1995;61:103-16.
- Dragsted LO. Antioxidant actions of polyphenols in humans. *Int J Vit Res* 2003;73(2):112-20.
- Uzzan M, Labuza TP. Critical Issue in R&D of soy isoflavone-enriched foods and dietary supplements. *J Food Sci* 2004;69(3):77-86.
- Mazur W. Phytoestrogen content in foods. *Bailliere's Clin End Met* 1998;12(4):730-8.
- Hendrich S, Murphy PA. Isoflavones: source and metabolism. In: Wildman REC (Ed.). *Handbook of nutraceuticals and functional foods*. Boca Raton (FL):CRC Press; 2001. p. 55-75.

27. Messina M, Gugger ET, Alekel DL. Soy protein, soybean isoflavones, and bone health: a review of the animal and human data. In: Wildman REC (Ed.). *Handbook of nutraceuticals and functional foods*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2001. p. 77-98.
28. Mitchell JH. Phytoestrogens: Involvement in breast and prostate cancer. In: Wildman REC (Ed.). *Handbook of nutraceuticals and functional foods*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2001. p. 99-112.
29. Hendrich S. Bioavailability of isoflavones. *J Chromatogr B* 2002;777:203-10.
30. Munro IC, Harwood M, Hlywka JJ, Stephen AM, Doul J, Flamm WG, Aldercreutz H. Soy isoflavones: a safety review. *Nutr Rev* 2003;61:33.
31. Nestel PJ. Isoflavones: their effects on cardiovascular and functions. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:13-8.
32. Dubey RK, Gillespie DG, Imthurn B, Rosselli M, Jackson EK, Keller PJ. Phytoestrogens inhibit growth and MAP kinase activity in human aortic smooth muscle cells. *Hypertension* 1999;33:177-82.
33. Tham DM. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of clinical, epidemiological and mechanistic evidence. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2223-35.
34. Lamartiniere CA, Murrill WB, Manzollillo PA, Zhang JX, Barnes S, Zhang X, Wei H, Brown NM. Genistein alters the omogenicity of mammary gland development and protects against chemically induced mammary cancer in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998;217:358-64.
35. Cassidy A, Hanley B, Lamuela-Raventos RM. Isoflavones, lignans and stilbenes-origins metabolism and potential importance to human health. Review. *J Sci Food Agric* 2000; 80:1044-62.
36. Setchell K, Brown NM, Desai P, Zimmer-Nechemias LZ, Wolfe BE, Brashear WT, Kirschner AS, Cassidy A, Heubi JE. Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements. *J Nutr* 2001;131:1362S-1375S.
37. Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E. The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr* 2002;132:3577-84.
38. Miniello VL, Moro GE, Tarantino M, Natile M, Granieri L, Armenio L. Soy-based formulas and phyto-estrogens: a safety profile. *Acta Paediatr Suppl* 2003;91:93-100.
39. You L, Sar M, Bartolucci EJ, McIntyre BS, Sriperumbudur R. Modulation of mammary gland development in prepubertal male rats exposed to genistein and methoxychlor. *Toxicol Sci* 2002;66: 216-25.
40. Schmitt E, Metzler M, Jonas R, Dekant W, Stopper H. Genotoxic activity of four metabolites of the soy isoflavone daidzein. *Mut Res* 2003;542:43-8.
41. Kulling SE, Honig DM, Metzler M. Oxidative metabolism of the soy isoflavones daidzein and genistein in humans *in vitro* and *in vivo*. *J Agric Food Chem* 2001;49:3024-33.
42. Kulling SE, Lehmann L, Metzler M. Oxidative metabolism and genotoxic potential of major isoflavone phytoestrogens. *J Chrom B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002;777:211-8.
43. Metzler M, Kulling SE, Pfeiffer E. *Hormonally active agents in food*. Weheim, Germany: Wiley-VCH; 1998. p. 62-71.
44. Stopper H, Jonas R, Schmitt E. Genotoxicity of phytoestrogens. In: Dopp E, Sopper H, Alink G (Ed.). *Natural and synthetic estrogens: Aspects of the cellular and molecular activity*. 2002. p. 89-101.
45. Lund E. Non-nutritive bioactive constituents of plants: dietary sources and health benefits of glucosinolates. *Int J Vitam Nutr Res* 2003;73(2):135-43.
46. Shapiro TA. Chemoprotective glucosinolates and Isothiocyanates of broccoli Sprouts: metabolism and excretion in humans. *Cancer Epid Biomarkers Prev* 2001;10:501-508.
47. Talalay P, Fahey JW. Phytochemicals from Cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. *J Nutr* 2001;131:3027S-3033S.
48. Talalay P, Zhang Y. Chemoprotection against cancer by isothiocyanates and glucosinolates. *Biochem Soc Trans* 1996;24:806-12.
49. Ian TJ. Glucosinolates: bioavailability and importance to health. *Int J Vitam Res* 2002;71(1):26-31.
50. Loft S, Otte J, Poulson HE, Sorenson H. Influence of intact and myrosinase-treated indolyl glucosinolates on the metabolism *in vivo* of metronidazole and antitryptine in rats. *Food Chem Toxicol* 1992;30:927-35.
51. Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HY, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extract containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 1999;47(10):3954-62.
52. Anese M, Nicoli MC. Optimising phytochemicals release by process technology. In : Pfannhauser W, Fenwick GR, Khokhar S. (Ed.) *Biologically-active phytochemicals in food*. Cambridge: RSC; 2001. p. 455-70.
53. Manach CM, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2004;79:727-47.
54. Tsangalis D, Ashton JF, McGill AEJ, Shah NP. Biotransformation of isoflavones by bifidobacteria in fermented soymilk supplemented with D-glucose and L-cysteine. *J food Sci* 2003;68:623-31.
55. Chevolleau S, Gasc N, Rollin P, Tulliez J. Enzymatic chemical and thermal breakdown of H-labeled glucobrassicin, the parent indole glucosinolate. *J Agr Food Chem* 1997;45:4290-8.
56. Rowland I. Optimal nutrition: fibre and phytochemicals. *Proc Nutr Soc* 1999;58:415-9.
57. Crozier A, Lean MEJ, McDonald MS, Black C. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *J Agric Food Chem* 1997;45:590-5.
58. Clifford MN. Chlorogenic acids and other cinnammates-nature, occurrence dietary burden, absorption and metabolism. *J Sci Food Agric* 2000;80:1033-43.
59. Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 2002;50:3010-4.
60. Coward L, Smith M, Kirk M, Barnes S. Chemical modification of isoflavones in soy foods during cooking and processing. *Am J Clin Nutr* 1998;68(suppl):1486S-91S.

61. Fernandez Garcia A, Butz P, Tauscher B. Effect of high pressure processing on carotenoid extractability, antioxidant activity, and water binding of tomato puree. *J Food Sci* 2001;66:1033-8.
62. Butz P, Edenharder R, Fernandez Garcia A, Fister H, Merkel C, Tauscher B. Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment. *Food Res Int* 2002;35:295-300.
63. Zanoni B. Oxidative heat damage of tomato halves as affected by drying. *Food Res Int* 1998;31:395-9.
64. Hurrell RF. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British J Nutr* 1999;81:289-95.
65. Walle T. Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Radic Biol Med* 2004;36(7):829-37.
66. Milbury PE, Cao GC, Prior RL, Blumberg J. Bioavailability of elderberry anthocyanins. *Mechanism Ageing Develop* 2002;123:997-1006.
67. Williamson G. The use of flavonoid aglycones in *in vitro* systems to test biological activities: based on bioavailability data is this a valid approach? *Phytochem Rev* 2002;1:215-22.
68. Hendrich S. Bioavailability of isoflavones. *J Chromatogr B* 2002;707:203-10.
69. Hollman PC, Katan MB. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food Chem Toxic* 1999;37:937-42.