

#iomangioascuola

Modalità di trasformazioni innovative per migliorare il contenuto di sostanze salutistiche e l'impatto nutrizionale ed organolettico delle pietanze

Sommario

1	Introduzione al Progetto.....	4
	Bassa qualità nutrizionale ed organolettica.....	4
2	Obiettivi e Scopo del Progetto	5
	Revisione delle linee guida per la ristorazione scolastica	5
	Formazione di studenti e professionisti	5
	Collaborazione con le Università abruzzesi.....	5
3	Legge Regionale 26 novembre 2021 n.22	7
	Bibliografia.....	9
	Proposta di integrazione delle linee d'indirizzo per la ristorazione scolastica abruzzese	11
1	Introduzione.....	12
2	Metodologia.....	13
3	Il Metodo Niko Romito [MNR].....	14
3.1	I principi del metodo	14
3.2	Le Tecniche di Cottura previste dal MNR.....	15
	Tecnica della Salamoia	15
	Cottura a Bassa Temperatura Controllata	15
	Cottura a Vapore.....	16
	Cottura ad Alta Temperatura con Pellicola di Amido.....	17
	Cottura in Depressione.....	17
	Recupero degli Scarti.....	18
	Cottura e pastorizzazione.....	18
	La Sostenibilità Economica del MNR	19
3.3	Attrezzature e tecnologie.....	19
4	Pietanze e preparazioni sviluppate con il MNR.....	21
4.1	Validazione Microbiologica	23
5	Il R.A.P. (Rapporto Antiossidanti/Pro-ossidanti)	26
5.1	Antiossidanti e Pro-ossidanti	26
5.2	Il RAP nella cottura dei vegetali con MNR.....	27
5.3	Il RAP nelle pietanze finite preparate con MNR.....	28
5.4	Il RAP per la cottura/sterilizzazione in busta	29
5.5	Il RAP nelle bevande Antiossidanti.....	30
	Bibliografia.....	32
	Le schede di cottura Metodo Niko Romito.....	34
	Le basi.....	35
	Salamoie, Sali e gel di amido.....	35

Salse di base.....	36
Cottura verdure gelo	37
Cottura carni bianche	39
Cottura pesce gelo.....	41
Ragù di carne (vitello e suino)	42
Le pietanze.....	44
Minestra di ceci e riso rosso.....	44
Lasagna vegetale.....	46
Lasagna ragù.....	51
Branzino con crema di carote	54
Fettina di vitello su crema di broccoli.....	58
Fusello di pollo su crema di patate	62
Tortino vegetale	66
LA COLLABORAZIONE CON IL COMITATO REGIONALE DELLE UNIVERSITÀ ABRUZZESI C.C.R.U.A	75
Valutazione delle proprietà anti-infiammatorie di una serie di pietanze - Università degli Studi di Teramo	76
Valutazione dell'attività antiossidante degli estratti acquosi di ricette preparate con il Metodo Niko Romito e tradizionale, utilizzando un modello intestinale in vitro di stress ossidativo - Università degli Studi di Teramo	90
Determinazione dell'Indice GLICemicO di pasti preparati con il Metodo NR-FPT Acronimo: (GLICO-NRM) -Università dell'Aquila	102
Valutazione delle proprietà anti-infiammatorie, della risposta genomica di una serie di pietanze - Università "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara	116

1 Introduzione al Progetto

La ristorazione collettiva scolastica, nel mondo, ha un ruolo centrale nell'alimentazione dei giovani e – di conseguenza – sulla loro salute, oltre che su quella del pianeta. Le esigenze a cui deve rispondere sono molte: qualità, salute e sostenibilità, in un sistema operativo che tende a privilegiare l'efficienza logistica a discapito delle qualità nutrizionali e organolettiche dei pasti. Le criticità che si possono osservare sono diverse [Gaddis & Coplen 2018; Amadori et al 2026] e comuni anche in altri ambiti della ristorazione collettiva (ospedali, RSA, aziende...).

Bassa qualità nutrizionale ed organolettica

Molte mense scolastiche oggi non hanno una cucina che consenta trasformazioni in loco e si avvalgono di cibo confezionato e preparazioni industriali di scarso valore organolettico e nutrizionale. Il problema non deriva soltanto dalle materie prime utilizzate ma anche dai processi di trasformazione a cui sono sottoposte per la preparazione dei pasti.

Sprechi alimentari

La percentuale di cibo sprecato nelle mense scolastiche – tra servito e intatto - è molto elevata, con stime che arrivano al 30% [Falasconi et al 2015, Boschini et al 2019, Boschini et al 2020]. Sono diverse le cause dietro a questo fenomeno, tra cui la scarsa appetibilità del cibo servito, che non soddisfa i gusti dei bambini o la difficile gestione delle quantità somministrate. Gli sprechi hanno un forte impatto negativo sull'ambiente, e creano una cattiva gestione delle risorse economiche, innalzando il food cost senza effettivamente generare il valore nutritivo sperato.

Formazione inadeguata degli operatori

La formazione del personale della ristorazione collettiva e scolastica è spesso limitata e non idonea a rispondere alle complesse esigenze di una cucina sana, equilibrata e gustosa, che deve operare entro i vincoli imposti da costi, volumi e modalità di servizio. In particolare, il personale non è generalmente formato sulle tecniche innovative che potrebbero migliorare la qualità dei pasti pur rispettando i limiti operativi.

Criticità relative a salute e benessere

Nonostante la crescente consapevolezza sui temi della sana alimentazione, molte mense continuano a offrire pasti non allineati alle linee guida nutrizionali più recenti [Tauhdiah et al. 2021]. La scarsa biodisponibilità di vitamine, antiossidanti e altri nutrienti essenziali nelle preparazioni alimentari contribuisce alla diffusione di diverse malattie croniche non trasmissibili, specialmente in età scolare.

Scarsa sostenibilità ambientale

Gran parte della ristorazione collettiva è ancora lontana da un modello sostenibile per diversi aspetti: le materie prime utilizzate, l'alto consumo di energia, l'uso di imballaggi non sostenibili, o, ancora, il trasporto di cibi confezionati per lunghe distanze [Crovella et al. 2025; Sousa et al. 2025].

Il progetto denominato “**#iomangioascuola**” nasce proprio per rispondere a queste criticità, con l'obiettivo di ripensare i pasti in ottica di salute, gusto e sostenibilità. L'iniziativa è finanziata dalla

Regione Abruzzo e vede coinvolti il Dipartimento Sanità ASL abruzzesi, lo Chef Niko Romito e il suo team di collaboratori e il Comitato Regionale delle Università Abruzzesi (C.C.R.U.A.).

Lo studio si concentra, in particolare, sullo studio dell'effetto della trasformazione degli alimenti sulle proprietà organolettiche e nutrizionali di un pasto, al fine di definire e standardizzare tecniche e tecnologie di trasformazione e cottura innovative, che garantiscono un alto valore nutrizionale e un'elevata qualità organolettica per gli alimenti, insieme alla sostenibilità economica. La collaborazione con il (C.C.R.U.A.) ha dato ulteriore rigore scientifico all'iniziativa, con un'importante ricerca sull'effetto dei metodi di trasformazione sull'indice glicemico dei pasti, l'attività antiossidante ed antinfiammatoria e la verifica dell'induzione dell'espressione genica di pattern di geni coinvolti in processi fisiologici antiossidanti ed antinfiammatori.

2 Obiettivi e Scopo del Progetto

Il progetto nasce grazie alla **Legge Regionale 26 novembre 2021, n. 22** (riportata integralmente nella Sessione 3), che ha stabilito un quadro normativo per il miglioramento della ristorazione collettiva e scolastica in Abruzzo e ha definito le priorità strategiche per la ristorazione, con un focus sulla sostenibilità, la qualità alimentare, e l'innovazione nelle tecniche di preparazione e distribuzione dei pasti. In tale contesto, il Campus di Ricerca e Alta Formazione Niko Romito rappresenta una delle principali iniziative per sviluppare un modello di ristorazione che coniughi salute, benessere, e tecnologie avanzate.

Il progetto (successivamente denominato **#iomangioascuola** per fini divulgativi) si articola su tre principali obiettivi: l'integrazione delle linee guida per la ristorazione pubblica e scolastica in Abruzzo, la formazione di studenti e professionisti e l'integrazione della ricerca scientifica nel miglioramento delle pratiche culinarie applicate al settore.

Revisione delle linee guida per la ristorazione scolastica

Grazie al supporto della Regione Abruzzo, Niko Romito, il suo staff interno di ricerca e un team interdisciplinare di consulenti, hanno lavorato per fornire strumenti innovativi, utili a integrare le linee di indirizzo per la ristorazione scolastica regionale, mirate a garantire pasti sani, bilanciati, gustosi e sostenibili per gli studenti.

Formazione di studenti e professionisti

Ogni anno, per tutta la durata del progetto, il Campus di Ricerca e Alta Formazione Niko Romito ha garantito l'accesso gratuito alla formazione dell'Accademia Niko Romito a 5 studenti e a condizioni agevolate a 10 studenti residenti in Abruzzo, offrendo loro un'opportunità unica di formazione nelle tecniche culinarie avanzate applicate alla ristorazione collettiva.

Collaborazione con le Università abruzzesi

Grazie alla sinergia con il Comitato Regionale delle Università Abruzzesi (C.C.R.U.A.) si sono svolte diverse ricerche per studiare come i metodi di trasformazione degli alimenti sviluppati da Chef Romito potessero avere un impatto positivo per quel che riguarda gli effetti del cibo sull'organismo. Grazie a diversi studi in vivo e in vitro, si è visto, in particolare come l'utilizzo di metodi innovativi possa effettivamente contribuire alla riduzione dell'indice glicemico dei pasti, al potenziamento dell'attività antiossidante ed antinfiammatoria e all'induzione dell'espressione genica di pattern di geni coinvolti in processi fisiologici antiossidanti ed antinfiammatori.

Questo documento descrive il percorso svolto per raggiungere tali obiettivi e illustra le metodologie adottate, insieme ai risultati scientifici ottenuti. Nella prima parte, si dettaglia l'attività di ricerca svolta dallo Chef Niko Romito e il suo team per definire un nuovo approccio alla trasformazione del cibo nelle mense scolastiche, con le prime attività di analisi degli alimenti e il manuale di ricette sviluppate. Nella seconda parte del documento, si sono raccolti i rapporti della ricerca svolta dalle università Abruzzesi.

3 Legge Regionale 26 novembre 2021 n.22

Si riporta qui il testo integrale della LR (Abruzzo) del 26 novembre 2021 n.22.

Riconoscimento della valenza strategica per l'Abruzzo del progetto "Campus Ricerca e Alta Formazione Niko Romito" e del progetto "Il laboratorio in cucina" nel Comune di Villa Santa Maria (CH).

(Approvata dal Consiglio regionale con [verbale n. 57/1 del 16 novembre 2021](#), pubblicata nel BURA 1 dicembre 2021, n. 190 Speciale ed entrata in vigore il 2 dicembre 2021)

La Legge Regionale 26 novembre 2021, n. 22, ha stabilito un quadro normativo per il miglioramento della ristorazione collettiva e scolastica in Abruzzo e ha definito le priorità strategiche per la ristorazione, con un focus sulla sostenibilità, la qualità alimentare, e l'innovazione nelle tecniche di preparazione e distribuzione dei pasti. In tale contesto, il Campus di Ricerca e Alta Formazione Niko Romito rappresenta una delle principali iniziative per sviluppare un modello di ristorazione che coniughi salute, benessere, e tecnologie avanzate.

Art. 1

(Finalità)

1. La Regione riconosce la valenza strategica per l'Abruzzo del progetto "Campus Ricerca e Alta Formazione Niko Romito", incentrato sui temi dell'innovazione nella trasformazione alimentare, della responsabilità sociale e della salute attraverso la ricerca, lo sviluppo e la diffusione di nuove metodologie e processi da applicarsi all'ambito nutrizionale collettivo per garantire un cibo più salubre, sostenibile e accessibile.
2. Per le finalità di cui al comma 1 la Regione riconosce, altresì, al Comune di Villa Santa Maria (CH) la valenza strategica del progetto "Il laboratorio in cucina" incentrato sui temi della trasformazione alimentare, della socializzazione e delle abilità manuali delle future generazioni.

Art. 2

(Disposizioni finanziarie)

1. Per le finalità di cui al comma 1 dell'articolo 1, per l'anno 2021, la Regione contribuisce al progetto con un finanziamento di euro 1.500.000,00.
2. Per le finalità di cui al comma 2 dell'articolo 1, la Regione contribuisce al progetto con un finanziamento di euro 170.000,00 per l'anno 2021 e di euro 330.000,00 per l'anno 2022.
3. Alla copertura della spesa di cui al comma 1 si fa fronte con le risorse allocate alla Missione 15, Programma 04, Titolo 2, capitolo di spesa 52510.1 "Realizzazione di interventi di formazione professionale e alta formazione" del bilancio regionale 2021-2023, esercizio 2021.
4. Alla copertura della spesa di cui al comma 2, pari complessivamente ad euro 500.000,00, si fa fronte come di seguito indicato:
 - a) per l'anno 2021, pari ad euro 170.000,00, con le risorse allocate alla Missione 15, Programma 04, Titolo 2, capitolo di spesa 52510.1 "Realizzazione di interventi di formazione professionale e alta formazione" del bilancio regionale 2021-2023, esercizio 2021;

- b) per l'anno 2022, pari ad euro 330.000,00, con le risorse allocate alla Missione 15, Programma 04, Titolo 2, capitolo di nuova istituzione, del bilancio regionale 2021-2023, esercizio 2022;c) ai fini della copertura della spesa di cui alla lettera b) e' apportata al bilancio regionale 2021-2023, esercizio 2022, la seguente variazione in termini di competenza:
- 1) in aumento parte spesa: Missione 15, Programma 04, Titolo 2, capitolo di nuova istituzione per euro 330.000,00;
 - 2) in diminuzione parte spesa: Missione 20, Programma 03, Titolo 1 per euro 330.000,00.

Art. 3

(Modalita' di attuazione)

1. Il Dipartimento Sviluppo economico-Turismo della Giunta regionale provvede ad adottare tutti gli atti necessari a dare attuazione alla presente legge.
2. L'adozione dei provvedimenti attuativi di cui al comma 1 e' subordinata alla sottoscrizione di un apposito protocollo d'intesa tra la Regione Abruzzo e il legale rappresentante del "Campus Ricerca e Alta Formazione Niko Romito" per il perseguimento dei seguenti obiettivi di interesse pubblico:
 - a) collaborazione del "Campus Ricerca e Alta Formazione Niko Romito" e del dott. Niko Romito con la Regione Abruzzo, con il Dipartimento Sanita' della Regione Abruzzo e le ASL abruzzesi per la revisione delle "Linee di indirizzo della Regione Abruzzo per la ristorazione scolastica";
 - b) garantire annualmente l'accesso gratuito a n. 5 studenti e, a condizioni agevolate, a n. 10 studenti al "Campus Ricerca e Alta Formazione Niko Romito", purché residenti in Abruzzo;
 - c) coinvolgimento nelle attivita' formative del Campus degli Atenei universitari abruzzesi anche attraverso l'attivazione di forme di collaborazione con il Comitato di Coordinamento Regionale delle Universita' Abruzzesi (C.C.R.U.A.).
3. Il Dipartimento di cui al comma 1 puo' individuare ulteriori linee di finanziamento a favore di altre realta' presenti sul territorio regionale per iniziative che perseguano le medesime finalita' di cui all'articolo 1, previo parere della Commissione consiliare competente per materia.
4. Le misure di sostegno di cui alla presente legge sono concesse nel rispetto della normativa europea in materia di Aiuti di Stato di cui al [Regolamento \(UE\) n. 651/2014](#) per aiuti a ricerca e formazione previa comunicazione ex ante alla Commissione europea.

Bibliografia

- 1 Unicef. The state of food security and nutrition in the world 2025: addressing high food price inflation for food security and nutrition. Food & Agriculture Org., 2025.
- 2 Falasconi, L.; Vittuari, M.; Politano, A.; Segrè, A. Food Waste in School Catering: An Italian Case Study. *Sustainability* **2015**, *7*, 14745-14760. <https://doi.org/10.3390/su71114745>
- 3 "Sustainable and nutrition-sensitive food systems for healthy diets and prevention of malnutrition—Case studies in Western Europe." Sustainable and nutrition-sensitive food systems for healthy diets and prevention of malnutrition in Europe and Central Asia (2023): 335.
- 4 Crippa, M., Solazzo, E., Guizzardi, D. et al. Food systems are responsible for a third of global anthropogenic GHG emissions. *Nat Food* **2**, 198–209 (2021). <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00225-9>
- 5 FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. "Greenhouse Gas Emissions from Agri-food Systems—Global, Regional and Country Trends, 2000–2020." *FAOSTAT Anal. Br. Ser.* **50** (2022): 1-12.
- 6 FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations; Bioversity International. Sustainable Diets and Biodiversity: Directions and Solutions for Policy, Research and Action; Burlingame, B., Dernini, S., Nutrition and Consumer Protection Division, FAO, Eds.; In Proceedings of the International Scientific Symposium, Biodiversity and Sustainable Diets United Against Hunger, Rome, Italy, 3–5 November 2010
- 7 Oricon – Osservatorio Ristorazione Collettiva e Nutrizione. (2023). Ristorazione collettiva, i dati della ricerca annuale Oricon confermano la crisi del settore
- 8 Xu, Xiaoming, et al. "Global greenhouse gas emissions from animal-based foods are twice those of plant-based foods." *Nature food* **2.9** (2021): 724-732.
- 9 Sousa, J.M.; Teixeira, A.C.; Liz Martins, M. Assessment of Food Sustainability in School Canteens: Menu Quality and Environmental Performance. *Sustainability* **2025**, *17*, 5346. <https://doi.org/10.3390/su17125346>
- 10 Burlingame, B. A., and S. Dernini. "Food and Agriculture Organization of the United Nations; Biodiversity International, eds." *Sustainable diets and biodiversity: directions and solutions for policy, research and action* (2012).
- 11 "Global greenhouse gas emissions from food systems", Xiaoming Xu, Francesco Tubiello, Alessandro Sansone, et al. *Nature Food*
- 12 Cooking techniques and nutritional quality of food: A comparison between traditional and innovative ways of cooking, Niko Romito, Roberto Luneia, Lorenzo M. Donini, et al., *International Journal of Gastronomy and Food Science*, **25** (2021), 100381.
- 13 Innovative Cooking Techniques in a Hospital Foodservice: Effects on the Quality of Hospital Meals, Lorenzo M. Donini, Niko Romito, Roberto Luneia, et al., *Nutrition* **93** (2022), 111487.
- 14 Boschini, M., et al. Lo Spreco Alimentare a Scuola Indagine Nazionale Sugli Sprechi Nelle Mense Scolastiche e Proposta di Una Metodologia di Rilevamento. Ministero DELL’Ambiente e Della Tutela del Territorio e del Mare—Direzione Generale Per i Rifiuti e L’inquinamento, Progetto Reduce. ISBN 978-88-97549-48-1. Available online: <https://www.sprecozero.it/wp-content/uploads/2020/07/Report-AR3-%E2%80%9393-Scuole.pdf> (accessed on 23 October 2020), 2019.
- 15 Boschini, Matteo, et al. "Why the waste? A large-scale study on the causes of food waste at school canteens." *Journal of Cleaner Production* **246** (2020): 118994.
- 16 Crovella, Tiziana, Nicola Minafra, and Annarita Paiano. "Challenges and opportunities of environmental sustainability in the public management of school canteen service. Assessment of European practices." *International Public Management Review* **25.1** (2025): 55-92.

- 17 Tauhidah, Sarah At, Cicilya Candi, and Adang Bachtiar. "A comprehensive school-based nutrition intervention to improve the implementation of healthy school canteen policy: a systematic review." (2021): 57-66.
- 18 S. Amadori, C. Casonato, G. Obersteiner, M. Vittuari, A rapid assessment tool of environmental and economic impacts of food waste in collective catering: an example from 8 European school canteens, *Environmental and Sustainability Indicators*, Volume 30, 2026, 101228, ISSN 2665-9727, <https://doi.org/10.1016/j.indic.2026.101228>.
- 19 Gaddis, J., & Coplen, A. K. (2018). Reorganizing School Lunch for a More Just and Sustainable Food System in the US. *Feminist Economics*, 24(3), 89–112. <https://doi.org/10.1080/13545701.2017.1383621>

Proposta di integrazione delle linee d'indirizzo per la ristorazione scolastica abruzzese

1 Introduzione

Il progetto **#iomangioascuola** mira a rivoluzionare la ristorazione collettiva scolastica attraverso un approccio innovativo che combina ricerca scientifica, gastronomica, tecnologie avanzate e pratiche sostenibili. Un elemento cruciale del progetto è la codifica dei principi della trasformazione alimentare, che vengono sistematizzati attraverso il **Metodo Niko Romito (MNR)**. Questo manuale presenta i dettagli operativi di tale metodo, nonché le tecniche ed i protocolli definiti per garantire una ristorazione **più sana, gustosa, sostenibile e accessibile**.

Lo scopo del progetto **#iomangioascuola** è quello di mostrare la possibilità di una trasformazione profonda nel modo in cui pensiamo e gestiamo la ristorazione collettiva, soprattutto in contesti come mense scolastiche, ospedaliere e di strutture simili. Un vero e proprio stravolgimento del modello tradizionale, che segna un passaggio da un sistema di preparazione e somministrazione definito dall'efficienza e dal costo, ad un modello che mette al centro la qualità nutrizionale, organolettica, il benessere, l'educazione alimentare e la sostenibilità.

I cardini su cui poggia il nuovo paradigma sono i seguenti:

- **Rivoluzione della qualità del cibo nella ristorazione collettiva:** il Metodo Niko Romito dimostra che è possibile coniugare gusto e piacere a nutrizione, salute e sostenibilità, anche in contesti con vincoli sui costi e la necessità di soddisfare grandi numeri.
- **Approccio olistico alla nutrizione e al benessere:** la ristorazione collettiva è concepita come un elemento essenziale per migliorare la salute delle persone, non più come una semplice necessità, per soddisfare un bisogno primario.
- **Innovazione nella tecnologia alimentare:** le tecniche di cottura avanzate e l'approccio alla materia prima adottati segnano un cambiamento fondamentale nel processo di preparazione del cibo.
- **Educazione alimentare e consapevolezza:** il momento del pasto a scuola diventa un momento educativo, in cui i giovani sono guidati a scelte alimentari più consapevoli e possono imparare che ciò che mangiamo influisce sulla loro salute a lungo termine.
- **Sostenibilità economica:** un altro aspetto fondamentale di questo cambiamento è il fatto che l'alta qualità del cibo può essere raggiunta mantenendo gli stessi costi di una ristorazione collettiva convenzionale.

2 Metodologia

La prima parte della ricerca si è svolta nei laboratori dell'Accademia Niko Romito, guidata dallo Chef **Niko Romito** insieme al professore **Roberto Luneia**, insieme ai collaboratori interni del Gruppo Niko Romito e un **team interdisciplinare** di collaboratori esterni, per un supporto tecnico e scientifico alla ricerca oltre che per il coordinamento e la divulgazione dei risultati.

Le diverse fasi in cui si è articolata la ricerca sono le seguenti:

- Studio delle attuali **Linee Guida per la Ristorazione Scolastica della Regione Abruzzo**.
- Definizione di una selezione di preparazioni di base e pietanze, adottando i principi del Metodo Niko Romito MNR (dettagliato a seguire).
- Analisi della **sicurezza alimentare** e del rapporto **Anti-Ossidanti e Pro-Ossidanti** su tutte le pietanze
- Invio delle pietanze, preparate con il MNR e con il metodo convenzionale, alle Università coinvolte per le analisi in vitro e in vivo.

Niko Romito – Chef e Imprenditore è il fondatore e leader del progetto. È chef e proprietario del Ristorante Reale (3 Stelle Michelin a Castel di Sangro, Abruzzo), dove ha sviluppato un approccio innovativo alla cucina. Da diversi anni è impegnato a trasmettere e applicare le sue conoscenze al di fuori delle mura del proprio ristorante per rendere accessibile un'alimentazione buona e sana. Negli anni, guidato da questa volontà ha creato il Gruppo Niko Romito, con diversi progetti e attività, dalla produzione di prodotti per il consumo domestico di altissima qualità (organolettica e nutrizionale), ad un format di ristorazione su strada, fino a diversi progetti di ricerca in collaborazione con medici, università e tecnologi. La sua esperienza e visione guidano l'intero progetto, fornendo la direzione creativa e scientifica per l'applicazione dei principi gastronomici alla ristorazione collettiva. Il Metodo Niko Romito (MNR) è stato già sperimentato nella ristorazione collettiva ospedaliera all'interno del progetto Intelligenza Nutrizionale (IN), con risultati molto positivi per l'intero settore. **Roberto Luneia – Analysis Sarel Srl** Chimico Farmaceutico, Dottore di ricerca in Chimica del Farmaco e Specialista in Chimica e Tecnologie Alimentari. È docente di Trasformazione dei Prodotti Alimentari e titolare del laboratorio di analisi chimiche e microbiologiche sugli alimenti Analysis Sarel srl. Ha all'attivo oltre 50 progetti d'innovazione e ricerca nel settore alimentare ed è autore di oltre 70 pubblicazioni scientifiche.

La fase successiva di ricerca, svolta dalle università del C.C.R.U.A. ha consentito di valutare diversi effetti dei pasti ottenuti con il MNR sull'organismo, comparandoli ai metodi convenzionali, con risultati positivi e molto promettenti. In particolare, l'**Università degli Studi di Teramo**, con il gruppo di ricerca guidato dal **Professore Mauro Serafini** (Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali) ha condotto degli studi *in vitro* sull'attività anti-infiammatoria e antiossidante delle diverse pietanze messe a punto dal team dello Chef Romito, utilizzando un modello intestinale di stress ossidativo. L'**Università degli Studi dell'Aquila**, con il gruppo di ricerca guidato dal **Professore Marco Giorgio Baroni** (Dipartimento di Medicina clinica, sanità pubblica, scienze della vita e dell'ambiente) ha condotto degli studi *in vivo* sull'indice glicemico. L'**Università degli Studi di Chieti**, con il **gruppo guidato dalla Professoressa Ester Vitacolonna** (Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento), ha condotto uno studio per valutare le proprietà anti-infiammatorie, la risposta genomica delle pietanze. I diversi studi condotti sono dettagliati nella sessione del presente documento

3 Il Metodo Niko Romito [MNR]

3.1 I principi del metodo

Il **Metodo Niko Romito (MNR)**^{1,2,3} è un approccio rivoluzionario alla gastronomia che combina scienza, tecnologia e alta cucina per ottenere preparazioni alimentari di qualità superiore, sia dal punto di vista nutrizionale che organolettico. Nato come un approccio all'interno del Ristorante Reale, successivamente codificato come Metodo e ulteriormente sviluppato negli anni dallo chef Niko Romito, per rispondere a esigenze di salute, sostenibilità, replicabilità ed educazione alimentare. Un protocollo che si distingue per l'uso di tecniche di cottura avanzate volte a esaltare il gusto, le strutture e le proprietà nutrizionali di ogni ingrediente. Il MNR permette inoltre di migliorare significativamente l'efficienza operativa delle cucine, mantenendo i costi contenuti, ciò che lo rende quindi effettivamente utilizzabile in contesti in cui la sostenibilità economica è essenziale.

Principi Fondamentali del MNR

- **Rispetto dell'ingrediente:** il MNR si concentra sul rispetto della materia prima e l'uso di tecniche di trasformazione non invasive, che esaltano il gusto, le strutture, l'aspetto dell'ingrediente, così come le proprietà nutrizionali.
- **Tecnologia:** il MNR si basa su una rigorosa ricerca scientifica e su protocolli di cottura testati, avvalendosi della tecnologia per garantire il rispetto della sicurezza alimentare e delle caratteristiche nutrizionali, puntando al miglioramento continuo della qualità dei pasti. Tecniche di trasformazione adeguate permettono di ridurre la formazione di composti pro-ossidanti e dannosi per la salute, come i radicali liberi. Queste metodologie prevedono l'uso di temperature molto più basse e tempi più brevi rispetto alle trasformazioni convenzionali, preservando così le proprietà salutistiche delle pietanze ed evitando di depauperarle con cotture violente.
- **Nutrizione:** ogni piatto è studiato per garantire un bilanciamento tra macronutrienti (carboidrati, proteine, grassi) e micronutrienti (vitamine, minerali, antiossidanti) essenziali per il corpo umano. I pasti così concepiti soddisfano le necessità nutrizionali di chi li consuma.
- **Sostenibilità economica e ambientale:** il MNR consente una gestione efficiente delle risorse. Promuove un'alimentazione che riduce l'impatto ambientale, minimizzando gli sprechi e ottimizzando i processi di produzione ed il consumo energetico.
- **Educazione alimentare:** il MNR è anche uno strumento di educazione alimentare. Insegnare a riconoscere e a scegliere alimenti che siano non solo gustosi, ma anche funzionali per il corpo e la mente, è un elemento cruciale per il benessere collettivo. Questo aspetto si concretizza nella formazione degli operatori, ma anche nell'educazione degli utenti finali, i bambini e ragazzi.

3.2 Le Tecniche di Cottura previste dal MNR

Tecnica della Salamoia

La tecnica della salamoia consente di cuocere i vegetali (anche congelati), preservandone al meglio le proprietà organolettiche e nutritive. Solitamente usata per conservare i cibi, può essere impiegata come soluzione in cottura. La presenza del sale che riduce l'attività dell'acqua unita al calore umido, molto più penetrante del calore secco, consente di raggiungere i 72°C al cuore del prodotto molto rapidamente, evitando di perdere i nutrienti più preziosi (vitamine e antiossidanti), veri responsabili delle proprietà salutistiche dei vegetali.

Metodologia di applicazione

Le verdure ancora congelate sono immerse in un liquido (carpione) composto da acqua, sale, olio e amido di mais, cui segue la cottura nel forno a vapore. In questo modo si evita la rottura delle cellule che costituiscono il vegetale, evitando la fuoriuscita dell'acqua di vegetazione e lasciando inalterato il peso dell'alimento, così come il contenuto di vitamine, sali minerali, antiossidanti e altri nutrienti. Una volta messi sottovuoto e abbattuti, gli alimenti possono essere conservati molto a lungo e rigenerati rapidamente, in forno a vapore diretto o convenzione vapore.

Vantaggi

- La possibilità di evitare la fuoriuscita dell'acqua di vegetazione durante la cottura dei vegetali ne riduce notevolmente il calo di peso, assicurando una maggiore resa per una stessa quantità di prodotto rispetto alle cotture tradizionali.
- La salamoia chiude le fibre dei vegetali evitando il rilascio di acqua e l'ossidazione delle clorofille, assicurando una colorazione brillante che rende le verdure più appetibili (meno scarto).
- Generale risparmio economico e ottimizzazione dei costi.

Cottura a Bassa Temperatura Controllata

È una delle tecniche chiave del MNR e viene utilizzata per garantire che gli alimenti siano cotti in modo uniforme. È un processo che permette di cuocere gli alimenti lentamente, mantenendo il loro valore nutrizionale e organolettico. Abbassando le temperature e allungando i tempi di cottura, si ottiene una cottura uniforme che preserva le vitamine, gli antiossidanti e le altre molecole bioattive, che altrimenti verrebbero distrutti nelle cotture più aggressive. Questo processo è particolarmente utile per la carne, che mantiene una struttura morbida e succosa, ma può essere applicato anche ad altri alimenti.

Metodologia di applicazione

Gli alimenti vengono cucinati in sacchetti sottovuoto e poi immersi in bagno termostatico a temperature che raggiungono i 72°C al cuore del prodotto. Ogni porzione è preconfezionata per garantire la

consistenza e la qualità ottimale. Una volta cucinati, gli alimenti vengono abbattuti e stoccati in frigorifero, pronti per essere rigenerati prima del servizio.

Vantaggi

- Omogeneità e standardizzazione: ogni pezzo di alimento è cucinato con precisione, garantendo lo stesso risultato per ogni porzione.
- Miglioramento della qualità: la cottura a bassa temperatura preserva il gusto, la texture ed il valore nutrizionale degli alimenti.
- Sostenibilità: riduce il rischio di sprechi e la necessità di utilizzare condimenti industriali.
- Ottimizzazione dei costi: riduce il consumo di condimenti e ottimizza l'uso delle materie prime.

Cottura a Vapore

La cottura a vapore è una tecnica che garantisce una cottura delicata, a bassa temperatura, ideale per preservare le vitamine, antiossidanti e salvaguardare la consistenza naturale degli alimenti. A differenza della cottura in forno convenzionale (con calore secco), che causa una forte dispersione di liquidi e nutrienti, il vapore permette agli alimenti di cuocere senza disidratarsi, mantenendo il contenuto nutritivo intatto. Questo processo preserva anche la pigmentazione naturale degli alimenti, in particolare per le verdure, migliorando così la percezione sensoriale di chi le consuma.

Metodologia di applicazione

La cottura a vapore è altamente versatile, applicabile a una vasta gamma di alimenti, da verdure a foglia e non, legumi, carne e pesce. Una delle caratteristiche distintive della cottura a vapore è che può essere utilizzata per alimenti freschi o congelati, senza compromettere i sapori o le proprietà nutritive. L'assenza di combustione evita il rischio di produzione di acrilammide, una sostanza potenzialmente dannosa che si forma durante la cottura ad alte temperature in seguito ad un eccessivo avanzamento del complesso delle reazioni di Maillard. La formazione di acrilammide è fortemente inibita dalla presenza di acqua, quindi la cottura a vapore non è minimamente coinvolta in questo processo degradativo-tossico.

Vantaggi

- Ottimizzazione dei tempi e costi: la cottura simultanea di alimenti di diversa natura permette di risparmiare tempo e ridurre i costi operativi.
- Miglioramento della salute: la cottura a vapore preserva tutti i nutrienti, consentendo di realizzare piatti più sani e gustosi.
- Miglioramento estetico e gustativo: le verdure e gli altri alimenti cotti al vapore presentano un aspetto vivace ed un sapore intenso, migliorando l'esperienza sensoriale del consumatore.
- Migliore organizzazione della cucina: l'assenza di combustione dei grassi mantiene l'ambiente di cottura più sano e pulito, riducendo la necessità di detergenti.
- Risparmio economico: elimina la necessità di oli e grassi aggiuntivi, non necessari perché l'alimento viene cotto con la sua acqua e quella contenuta nel vapore, riducendo così anche i costi del condimento.

Cottura ad Alta Temperatura con Pellicola di Amido

Questa tecnica prevede l'uso di un gel protettivo (composto da amido e olio) che viene applicato sugli alimenti prima della cottura ad alte temperature. Questo gel crea una barriera che permette di cuocere velocemente gli alimenti, mantenendo la loro umidità interna e proteggendo i tessuti che li costituiscono dall'alta temperatura.

Metodologia di applicazione

Il gel di amido viene preparato con amido di mais, olio, sale e acqua, e poi applicato sugli alimenti prima della cottura. La cottura ad alta temperatura consente al gel di solidificarsi, formando una patina croccante che sigilla l'alimento, mantenendolo morbido all'interno. Questo metodo è particolarmente utile per proteggere le carni ed i pesci, che, se cotti troppo velocemente o a temperature troppo alte, potrebbero disidratarsi, perdendo la loro struttura ed alterando le loro proprietà nutrizionali.

Vantaggi

- Migliore resa: riduce al minimo il calo di peso degli alimenti, con un impatto positivo sui costi di acquisto.
- Ottimizzazione della cucina: unico condimento che sostituisce l'uso di oli o grassi aggiunti.
- Miglioramento del sapore e della struttura: la protezione del gel di amido esalta la piacevolezza gustativa e visiva del piatto.

Cottura in Depressione

La tecnica descritta permette la concentrazione degli alimenti attraverso l'eliminazione di parte dell'acqua in tempi e a temperature molto inferiori ai 100 °C. In condizioni normali, l'acqua pura bolle a 100 °C, ma negli alimenti liquidi (che sono soluzioni acquose con soluti disciolti), l'ebollizione avviene a temperature superiori a causa dell'innalzamento ebullioscopico, una delle proprietà colligative delle soluzioni. Questo fenomeno si verifica perché i soluti abbassano la tensione di vapore dell'acqua; per far sì che la tensione di vapore raggiunga la pressione atmosferica (condizione necessaria per l'ebollizione) è necessaria una temperatura maggiore di 100 °C. Al contrario, la cottura in depressione viene eseguita in contenitori a pressione notevolmente inferiore a quella atmosferica. Lavorando a bassa pressione, la tensione di vapore richiesta per l'ebollizione è quindi molto più bassa e l'acqua può evaporare a temperature ben inferiori (ad esempio, attorno ai 70 °C).

Vantaggi

- Riduzione drastica dei fenomeni ossidativi, responsabili della perdita di colore e degradazione di nutrienti preziosi come vitamine e antiossidanti (circa 8 volte più lenti).
- Sicurezza alimentare: garantita dalla riduzione dell'attività dell'acqua (a_w), che rende l'alimento inadatto alla proliferazione e sopravvivenza dei batteri.
- Riduzione dei tempi di cottura
- Qualità organolettica superiore

Recupero degli Scarti

Una delle tecniche distintive del MNR, un approccio che punta a ridurre al minimo gli sprechi alimentari. Questa tecnica consiste nell'utilizzare tutte le rimanenze che derivano dalle cotture di verdure e carni, eliminando completamente la dispersione di materia prima. Le cotture poco aggressive, come quelle a bassa temperatura o a vapore, permettono infatti di preservare al meglio gli ingredienti, consentendo di ottimizzarne gli usi.

Metodologia di applicazione

I menù delle mense collettive sono solitamente pianificati con largo anticipo: grazie a una pianificazione attenta e meticolosa, è possibile prevedere con una buona approssimazione gli scarti che si produrranno durante la preparazione dei pasti. Una volta stoccati sottovuoto e abbattuti, gli scarti possono essere conservati e utilizzati in momenti successivi o direttamente nel menu, come base per nuove ricette. Il MNR non si limita a riutilizzare gli scarti come brodi, acque di cottura o salse, ma li considera un punto di partenza per la creazione di piatti completamente nuovi. Così, l'avanzo di materia prima diventa motore di innovazione, contribuendo ad arricchire il piano alimentare e aumentando la qualità percepita del servizio di ristorazione.

Vantaggi

- Riduzione del food cost: gli scarti possono essere riutilizzati, riducendo così il costo di ogni singolo piatto.
- Riduzione della quantità di rifiuti alimentari: la valorizzazione degli scarti riduce la produzione di rifiuti alimentari, migliorando l'impatto ambientale.
- Risparmio economico e ottimizzazione dei costi e degli spazi: l'impiego degli scarti riduce il bisogno di acquistare nuove materie prime.
- Educazione alimentare: la cucina collettiva diventa più consapevole e il cuoco di mensa assume un ruolo attivo nella proposta e organizzazione del servizio.

Cottura e pastorizzazione

La grande innovazione proposta in questo studio include anche l'adozione di tecniche innovative per la cottura/pastorizzazione degli alimenti, con l'obiettivo di conservare i prodotti a temperatura ambiente per lunghi periodi, almeno 12 mesi, una conservazione ottimale senza l'uso di conservanti chimici o tecniche invasive. In particolare, è stata sperimentata una tecnica che prevede l'uso di **sacche multistrato** (composte da polipropilene e alluminio), ideali per resistere ai trattamenti termici necessari per la cottura/pastorizzazione. All'interno di queste sacche sono state trattate zuppe a base di cereali e legumi, nonché singoli cereali e legumi.

Vantaggi

- **Conservazione lunga e sicura:** i prodotti cotti e pastorizzati possono essere conservati a temperatura ambiente per oltre 12 mesi senza conservanti aggiunti, mantenendo elevati standard di sicurezza alimentare e qualità nutrizionale.
- **Qualità organolettica superiore:** miglioramento di colore, texture, sapore e aroma rispetto alle cotture convenzionali.

- **Pastorizzazione a bassa temperatura:** l'acidificazione dei prodotti ($\text{pH} < 4.5$) permette di eseguire un trattamento di pastorizzazione (70-100 °C) anziché una sterilizzazione a 121 °C, prevenendo il degrado di colore e texture associato alle alte temperature.
- **Efficienza logistica e costi:** ottimale per un modello di centro di cottura unico, permettendo la preparazione di grandi quantità in anticipo e riducendo drasticamente i costi di produzione e i tempi di preparazione nei punti di somministrazione.
- **Sostenibilità tecnica:** significativa riduzione del consumo energetico, sia in fase di produzione che grazie alla conservazione a temperatura ambiente.
- **Riduzione degli sprechi:** la minimizzazione dei cali di peso durante il processo, contribuisce a una gestione più efficiente delle risorse, mentre la conservazione consente maggior flessibilità nella programmazione dei menu.

La Sostenibilità Economica del MNR

La ristorazione collettiva pubblica è soggetta a dei vincoli di costi per cui è necessaria una gestione molto attenta. Nonostante l'investimento iniziale in termini di attrezzature, l'adozione delle tecniche di cottura avanzate e di metodi di trasformazione efficienti previsti dal MNR riduce anche i costi operativi legati al processo di produzione.

- **Ottimizzazione dell'ingrediente:** le tecniche come la cottura sottovuoto e a bassa temperatura riducono drasticamente il calo di peso degli alimenti durante la cottura (fino al 25% in meno di calo peso), ottimizzando il rendimento delle materie prime.
- **Ottimizzazione dei processi:** grazie alla standardizzazione dei metodi, le cucine collettive possono operare con maggiore efficienza, riducendo i costi operativi senza compromettere la qualità dei pasti.
- **Riduzione degli sprechi:** grazie all'uso degli scarti, all'ottimizzazione dell'uso della materia prima, ma anche riduzione degli sprechi del servito, grazie a cibi più gustosi.
- **Risparmio energetico:** le tecnologie utilizzate nel MNR sono progettate per ridurre il consumo energetico, con un impatto positivo sul food cost e sull'efficienza complessiva delle cucine. Studi di analisi approfonditi in questo senso sono in programma per il futuro.

3.3 Attrezzature e tecnologie

L'applicazione del Metodo Niko Romito (MNR) richiede, come naturale conseguenza, un investimento significativo in macchinari ed attrezzature tecnologicamente avanzate. Questi strumenti sono essenziali per garantire l'efficacia delle tecniche di cottura e trasformazione, nonché per assicurare la massima precisione nel controllo dei tempi, delle temperature, delle pressioni e dell'umidità, che sono fondamentali per ottenere risultati ottimali. Tali esigenze devono necessariamente essere riportate nei capitolati delle gare di appalto, poiché solo attraverso questo livello burocratico è possibile proporre e giustificare investimenti di tale entità, che verranno quindi sostenuti solamente dai centri cottura assegnatari degli appalti di fornitura. Le strutture scolastiche, in cui il cibo viene principalmente solo somministrato o rigenerato, non necessitano di particolari investimenti in macchinari.

Questo permette di garantire la qualità dei pasti preparati e di implementare un sistema su larga scala, capace di garantire elevati standard nutrizionali ed organolettici in tutte le strutture, che non dipendono più dall'attività del singolo operatore. Di seguito vengono elencate le attrezzature principali che sono state utilizzate per questo studio.

Macchinari per la Cottura in Depressione: due macchinari per la cottura in depressione: uno da 120 lt e uno da 25, lt entrambi in versione 4.0 per automatizzare i processi e dotati di un generatore di vapore integrato, con sistema di recupero e riutilizzo dell'acqua di condensa. Tutte le parti in contatto con gli alimenti sono realizzate in acciaio AISI 316L. Inoltre le apparecchiature sono completate da un sistema di gestione riscaldamento/raffreddamento, rilevamento, gestione e controllo della temperatura, pressione del vapore regolabile da pannello di controllo e da remoto; Sistema, gestione e controllo depressione e pressione in vasca).

Forni Combinati a Vapore: due forni, dotati di un sistema di cottura intelligente che consente la connessione in rete e la gestione dei programmi per vari tipi di piatti (pollame, carne, pesce, verdure, piatti a base di uova, dessert, contorni, prodotti da forno e Finishing). Questi forni offrono la possibilità di costruire metodi di cottura personalizzati, che possono essere richiamati tramite pannello di controllo o da remoto.

Brasiera per la Cottura in Depressione: una brasiera 2×19 dm² e 2 x 25 L, pensata per cotture prolungate a bassa temperatura, garantendo un processo uniforme e delicato.

Abbattitore per Carrelli HD40.2: un abbattitore per Carrelli HD40.2 con capacità per carrelli 60x40 e 400 litri, utilizzato per abbattere rapidamente la temperatura degli alimenti, preservando la qualità ed i nutrienti.

Dosatrice Automatica: una dosatrice automatica dotata di movimentazione meccanica, capace di effettuare dosaggi estremamente precisi di prodotti densi e semidensi, essenziale per mantenere gli standard nutrizionali e la qualità costante.

Una Tappatrice Automatica: una tappatrice automatica per la chiusura sottovuoto di vasi in vetro con capsule twist-off, impiegata per la conservazione di preparazioni alimentari in modo sicuro e igienico. Aggraffatrice automatica con vuoto o ATM

Autoclave Pastorizzatore Verticale: l'autoclave pastorizzante verticale consente la pastorizzazione e la sterilizzazione a temperatura controllata di grandi quantità di alimenti, mantenendo intatti i nutrienti ed i sapori.

Piano per cottura ad induzione da banco

Sistema di dosatura calibrato: un sistema intelligente per il dosaggio accurato degli ingredienti.

Macchina per il vuoto

Si ribadisce che questi macchinari sono essenziali per garantire l'applicabilità del Metodo Niko Romito su larga scala, che necessita l'adozione di tecniche avanzate di cottura e trasformazione, e per assicurare che i processi produttivi siano efficienti, scalabili ed in grado di rispettare gli standard nutrizionali e di qualità stabiliti.

4 Pietanze e preparazioni sviluppate con il MNR

L'attività di ricerca e sperimentazione ha portato alla definizione di una serie di **schede di cottura di pietanze e preparazioni di base**, scelti sulla base delle linee guida per la ristorazione scolastica della regione. Tutte le pietanze e preparazioni di base sono state preparate utilizzando i metodi previsti dal MNR, ottenendo un alto valore organolettico degli alimenti, testati dal team di ricerca di Niko Romito. In particolare, si sono realizzate le ricette delle seguenti pietanze (dettagliate nell'Allegato A):

- Lasagna vegetale;
- Lasagna al ragù;
- Minestra di ceci e riso rosso;
- Fusello di pollo con crema di carote;
- Branzino in crema di carote;
- Fettina di vitello in crema di broccoli;
- Tortino di verdure;

Si sono inoltre realizzate le seguenti **schede di cottura di base** (dettagliate nell'Allegato A):

- Salse di base;
- Cottura per la carne;
- Cottura per il pesce (in filetti);
- Cottura verdure
- Zuppe, minestre e cotture di base (in autoclave) di legumi e cereali;

Tutte le pietanze sono state preparate anche a partire dagli stessi ingredienti ma utilizzando metodi di cottura tradizionali, per le analisi del R.A.P. dettagliate in seguito e per i successivi studi svolti dagli atenei abruzzesi. Si è scelto di utilizzare prevalentemente ingredienti gelo, di facile reperibilità e food cost contenuto, per dimostrare che anche partendo da materie prime “ordinarie”, l'utilizzo delle giuste tecniche permette comunque di ottenere ottimi risultati sia dal punto di vista organolettico che nutrizionale.

Cottura/sterilizzazione in busta

Grazie alla cottura/sterilizzazione in busta si sono ottenute straordinari risultati sia con cereali e legumi cotti singolarmente che con zuppe e minestre. Questi piatti finiti, pronti per essere semplicemente riscaldati e serviti, aprono scenari interessanti: consentono di disporre rapidamente di alimenti ad alto valore salutistico, la cui preparazione tradizionale è notoriamente lunga e complessa, mentre la

combinazione di cereali e legumi fornisce un profilo amminoacidico ottimale, completo di tutti gli amminoacidi essenziali nelle proporzioni corrette.

La tecnica di cottura/sterilizzazione è stata utilizzata anche per ingredienti singoli (come i ceci) successivamente assemblati in ulteriori preparazioni (come la minestra di riso rosso e ceci, tra le 7 pietanze analizzate).

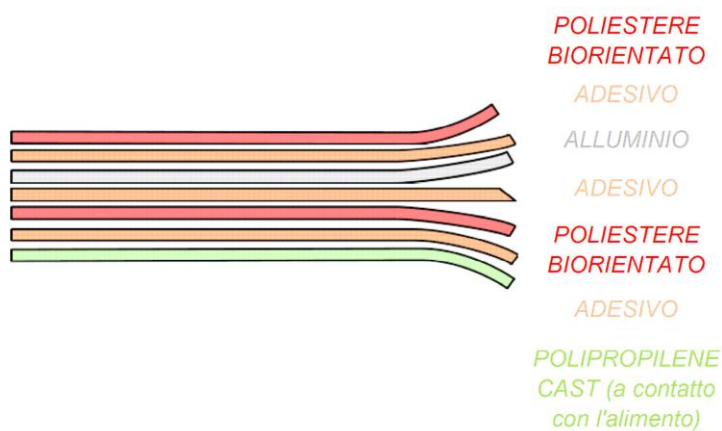


Figura 1: particolare dei componenti delle buste

Le bevande vegetali non zuccherate

Nell'ambito di questo progetto, è stato dedicato un particolare focus alla **creazione e introduzione di bevande di origine vegetale non zuccherate**, con l'obiettivo di modificare un paradigma consolidato e migliorare la salute dei fruitori delle mense scolastiche.

L'introduzione di bevande salutari nasce dalla crescente consapevolezza riguardo uno dei problemi più gravi di salute pubblica che sta emergendo negli ultimi 10-15 anni: l'aumento esponenziale di giovani sovrappeso e obesi, a causa di comportamenti alimentari scorretti, consumo di "Junk food" (cibi spazzatura) ed in particolare, di bevande zuccherate. Proprio le bevande zuccherate, erroneamente considerate come una normale bevanda paragonabile all'acqua, sono in realtà ricche di zuccheri e forniscono un apporto calorico aggiuntivo eccessivo. In media, il consumo quotidiano di bevande zuccherate porta ad un apporto calorico di oltre 500 Kcal/giorno, che, nel medio-lungo termine, è uno dei principali fattori di rischio per l'insorgenza di sovrappeso e obesità nei giovani.

In risposta a questa problematica, sono state sviluppate nel progetto bevande a base di frutta e verdura, non zuccherate, ma particolarmente ricche di composti bioattivi con proprietà antiossidanti e antinfiammatorie. Per la realizzazione delle bevande sviluppate e analizzate nel progetto è stata utilizzata solo frutta ricca in antociani, come il melograno, i mirtilli, i lamponi e le fragole. Gli antociani sono composti antiossidanti naturali di grande potenza, noti anche per il loro effetto antinfiammatorio. Questi frutti sono tra le fonti vegetali più ricche di antociani, che apportano importanti benefici per la salute.

Inoltre, sono state esplorate anche bevande a base di vegetali, come ad esempio la rapa rossa, che ha dimostrato di avere proprietà antiossidanti e antinfiammatorie notevoli.

L'aumento dell'utilizzo di ingredienti vegetali nelle bevande, insieme all'applicazione delle tecniche del MNR nella loro trasformazione, ha creato un effetto sinergico, che potenzia ulteriormente le proprietà salutistiche delle bevande, contribuendo a un significativo miglioramento dell'attività antinfiammatoria nei pasti consumati.

Ogni ingrediente è trattato separatamente, con il proprio metodo specifico di preparazione, che deriva da schede base dedicate, garantendo una precisione e una riproducibilità ottimali.

Attraverso queste schede operative, insegna a gestire ogni fase della preparazione in modo metodico e strutturato, assicurando così che ogni piatto non solo rispetti i criteri nutrizionali e di qualità, ma sia anche scalabile e riproducibile su larga scala. In fase di preparazione, gli effetti del MNR sulle proprietà nutrizionali degli alimenti trasformati sono stati studiati misurando il Rapporto tra Antiossidanti e Pro-ossidanti (R.A.P.), mentre gli Atenei Abruzzesi ne hanno valutato gli effetti sull'organismo attraverso l'analisi delle proprietà antiossidanti, antinfiammatorie e all'analisi dell'indice glicemico.

4.1 Validazione Microbiologica

Il MNR è frutto di oltre 10 anni di ricerche, già validate con il progetto *Intelligenza Nutrizionale* rivolto alla ristorazione ospedaliera. In quel contesto, sono stati dimostrati i benefici salutistico-nutrizionali di queste tecniche "dolci" ed è stata verificata la sicurezza alimentare con numerose indagini microbiologiche.

Tra le varie analisi che sono state effettuate a supporto della validità scientifica del metodo sono state eseguite oltre 200 analisi microbiologiche. Dall'analisi dei risultati emerge un quadro lusinghiero sia per i parametri indicatori (tutti < 10), sia per quanto riguarda i patogeni che sono assenti in tutte le pietanze testate. Questa validazione microbiologica del metodo ci ha consentito di affrontare lo studio attuale considerando l'aspetto della sicurezza alimentare come un dato già acquisito da cui partire per questo nuovo progetto ancora più innovativo e ambizioso. Ciononostante, a ulteriore conferma della metodologia, tutte le pietanze sono state analizzate in due diversi laboratori per assicurare l'assoluta imparzialità. I dati di queste prove sono già stati eseguiti tutti con esito conforme dal punto di vista microbiologico e successivamente ripetuti in replicato partendo dagli stessi campioni in due laboratori diversi anche accreditati, per confermare quindi in modo inequivocabile la validazione della sicurezza alimentare anche per questo studio.

Tabella 1 Analisi riassuntiva delle validazioni microbiologiche

	CAMPIONE	CMT a 30°C (UFC/g)	Coliformi a 37°C (UFC/g)	E. Coli (UFC/g)	Muffe (UFC/g)	Salmonella (/25g)	Listeria (/25g)
15006088	Fagiolini cotti	<10	<10	<10	<10	assente	assente
15006089	Carote cotte	<10	<10	<10	<10	assente	assente
15006090	Vellutata di verdure con pasta	<10	<10	<10	<10	assente	assente
15006093	Purè	<10	<10	<10	<10	assente	assente
15006094	Ceci cotti	<10	<10	<10	<10	assente	assente
15006095	Minestrone per vellutata	<10	<10	<10	<10	assente	assente
15006097	Merluzzo gratinato	<10	<10	<10	<10	assente	assente
15006099	Totano in umido	<10	<10	<10	<10	assente	assente
15006101	Tortino di patate	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000441	Gnocchi al ragù	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000447	Pollo Arrosto	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000452	Scaloppina di suino	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000456	Polpettone Pranzo	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000460	Spinaci Pranzo	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000465	Fettine alla pizzaiola	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000468	Patate al Forno	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000470	Bietola cotta	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16000475	Bocconcini di maiale	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003492	Carote cotte	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003494	Ceci cotti	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003496	Merluzzo prezzemolo	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003498	Zucchine cotte	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003502	Spinaci cotti	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003504	Bietola cotta	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003506	Cicoria cotta	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003633	Cavolo di Bruxelles cotto	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003634	Lasagna rossa	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003635	Lasagna bianca	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003640	Arrosto tacchino	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003641	Bocconcini ceci	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003643	Arrosto maiale	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003644	Lonza suino siringata	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16003649	Merluzzo	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004461	Zucchine cotte	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004462	Minestra legumi	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004478	Gnocchi al pomodoro	<10	<10	<10	<10	assente	assente

16004481	Pollo con patate	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004482	Lasagna al ragù	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004485	Crema di Bieta	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004487	Bocconcini di suino e ceci	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004495	Gnocchi al pomodoro	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004500	Cavoletti di Bruxelles	<10	<10	<10	<10	assente	assente
16004501	Vellutata di piselli	<10	<10	<10	<10	assente	assente

Per gli alimenti cotti e sterilizzati in busta, sviluppati per questo progetto, i vari prodotti sono stati sottoposti a specifici **cicli termici** per cercare di ottenere il miglior risultato dal punto di vista sia nutrizionale-salutistico, organolettico e della sicurezza alimentare, raggiungendo sempre F° superiori a 10, a fronte di limiti di garanzia che indicano valori di F0 da 3 a 6. I trattamenti termici utilizzati sono sempre stati almeno 2 o 3 volte superiori a minimi richiesti, il che consente comunque di garantire le qualità organolettiche e nutrizionali dei preparati. Tutti i prodotti cotti in busta sono stati sottoposti a valutazione della loro sicurezza alimentare attraverso analisi microbiologiche che hanno dato in tutti casi esiti eccellenti evidenziando assoluta sterilità dei prodotti realizzati con totale assenza di microrganismi e loro spore nel caso specifico del *Clostridium Botulinum* che rappresenta il microrganismo più resistente ai trattamenti termici resistendo fino a temperature di 121°C. Gli stessi prodotti sono poi stati sottoposti a trattamento di shelf-life accelerata per conservazione in termostato in modo tale da mettere in condizione eventuali batteri o spore superstiti di potersi moltiplicare, ma anche in questo caso le prove hanno dato tutte esito negativo. Sono state eseguite anche prove di shelf-life naturale conservando il prodotto a temperatura ambiente per 6 e 9 mesi e poi sottoposto prima di tutto ad analisi microbiologiche - che hanno dato tutte esito negativo – e a test organolettici, che hanno evidenziato il mantenimento di tutte le caratteristiche. Infatti nei test duo-trio i prodotti non sono mai stati differenziati dal gruppo panel che li ha testati.

Tabella 2 Analisi microbiologiche sui prodotti cotti in busta

CAMPIONE	CMT a 30°C (UFC/g)	Coliformi a 37°C (UFC/g)	E. Coli (UFC/g)	Muffe e lieviti (UFC/g)	Clostridium Botulinum e Spore (UFC/g)
Riso Rosso	<10	<10	<10	<10	<10
Riso Nero	<10	<10	<10	<10	<10
Fagioli tondini	<10	<10	<10	<10	<10
Minestra cereali e legumi	<10	<10	<10	<10	<10
Zuppa legumi	<10	<10	<10	<10	<10
Ceci	<10	<10	<10	<10	<10
Farro e orzo	<10	<10	<10	<10	<10
Pomodoro base	<10	<10	<10	<10	<10

5 Il R.A.P. (Rapporto Antiossidanti/Pro-ossidanti)

5.1 Antiossidanti e Pro-ossidanti

Lo studio del rapporto tra antiossidanti e pro-ossidanti è uno strumento fondamentale per studiare le proprietà di un ingrediente dopo la sua trasformazione e prima del suo consumo, in quanto consente di valutare in vitro l'effetto delle tecniche di cottura sulle proprietà nutrizionali e salutistiche di un ingrediente. Selezionare gli ingredienti migliori dal punto di vista nutrizionale, non è infatti sufficiente a garantire il potere antiossidante di un pasto, in quanto questo dipende dai processi di trasformazione utilizzati. I metodi di cottura convenzionali rischiano di ridurre drasticamente il valore delle sostanze bioattive e possono addirittura portare alla formazione di sostanze pro-ossidanti (come i radicali liberi), potenzialmente dannose. Gli **antiossidanti** sono molecole che proteggono l'organismo dai danni causati dai radicali liberi e dallo stress ossidativo, che possono danneggiare le cellule, accelerare il processo di invecchiamento cellulare e favorire l'insorgere di malattie cronico-degenerative. I **pro-ossidanti** sono, al contrario, molecole che possono danneggiare le cellule, favorendo la formazione di radicali liberi, contribuendo così all'invecchiamento cellulare e all'insorgenza di malattie cronico-degenerative. Questi composti sono prodotti durante la cottura, specialmente se le tecniche utilizzate sono troppo violente (alte temperature, lunghi tempi di cottura). Il MNR nel suo insieme si propone di ottenere un rapporto R.A.P. favorevole, in quanto le tecniche di cottura adottate preservano la qualità nutrizionale e minimizzano la formazione di sostanze pro-ossidanti dannose per la salute. Studi scientifici svolti in passato dal gruppo di lavoro Niko Romito [1,2] hanno dimostrato che l'utilizzo di alcune delle tecniche del MNR (come la cottura a bassa temperatura, con pellicola di amido, in salamoia o sottovuoto) producono un R.A.P. dieci volte più favorevole rispetto ai metodi di cottura tradizionali, riducendo notevolmente la produzione di sostanze dannose [1,2].

Metodologia di Applicazione

Il R.A.P. viene calcolato mettendo in relazione il contenuto di sostanze anti-ossidanti e pro-ossidanti prodotti durante il processo di cottura, al fine di determinare quante sostanze benefiche restano intatte e quanto danno ossidativo si genera. Sono stati utilizzati metodi spettrofotometrici per determinare il contenuto di composti fenolici e vitamina C, noti per le loro proprietà antiossidanti [3,4,5,6,7]. Le analisi sono state condotte sugli alimenti crudi e dopo le diverse tipologie di cottura previste dal MNR e dai metodi convenzionali, ovvero utilizzando gli stessi ingredienti ma applicando i metodi di trasformazione tradizionali. In parallelo, è stato misurato il contenuto di pro-ossidanti, determinando in particolare il contenuto di perossidi (determinati direttamente per titolazione volumetrica sugli estratti delle pietanze) ed eseguendo il test di Kreiss, che rileva invece la presenza di aldeidi e chetoni — prodotti secondari dell'ossidazione degli acidi grassi che si formano successivamente a partire dai perossidi durante le cotture violente e particolarmente prolungate. L'analisi del contenuto di perossidi e dei prodotti secondari dell'ossidazione ha permesso di monitorare la quantità di danno ossidativo determinato dalla cottura e di correlare questo fenomeno con il potenziale salutistico complessivo residuale dell'alimento. Questo metodo consente quindi di monitorare in tempo reale l'efficacia delle diverse tecniche di cottura; il R.A.P. ha dimostrato di essere uno strumento molto sensibile, capace di rilevare anche lievi variazioni nei metodi di trasformazione, il che permette quindi di intervenire rapidamente per ottimizzare i processi di cottura

Applicazioni Pratiche e Risultati

Il potenziale pro-ossidante è stato determinato sommando i contributi del contenuto dei perossidi, espressi in meq di O₂/Kg, all'ulteriore contributo stimato in 20 meq di O₂/Kg nei casi in cui il saggio di Kreiss risultava positivo. Questo incremento è stato necessario per tenere conto dell'effetto che il saggio di Kreiss, un test qualitativo, ha nel rivelare la presenza di aldeidi, chetoni e acidi carbossilici — prodotti secondari derivanti dall'ossidazione dei perossidi.

Il saggio di Kreiss infatti diventa positivo quando la concentrazione di perossidi supera i 20 meq di O₂/Kg, segnalando che la trasformazione dei perossidi in composti ossidati più stabili inizia ad essere significativa. Pertanto, senza considerare questo ulteriore fattore, si rischierebbe di sottovalutare l'effetto pro-ossidante quando i perossidi raggiungono o superano il valore di 20 meq di O₂/Kg. Questo approccio consente di ottenere una valutazione più accurata e completa del potenziale pro-ossidante, prendendo in considerazione non solo i perossidi, ma anche i loro derivati più stabili e dannosi.

Nei casi in cui si verifichi una diminuzione degli anti-ossidanti associata a un aumento dei pro-ossidanti, il potenziale salutistico globale dell'alimento, espresso come R.A.P., subisce un drastico calo, con valori che possono arrivare a 1 o addirittura scendere sotto tale valore. Questo riflette un netto peggioramento del bilancio tra gli effetti positivi e negativi sulla salute. D'altro canto, se la capacità anti-ossidante rimane pressoché invariata e non si formano sostanze pro-ossidanti, il valore del R.A.P. rimane molto elevato, anche superiore a 100, indicando un alimento con un elevato potenziale salutistico. Questo valore può variare da valori inferiori a 1 (indicando un prodotto a basso valore salutistico) a valori superiori a 100 (indicando un alimento dall'alto valore salutistico), anche se si è partiti da delle materie prime che possedevano un "potenziale salutistico" elevato.

5.2 Il RAP nella cottura dei vegetali con MNR

Sono stati valutati 9 diversi vegetali, determinando il loro potenziale antiossidante e valutandone poi la modificazione dopo i trattamenti di cottura previsti dal MNR. In tutti i casi si sono avute riduzioni del contenuto sia di composti fenolici sia della vitamina C, ma in nessun caso si è avuta formazione di perossidi. La mancata formazione dei perossidi è dovuta al ridotto contenuto di grassi dei vegetali e all'utilizzo di minime quantità di olio nella cottura secondo il MNR. La combinazione di questi due fattori fa venire meno la possibilità di avere a disposizione dei processi ossidativi i principali substrati che li subiscono vale a dire gli acidi grassi. Per contro i trattamenti termici non violenti, l'utilizzo della tecnica in salamoia e del vapore preservano in modo ottimale anche il contenuto naturale di antiossidanti tipico dei vegetali. Infatti anche se in tutti i casi il prodotto cotto ha dei valori inferiori a quello crudo, le differenze in alcuni casi (zucca, carota, broccolo) sono talmente basse da non risultare statisticamente significative.

Tabella 3 Variazioni del contenuto di antiossidanti in vegetali sottoposti a cottura con il MNR

Codice	CAMPIONE	Perossidi (meq di O ₂ /Kg)	Kreiss (Pos/Neg)	Comp Fenoloci Tot (mg/Kg come acido gallico)	Vitamina C (mg/Kg)	RAP
25000186	Zucca Cruda	ND	Negativo	170 ±12	90 ±14	260
25000187	Zucca Cotta	ND	Negativo	153 ±11	14,6 ±2	167
25000188	Carota Cruda	ND	Negativo	58 ±4	40 ±6	98
25000189	Carota Cotta	ND	Negativo	59 ±4	<10	59
25000264	Crema Carota	ND	Negativo	14 ±1	ND	14
25000190	Broccolo Crudo	ND	Negativo	396 ±28	199 ±30	595
25000191	Broccolo Cotto	ND	Negativo	385 ±27	130 ±20	515
25000192	Fagiolini Crudi	ND	Negativo	258 ±18	26,9 ±4	285
25000193	Fagiolini Cotti MNR	ND	Negativo	174 ±12	12,9 ±2	187
25000265	Crema Fagiolini MNR	ND	Negativo	116 ±8	<10	116
25000194	Piselli Cotti	ND	Negativo	168 ±12	30 ±5	198
25000266	Crema Piselli	ND	Negativo	123 ±9	<10	123
25000195	Patata Cotta	ND	Negativo	293 ±21	<10	293
25000196	Cavolfiore Crudo	ND	Negativo	314 ±22	68 ±10	382
25000263	Crema Cavolfiore	ND	Negativo	163 ±11	19,5 ±3	183
25000197	Bieta Cruda	ND	Negativo	293 ±21	ND	293
25000267	Crema Bieta	ND	Negativo	220 ±15	ND	220
25000217	Patè Legumi	ND	Negativo	313 ±22	44 ±7	357
25000218	Patè Legumi con Uovo	ND	Negativo	334 ±23	48 ±7	382
25000219	Hamburger Vegetale con piselli	ND	Negativo	294 ±21	52,2 ±8	346

5.3 Il RAP nelle pietanze finite preparate con MNR

Per applicare il MNR alla ristorazione collettiva scolastica abruzzese, oltre alle prove di cottura sui vegetali già descritte, sono state analizzate le 7 pietanze, preparate sia con il MNR sia con il metodo convenzionale. Queste stesse pietanze sono poi state testate anche negli studi sull'indice glicemico e sulle proprietà antiossidanti ed antinfiammatorie che sono stati portati avanti dagli atenei abruzzesi e che verranno descritte nell'Allegato C.

Dall'analisi dei risultati emerge che le pietanze realizzate con il MNR mostrano un **contenuto di perossidi** sempre inferiore rispetto a quelle realizzate con il metodo convenzionale, con delle differenze statisticamente significative. Tutte le pietanze invece hanno dato esito negativo al **test di Kreiss** evidenziando che per questo gruppo di pietanze, caratterizzate da un contenuto modesto di grassi, i fenomeni ossidativi che si sono verificati durante le cotture sono sempre stati moderati.

Per quanto riguarda la **riduzione del contenuto di composti fenolici** invece l'andamento è meno netto ed in alcuni casi il contenuto di composti fenolici del prodotto convenzionale è addirittura superiore a quello realizzato con il MNR. Tale fenomeno apparentemente in contraddizione con le condizioni di temperatura meno drastiche utilizzate, in realtà si manifesta esclusivamente in pietanze dove è presente il pomodoro. In letteratura [8,9] è noto che il contenuto di carotenoidi ed antiossidanti nel caso del pomodoro aumenta durante i trattamenti termici in quanto la temperatura riesce a liberare i composti fenolici intrappolati nelle strutture cellulari che altrimenti non risulterebbero disponibili non riuscendo quindi a svolgere le loro funzioni antiossidanti. Va sottolineato che queste differenze sono statisticamente significative solamente nella lasagna al ragù, mentre nel caso del *Riso ceci e pomodoro* la differenza è minima e statisticamente

non significativa. In tutte le altre coppie di pietanze il contenuto di composti fenolici è sempre superiore in quelle ottenute con il MNR.

Per quanto riguarda invece **la vitamina C** l'andamento dei risultati è uniforme, con un contenuto sempre più alto per le pietanze realizzate con il MNR e con delle differenze sempre statisticamente significative, tranne nel caso della lasagna al ragù. L'andamento omogeneo verso un maggior contenuto di Vitamina C nelle pietanze MNR è spiegabile con il fatto che la vitamina C è molto sensibile alla temperatura ed in presenza di ossigeno tende ad ossidarsi molto rapidamente, perdendo le proprie naturali attività antiossidanti. I dati relativi ai quattro parametri presi in considerazione nello studio, sono poi stati utilizzati per effettuare il calcolo del RAP.

In questo caso l'effetto amplificante del rapporto **Anti-ossidanti/Pro-ossidanti** ha consentito di ottenere valori sempre superiori per le pietanze realizzate con il MNR con delle differenze sempre statisticamente significative con valori che vanno dalle 2 volte, come nel caso della lasagna vegetale, fino alle 18 volte superiori come nel caso della lasagna al ragù.

I risultati ottenuti sono talmente chiari ed inequivocabili che consentono di affermare ancora una volta che il MNR è certamente un metodo di trasformazione degli alimenti che preserva le proprietà nutritive e salutistiche delle materie prime utilizzate. Il confronto con il metodo convenzionale evidenzia che ci sono delle differenze statisticamente significative sia verso la minore riduzione degli antiossidanti sia nel minor aumento dei pro-ossidanti, che si traduce quindi in delle differenze sempre statisticamente significative anche in termini di RAP.

Tabella 4 Analisi a confronto: pietanze ottenute con il MNR e con metodi di cottura convenzionali

Codice	CAMPIONE	Perossidi (meq di O ₂ /Kg)	Kreiss (Pos/Neg)	Comp Fenoloci Tot (mg/Kg come acido gallico)	Vitamina C (mg/Kg)	RAP
25000326	Lasagna Vegetale	9,6 ±0,8	Negativo	215 ±15	10 ±1,5	23
25000211	Lasagna Vegetale Conv	16,7 ±1,3	Negativo	195 ±14	ND	12
25000212	Lasagna Ragù	ND	Negativo	447 ±31	18 ±2,7	465
25000327	Lasagna Ragù Conv	12,3 ±1	Negativo	532 ±37	15,9 ±2,4	45
25000328	Fusello Pollo Crema Patate	ND	Negativo	270 ±19	19,3 ±2,9	289
25000221	Fusello Pollo Crema Patate Conv	13,1 ±1	Negativo	216 ±15	ND	16
25000480	Fettina Vitello crema broccoli	4,1 ±0,3	Negativo	258 ±18	14,7 ±2,2	67
25001248	Fettina Vitello crema broccoli Conv	18,2 ±1,5	Negativo	217 ±15	ND	12
25000329	Branzino con Carote	8,5 ±0,7	Negativo	224 ±16	12,0 ±1,8	28
25001250	Branzino con Carote Conv	25,3 ±2	Negativo	95 ±7	ND	4
25000216	Riso rosso Ceci Pomodoro	ND	Negativo	211 ±15	4 ±0,6	215
25000482	Riso rosso Ceci Pomodoro Conv	6,5 ±0,5	Negativo	222 ±16	ND	34
25000483	Tortino Vegetale	0	Negativo	230 ±16	4,2 ±0,6	234
25001249	Tortino Vegetale Conv	4,2 ±0,3	Negativo	116 ±8	ND	28

5.4 Il RAP per la cottura/sterilizzazione in busta

La **cottura e sterilizzazione in busta di vegetali, cereali e legumi** ha consentito di ottenere dei risultati straordinari. Il metodo ha consentito di operare sempre in presenza di molta acqua e in presenza di ridotte

quantità di ossigeno, riducendo significativamente i fenomeni ossidativi. L'analisi dei risultati evidenzia la totale assenza di perossidi e, fatta eccezione per l'hamburger vegetale che ha subito una precedente cottura prima della sterilizzazione, gli altri prodotti mantengono un elevato contenuto sia di composti fenolici sia di vitamina C evidenziando la quasi totale assenza di fenomeni ossidativi.

Tabella 5 RAP per cottura/pastorizzazione in busta

Codice	CAMPIONE	Perossidi (meq di O ₂ /Kg)	Kreiss (Pos/Neg)	Comp Fenoloci Tot (mg/Kg come acido gallico)	Vitamina C (mg/Kg)	RAP
25000219	Hamburger Vegetale con piselli	ND	Negativo	294 ±21	52,2 ±8	346
25000220	Hamburger Vegetale sterilizzato	ND	Negativo	297 ±21	<10	297
25000254	Pomodoro Base (busta)	ND	Negativo	834 ±58	118 ±18	952
25000255	Minestra Cereali Legumi (busta)	ND	Negativo	478 ±33	47 ±7	525
25000256	Zuppa di legumi (busta)	ND	Negativo	625 ±44	34±5	659

5.5 Il RAP nelle bevande Antiossidanti

Dall'analisi dei risultati emerge che durante la trasformazione dei vegetali per ottenere le bevande, essendo in presenza di grandi quantità di acqua e di pochissimi grassi, i fenomeni ossidativi sono del tutto inibiti. Inoltre utilizzando degli specifici macchinari che lavorano in depressione la concentrazione dei prodotti che richiede l'allontanamento dell'acqua avviene a temperature intorno ai 70°C dove il livello d'imbrunimento non enzimatico è veramente ridotto e quindi anche i colori restano vivi e brillanti rendendo i prodotti realizzati più accattivanti e appetibili. Ovviamente questa modalità di trattamento "dolce" consente di preservare la gran parte degli antiossidanti normalmente presenti nei vegetali di partenza. Infatti tutti i prodotti realizzati hanno valori di RAP superiori a 200 e nel caso dell'arancia si arriva a valori prossimi a 3000.

Tabella 6 Risultati delle analisi sulle bevande

Codice	CAMPIONE	Perossidi (meq di O ₂ /Kg)	Kreiss (Pos/Neg)	Comp Fenoloci Tot (mg/Kg come acido gallico)	Vitamina C (mg/Kg)	RAP
25000234	Verza	ND	Negativo	312	< 10	322
25000235	Scarola	ND	Negativo	225	ND	225
25000236	Rapa Cavolo	ND	Negativo	318	ND	318
25000237	Rapa	ND	Negativo	680	<10	690
25000238	Arancia	ND	Negativo	2523	368	2891
25000239	Mandarino	ND	Negativo	1720	39	1759
25000240	Pompelmo	ND	Negativo	2224	87	2311

Bibliografia

1. Cooking techniques and nutritional quality of food: A comparison between traditional and innovative ways of cooking, Niko Romito, Roberto Luneia, Lorenzo M. Donini, et al., *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25 (2021), 100381.
2. Innovative Cooking Techniques in a Hospital Foodservice: Effects on the Quality of Hospital Meals, Lorenzo M. Donini, Niko Romito, Roberto Luneia, et al., *Nutrition* 93 (2022), 111487.
3. Faller, A.L., Fialho, E., 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Res. Int.* 42, 210–215. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.10.009>.
4. Gliszczyńska-Swigło, A., Ciska, E., Pawlak-Lemańska, K., Chmielewski, J., Borkowski, T., Tyrakowska, B., 2006 Nov. Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Addit. Contam.* 23 (11), 1088–1098. <https://doi.org/10.1080/02652030600887594.37>.
5. Haung, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Chem.* 53, 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>.
6. Kaur, Charanjit, Kapoor, H.C., 2001. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology - Int J Food Sci Technol.* 36, 703–725. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2001.00513.x>.
7. Miglio, C., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V., Pellegrini, N., 2008 Jan 9. Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 56 (1), 139–147. <https://doi.org/10.1021/jf072304b.38>. Pellegrini, N., Chiavaro, E., Gardana, C., Mazzeo, T., Contino, D., Gallo, M., Riso, P., Fogliano, V., Porrini, M., 2010 Apr 14. Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen brassica vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 58 (7), 4310–4321. <https://doi.org/10.1021/jf904306r>.
8. Seybold, C., Fröhlich, K., Bitsch, R., Otto, K., Böhm, V., 2004. Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing. *J. Agric. Food Chem.* 52 (23), 7005–7010. <https://doi.org/10.1021/jf049169c.10>.
9. Eun-Sun Hwang 1, Maria Stacewicz-Sapuntzakis, Phyllis E Bowen, 2012, Effects of heat treatment on the carotenoid and tocopherol composition of tomato, *J Food Sci*. Oct;77(10):C1109-14. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02909.x. Epub 2012 Sep 5.

Le schede di cottura

Metodo Niko Romito

Le basi

Salamoie, Sali e gel di amido

<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		SALAMOIA PER VERDURE	
1000	G	ACQUA	
20	G	SALE FINO	SCIOGLIERE SALE E ZUCCHERO NELL'ACQUA
7	G	ZUCCHERO	
		SALAMOIA PER PESCE	
1000	G	ACQUA	
15	G	SALE	SCIOGLIERE SALE E ZUCCHERO NELL'ACQUA
5	G	ZUCCHERO	
30	G	SEDANO	
4	G	AGLIO	
5	G	BUCCIA DI LIMONE	
		SALAMOIA PER VERDURE SALATA	
1000	G	ACQUA	SCIOGLIERE SALE E ZUCCHERO NELL'ACQUA
40	G	SALE FINO	
7	G	ZUCCHERO	
		SALI BILANCIATI CARNI BIANCHE	
150	G		
30	G	SALE	
		ZUCCHERO	
		SALI BILANCIATI CARNI ROSSE	
125	G	SALE	
75	G	ZUCCHERO	
		GEL DI MAIZENA NEUTRO	
1000	G	ACQUA	MESCOLARE OLIO E MAIZENA ASSIEME.
30	G	MAIZENA	SALARE L'ACQUA E AGGIUNGERLA UN POCO PER VOLTA AL PASTELLO
30	G	OLIO EVO	DI OLIO E MAIZENA, CONTINUANDO A MESCOLARE.
8	G	SALE	PORTARE A BOLLORE PER 3/5 MINUTI FINO AD OTTENERE UN GEL.

Salse di base

<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		BESCIAMELLA	
1000	G	LATTE FRESCO	FONDERE IL BURRO CON L'AMIDO DI MAIS IN UNA CASSERUOLA.
50	G	BURRO	AGGIUNGERE IL LATTE E PORTARE AD EBOLLIZIONE.
80	G	AMIDO DI MAIS	AGGIUNGERE IL SALE, MESCOLARE E CUOCERE FINO A CONSISTENZA
7	G	SALE FINO	DESIDERATA.
		SALSA DI POMODORO	
2500	G	PELATO IN SCATOLA	FRULLARE I PELATI.
15	G	SALE FINO	UNIRE IL SALE IN UNA CASSERUOLA.
			PORTARE AD EBOLLIZIONE E CUOCERE PER 15'.
		CREMA DI PATATE	
500	G	PATATE	PEsu teaLARE LE PATATE E TAGLIARLE A CUBI DI 3 CM.
150	G	ACQUA	UNIRE TUTTI GLI INGREDIENTI IN UNA GASTRONORM
150	G	LATTE FRESCO	CUOCERE IN FORNO 100° VAPORE PER 30'
7	G	SALE FINO	FRULLARE IL TUTTO FINO AD OTTENRE UNA CREMA
			ABBATTERE IN POSITIVO
			Da questo procedimento si ottengono 6/8 porzioni da 100 gr
ATTREZZATURE			
CASSERUOLA DI ACCIAIO			
FRUSTA			
LECCAPENTOLA			
FRULLATORE			
BILANCIA			

Cottura verdure gelo

<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		COTTURA BROCCOLI GELO	
500	G	BROCCOLI	IMMERGERE I BROCCOLI NELLA SALAMOIA SALATA PER 1 MINUTO E SCOLARE. IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO. STENDERE I BROCCOLI SU TEGLIA DI ACCIAIO ED INSERIRE IN FORNO. CUOCERE PER 5 MINUTI, QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE SALATA	
		COTTURA CAROTE GELO	
500	G	CAROTE GELO	STENDERE LE CAROTE GELO SU TEGLIA BORDI ALTI E UNIRE LA SALAMOIA. IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO E INSERIRE LE VERDURE. CUOCERE PER 8 MINUTI. SCOLARE LA VERDURA DALLA SALAMOIA. QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE	
		COTTURA FAGIOLINI GELO	
500	G	FAGIOLINI GELO	STENDERE I FAGIOLINI GELO SU TEGLIA BORDI ALTI E UNIRE LA SALAMOIA. IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO E INSERIRE LE VERDURE. CUOCERE PER 4 MINUTI. SCOLARE LA VERDURA DALLA SALAMOIA. QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE	
		COTTURA PISELLI GELO	
500	G	PISELLI GELO	STENDERE I PISELLI GELO SU TEGLIA BORDI ALTI E UNIRE LA SALAMOIA. IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO E INSERIRE LE VERDURE. CUOCERE PER 3 MINUTI. SCOLARE LA VERDURA DALLA SALAMOIA. QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE	
		SALAMOIA PER VERDURE	
1000	G	ACQUA	
20	G	SALE FINO	
7	G	ZUCCHERO	
		SALAMOIA PER VERDURE SALATA	
1000	G	ACQUA	
40	G	SALE FINO	
7	G	ZUCCHERO	

ATTREZZATURE

TEGLIA DA FORNO
BILANCIA E MINUTERIA DI SERVIZIO

COTTURA VERDURE



Broccoli in salamoia per verdure



Fagiolini in salamoia per verdure



Carote in salamoia per verdure



Preparazione verdure.

Cottura carni bianche

<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		FUSELLO DI POLLO	
100 1,2	G G	FUSELLO DI POLLO DISOSSATO SALI BILANCIATI CARNI BIANCHE	CONDIRE IL POLLO CON I SALI BILANCIATI CARNI BIANCHE CUOCERE IL FUSELLO DI POLLO DISOSSATO DA 100 G L'UNO, A 85° VAPORE PER 30'. ABBATTERE IN POSITIVO. RIGENERO TOGLIERE LA PELLE, AGGIUNGERE ROSMARINO TRITATO, UN FILO D'OLIO E INFORNARE A 230° C 0% UMIDITA' PER 5'.
		SALI BILANCIATI CARNI BIANCHE	
150 30	G G	SALE FINO ZUCCHERO	

ATTREZZATURE

TEGLIA DI ACCIAIO
BILANCIA
BILANCINO DI PRECISIONE
FORNO CONVENZIONALE
MINUTERIA DI SERVIZIO

NOTE

**Calo peso post cottura 15%*
**Su 1kg di carne: 12 gr di Sali bilanciati.*
**I tempi di cottura possono variare in base al numero di fuselli di pollo.*

FUSELLO DI POLLO



Disossare i fuselli di pollo.



Condirli con i Sali bilanciati per carni bianche.



Cuocere a 85° vapore per 30 minuti.



Tritare il rosmarino.



Rigenerare i fuselli aggiungendo e il rosmarino tritato.



Infornare a 230° C ventilato per 5 minuti.

Cottura pesce gelo

<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		FILETTO DI BRANZINO GELO	
100	G	FILETTO DI BRANZINO GELO	STENDERE SU TEGLIA BORDI ALTI IL FILETTO DI BRANZINO CON LA PELLE RIVOLTA VERSO L'ALTO E COPRIRE CON LA SALAMOIA PESCE. IMPOSTARE IL FORNO A 230° VENTILATO 0% UMIDITA' E CUOCERE PER 6 MINUTI. TOGLIERE LA PELLE E ABBATTERE IN POSITIVO. <i>*Calo peso post cottura 25 G</i>
100	G	SALAMOIA PER PESCE	
		SALAMOIA PER PESCE	
1000	G	ACQUA	
15	G	SALE	
5	G	ZUCCHERO	
30	G	SEDANO	
4	G	AGLIO	
5	G	BUCCIA DI LIMONE	

ATTREZZATURE

TEGLIA DI ACCIAIO BORDI ALTI
 BILANCIA
 FORNO CONVENZIONALE
 MINUTERIA DI SERVIZIO

Ragù di carne (vitello e suino)

QT	U	INGREDIENTE	PROCEDIMENTO
		RAGU	
1500	G	SALSA POMODORO BASE	TRITARE SEDANO, CAROTA E CIPOLLA AL TRITACARNE O AL CUTTER. UNIRE IL TRITO ALLA CARNE MACINATA E DISTRIBUIRE IN UNA TEGLIA IN FORATA. TOSTARE IN FORNO A 230° VENTILATO 0% UMIDITA' PER 7', MESCOLAR E INFORNARE ALTRI 7'; ABBATTERE IN POSITIVO +4°. SGRANARE IL MACINATO COTTO; UNIRE LA CARNE E I SUOI SUCCHI ALLA SALSA DI POMODORO. <i>*I tempi di cottura possono variare in base al forno convenzionale in dotazione</i>
700	G	CARNE MACINATA DI VITELLO	
300	G	CARNE DI SPALLA DI SUINO MACINATA	
50	G	CIPOLLA	
100	G	SEDANO	
100	G	CAROTE	
		SALSA DI POMODORO	
2500	G	PELATO IN SCATOLA	FRULLARE I PELATI. UNIRE IL SALE IN UNA CASSERUOLA. PORTARE AD EBOLLIZIONE E CUOCERE PER 15'.
15	G	SALE FINO	
ATTREZZATURE			
TEGLIA DA FORNO TEGLIA DA FORNO FORATA BILANCIA TRITACARNE O CUTTER MINUTERIA DI SERVIZIO			
NOTE			
Calo peso 30%			



UNIRE ALLA CARNE MACINATA DI VITELLO E SUINO IL TRITO DI SEDANO, CAROTA E CIPOLLA



DISTRIBUIRE IL COMPOSTO IN UNA TEGLIA FORATA

TOSTARE IN FORNO A 230° VENTILATO 0% UMIDITA' PER 7', MESCOLAR E INFORNARE ALTRI 7'



UNIRE LA CARNE E I SUCCHI DELLA CARNE ALLA SALSA DI POMODORO

Le pietanze

Minestra di ceci e riso rosso



<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
MINESTRA CECI E RISO ROSSO			UNIRE TUTTI GLI INGREDIENTI SENZA L'OLIO IN UNA CASSERUOLA. PORTARE SU FIAMMA PER 5 MINUTI. TOGLIERE DAL FUOCO E SERVIRE AGGIUNGENDO L'OLIO EVO. Nb. Sono state utilizzate le buste di ceci e di riso rosso come da schede tecniche. Tuttavia è possibile utilizzare ceci cotti in scatola e riso rosso da precuocere. <i>*una porzione 260 g</i>
120	G	RISO ROSSO PRECOTTO	
60	G	BASE SALSA POMODORO	FRULLARE I PELATI. UNIRE IL SALE AI PELATI IN UNA CASSERUOLA. PORTARE AD EBOLLIZIONE E CUOCERE PER 15'.
100	G	CECI PRECOTTI	
90	G	ACQUA	
3	G	SALE FINO	
3	G	OLIO EVO	
BASE SALSA POMODORO			
2500	G	PELATO IN SCATOLA	
15	G	SALE FINO	

ATTREZZATURE

CASSERUOLA.
BILANCIA E MINUTERIA DI SERVIZIO



Scolare i ceci dal vaso e passarli sotto l'acqua corrente.



Unire in una casseruola i ceci, il riso precotto, il pomodoro e cuocere per 5 minuti.

Lasagna vegetale



<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		LASAGNA VEGETALE	
3	PZ	SFOGLIE PASTA GELO	SCONGELARE LA SFOGLIA 3-4 ORE IN FRIGO COPERTA DA PELLICOLA;
1000	G	BASE BESCIAPELLA	CUOCERE LE VERDURE COME DA SCHEDA COTTURA VERDURE;
500	G	PISELLI COTTI	TAGLIARE LE VERDURE IN PICCOLI PEZZI E UNIRLE ALLA BASE BESCIAPELLA.
250	G	FAGIOLINI COTTI (MNR)	AMALGAMARE E METTERE CARTA DA FORNO SULLA TEGLIA.
250	G	BROCCOLI COTTI (MNR)	ASSEMBLARE LA LASAGNA DISPONENDO UNO STRATO DI SFOGLIA E 500 G DI PREPARATO IN DUE STRATI. CHIUDERE CON IL TERZO STRATO DI SFOGLIA E SALSA DI PARMIGIANO.
5	G	BASILICO TRITATO	CUOCERE IN FORNO VENTILATO 180° 0% UMIDITA' PER 20 MINUTI.
		SALSA PARMIGIANO	
		COTTURA BROCCOLI GELO (MNR)	
500	G	BROCCOLI	IMMERGERE I BROCCOLI NELLA SALAMOIA SALATA PER 1 MINUTO E SCOLARE.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE SALATA	IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO ED INSERIRE LE VERDURE.
		COTTURA FAGIOLINI GELO (MNR)	CUOCERE PER 5 MINUTI, QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
		COTTURA PISELLI GELO (MNR)	
500	G	FAGIOLINI GELO	STENDERE I FAGIOLINI GELO SU TEGLIA BORDI ALTI E UNIRE LA SALAMOIA.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE	IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO E INSERIRE LE VERDURE.
		COTTURA PISELLI GELO (MNR)	CUOCERE PER 4 MINUTI.
		SALAMOIA PER VERDURE SALATA	SCOLARE LA VERDURA DALLA SALAMOIA. QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
		BESCIAPELLA	
100	G	PARMIGIANO	STENDERE I PISELLI GELO SU TEGLIA BORDI ALTI E UNIRE LA SALAMOIA.
60	G	ACQUA	IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO E INSERIRE LE VERDURE.
		SALAMOIA PER VERDURE	CUOCERE PER 3 MINUTI.
		SALAMOIA PER VERDURE SALATA	SCOLARE LA VERDURA DALLA SALAMOIA. QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
1000	G	ACQUA	
20	G	SALE FINO	
7	G	ZUCCHERO	
		SALAMOIA PER VERDURE SALATA	
1000	G	ACQUA	
40	G	SALE FINO	
7	G	ZUCCHERO	
		BESCIAPELLA	
1000	G	LATTE FRESCO	SCIOGLIERE IL BURRO CON L'AMIDO DI MAIS IN UNA CASSERUOLA.
50	G	BURRO	AGGIUNGERE IL LATTE E PORTARE AD EBOLLIZIONE.
80	G	AMIDO DI MAIS	AGGIUNGERE IL SALE, MESCOLARE E CUOCERE FINO A CONSISTENZA DESIDERATA.
7	G	SALE FINO	

ATTREZZATURE

TEGLIA DA FORNO, BILANCIA E MINUTERIA DI SERVIZIO.

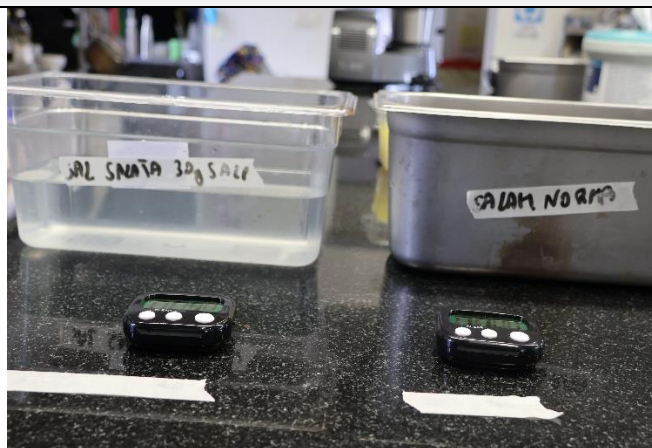
COTTURA VERDURE



Broccoli in salamoia per verdure



Fagiolini in salamoia per verdure



Preparazione salamoia



Preparazione verdure.

LASAGNA VEGETALE



Scongellare la sfoglia 3-4 ore in frigo e poi stenderla sul banco.



Preparare la base besciamella



Unire la base besciamella alle verdure cotte e tagliate.



Amalgamare.



Coprire la teglia con carta da forno e procedere con strato di sfoglia e composto.



Continuare con un secondo strato.



Ultimare con uno strato di sfoglia e salsa al Parmigiano.



Cuocere in forno ventilato 180° C per 20 minuti.

Lasagna ragù



<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		LASAGNA AL RAGU	
3 900 40	PZ G G	SFOGLIE PASTA GELO BASE RAGU (MNR) PARMIGIANO REGGIANO SALSA DI PARMIGIANO REGGIANO	SCONGELARE LA SFOGLIA 3-4 ORE IN FRIGO COPERTA DA PELLICOLA; METTERE CARTA DA FORNO SULLA TEGLIA. ASSEMBLARE LA LASAGNA DISTRIBUENDO TUTTA LA QUANTITA' DI RAGU INDICATA, DIVIDENDOLA IN 2 STRATI DA 450 G L'UNO, AGGIUNGENDO AD OGNI STRATO 20 G DI PARMIGIANO. CHIUDERE CON SFOGLIA E SALSA DI PARMIGIANO. CUOCERE IN FORNO STATICO 180° PER 15'/20'. ABBATTERE IN POSITIVO.
		BASE RAGU (MNR)	
1500 700 300 50 100 100	G G G G G G	SALSA POMODORO BASE CARNE MACINATA DI VITELLO CARNE DI SUINO MACINATA (SPALLA) CIPOLLA SEDANO CAROTE	TRITARE SEDANO, CAROTA E CIPOLLA AL TRITACARNE FIN 9. UNIRE IL TRITO ALLA CARNE MACINATA IN GASTRONORM FORATA. TOSTARE IN FORNO A 230° VENTILATO 0% UMIDITA' PER 7', MESCOLAR E INFORNARE ALTRI 7'; ABBATTERE IN POSITIVO +4°. SGRANARE IL MACINATO COTTO. UNIRE LA CARNE E I SUOI SUCCHI ALLA SALSA DI POMODORO.
		SALSA POMODORO	
2500 15	G G	PELATO IN SCATOLA SALE FINO	FRULLARE I PELATI, UNIRE IL SALE AI PELATI IN UNA CASSERUOLA. PORTARE AD EBOLLIZIONE E CUOCERE PER 15'.
		SALSA PARMIGIANO	
100 60	G G	PARMIGIANO REGGIANO ACQUA	

ATTREZZATURE

TEGLIA DA FORNO
FORNO CONVENZIONALE
BILANCIA
MINUTERIA DI SERVIZIO



Base ragù



Scongellare la sfoglia, mettere la carta da forno sulla teglia



Assemblare la lasagna distribuendo tutta la quantità di ragù indicata, dividendola in due strati da 450 g l'uno.



Aggiungere ad ogni strato il Parmigiano, 20gr a strato.



Preparare la salsa di parmigiano.
Chiudere con sfoglia e salsa ed infornare a 180° per 5'.

Branzino con crema di carote



<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
100 65 15 2 1	G G G G G	FILETTO DI BRANZINO GELO COTTO (MNR) CREMA DI CAROTE CAROTE GELO COTTE OLIO EVO BASILICO	CUOCERE IL FILETTO DI BRANZINO COME DA SCHEDA “COTTURA PESCE”. CUOCERE LE CAROTE GELO COME DA SCHEDA “COTTURA VERDURE GELO”. PREAPARE LA CREMA DI CAROTE COME DA SCHEDA COTTURA.
BRANZINO GELO COTTO			RIGENERARE IL BRANZINO: IMPOSTARE IL FORNO A 230° VENTILATO 0% UMIDITA' E CUOCERE PER 3 MINUTI. DISPORRE IN UN PIATTO DA PORTATA IL PESCE E COPRIRLO CON LA CREMA DI CAROTE. TAGLIARE LE CAROTE A CUBETTI PICCOLI E DISTRIBUIRLI SOPRA IL BRANZINO. TERMINARE CON OLIO EVO E BASILICO TRITATO. <i>*Prima del rigenero assicurarsi sempre che nel branzino non ci siano spine.</i>
100 100	G G	FILETTO DI BRANZINO SALAMOIA PER PESCE	STENDERE IL FILETTO DI BRANZINO SU UNA TEGLIA ALTA CON LA PANCIA DEL BRANZINO RIVOLTA VERSO IL BASSO. COPRIRE CON LA SALAMOIA DI PESCE. IMPOSTARE IL FORNO A 230° C VENTILATO 0% UMIDITA' E CUOCERE PER 6 MINUTI. TOGLIERE LA PELLE E ABBATTERE IN POSITIVO. <i>*Calo peso 25%</i>
CAROTE GELO COTTE			
500 500	G G	CAROTE GELO SALAMOIA PER VERDURE	STENDERE LE CAROTE GELO SU UNA TEGLIA ALTA ED UNIRE LA SALAMOIA; IMPOSTARE IL FORNO A 230° C VENTILATO 0% UMIDITA', VENTOLA A 3, ED INSERIRE LE VERDURE. CUOCERE PER 6 MINUTI. ABBATTERE IN POSITIVO +4. <i>*Non c'è calo peso ma reidratazione</i>
CREMA DI CAROTE			
300 200 20	G G G	CAROTE GELO COTTE GEL DI MAIZENA NEUTRO SUCCO LIMONE FILTRATO	CUOCERE LE CAROTE COME DA SCHEDA “CAROTE GELO COTTE”; AGGIUNGERE IL GEL DI MAIZENA E FRULLARE AD ALTA VELOCITA'. AGGIUNGERE IL SUCCO DI LIMONE, MESCOLARE E ABBATTERE IN POSITIVO.
SALAMOIA PER PESCE			
1000 15 5 30 4 5	G G G G G G	ACQUA SALE FINO ZUCCHERO SEDANO AGLIO BUCCIA DI LIMONE	
SALAMOIA PER VERDURE			
1000 20 7	G G G	ACQUA SALE FINO ZUCCHERO	
GEL DI MAIZENA NEUTRO			
1000 30	G G	ACQUA MAIZENA	MESCOLARE ASSIEME OLIO E MAIZENA. SALARE L'ACQUA E AGGIUNGERLA UN POCO PER VOLTA AL PASTELLO DI OLIO E

30	G	OLIO EVO
8	G	SALE FINO

MAIZENA, CONTINUANDO A MESCOLARE.
PORTARE A BOLLORE PER 3/5 MINUTI FINO AD OTTENERE UN GEL.

ATTREZZATURE

TEGLIA DA FORNO ALTA E BASSA
FORNO CONVENZIONALE
BILANCIA E MINUTERIA DI SERVIZIO

NOTE

**i tempi di cottura possono variare in base al forno convenzionale in dotazione*



Preparare le carote gelo cotte secondo scheda cottura.



Stendere i filetti di branzino sulla teglia alta e coprire con la salamoia di pesce.



Assemblare in un piatto da portata il filetto di branzino e sopra la crema di carote. Ultimare con i dadini di carote, foglie di basilico e olio evo.

Fettina di vitello su crema di broccoli



<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		FETTINA DI VITELLO	
100	G	FETTINA DI NOCE DI VITELLO	TAGLIARE 2 FETTINE DI VITELLO DA 50 G L'UNA E AGGIUNGERE I SALI BILANCIATI PER CARNI ROSSE. INFORNARE A VAPORE 85° PER 1 MINUTO PER LATO. TOTALE COTTURA 2 MINUTI. ABBATTERE IN POSITIVO PER 2 MINUTI. RIGENERARE AGGIUNGENDO OLIO E INFORNARE A 230° VENTILATO 0% UMIDITA' PER 2 MINUTI.
1,3	G	SALI BILANCIATI CARNI ROSSE	
2	G	SALVIA TRITATA	
3	G	OLIO	
			IMPIATTIAMENTO: CREMA DI BROCCOLI ALLA BASE, ADAGIARE SOPRA LE 2 FETTINE DI VITELLO E LA SALVIA TRITATA. *calo peso prima cottura: 10 g su 100 g
		CREMA DI BROCCOLI	
200	G	BROCCOLI GELO COTTI (MNR)	CUOCERE I BROCCOLI COME DA SCHEDA COTTURA BROCCOLI GELO. FRULLARE I BROCCOLI CON IL GEL DI MAIZENA NEUTRO AD ALTA VELOCITA'. ABBATTERE IN POSITIVO.
200	G	GEL DI MAIZENA NEUTRO	
		COTTURA BROCCOLI GELO (MNR)	
500	G	BROCCOLI GELO	IMMERGERE I BROCCOLI NELLA SALAMOIA PER VERDURE. IMPOSTARE IL FORNO A 230° 0% UMIDITA' VENTILATO ED INSERIRE LE VERDURE. CUOCERE PER 6 MINUTI. SCOLARE I BROCCOLI DALLA SALAMOIA, QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE SALATA	
		SALAMOIA PER VERDURE	
1000	G	ACQUA	
20	G	SALE FINO	
7	G	ZUCCHERO	
		GEL DI MAIZENA NEUTRO	
1000	G	ACQUA	
30	G	MAIZENA	
30	G	OLIO EVO	
8	G	SALE FINO	
		SALI BILANCIATI CARNI ROSSE	
125	G	SALE FINO	
75	G	ZUCCHERO	

ATTREZZATURE

TEGLIA DA FORNO
 FRULLATORE
 BILANCIA E MINUTERIA DI SERVIZIO



Porzionare la noce di vitello



Ricavare fettine da 50 gr l'una, aggiungere i Sali bilanciati ed infornare a 85° vapore per 1 minuto per lato.



Preparare la crema di broccoli immergendo i broccoli gelo nella salamoia salata per 2
Infornare a 230° ventilato per 6 minuti.



Frullare i broccoli cotti con il gel di maizena ad alta velocità. Abbattere in positivo.

Fusello di pollo su crema di patate



<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
100 1 10 50	G G G G	FUSELLO DI POLLO DISOSSATO ROSMARINO TRITATO OLIO EVO PUREA DI PATATE	CUOCERE IL FUSELLO COME DA SCHEDA COTTURA CARNI BIANCHE. ABBATTERE IN POSITIVO +4. RIGENERARE IL POLLO AGGIUNGENDO ROSMARINO TRITATO, UN FILO D'OLIO E INFORNARE A 230° C 0% UMIDITA' PER 4'. PREPARARE LA PUREA DI PATATE COME DA SCHEDA COTTURA. SERVIRE IN UN PIATTO DA PORTATA 50 G DI PUREA DI PATATE ALLA BASE E SOPRA ADAGIATO IL FUSELLO.
COTTURA CARNI BIANCHE			
100 1,2	G G	FUSELLO DI POLLO DISOSSATO SALI BILANCIATI CARNI BIANCHE	CONDIRE IL POLLO CON I SALI BILANCIATI CARNI BIANCHE. CUOCERE IL FUSELLI DI POLLO DISOSSATI DA 100 G L'UNO, A 85° VAPORE PER 30'. ABBATTERE IN POSITIVO.
SALI BILANCIATI CARNI BIANCHE			
150 30	G G	SALE FINO ZUCCHERO	
PUREA DI PATATE			
250 75 75 3,5	G G G G	PATATE ACQUA LATTE FRESCO SALE FINO	PALARE LE PATATE E TAGLIARLE A CUBI DI 3 CM. UNIRE TUTTI GLI INGREDIENTI IN TEGLIA DI ACCIAIO. COTTURA IN FORNO 100° VAPORE PER 30'. FRULLARE IL TUTTO FINO AD OTTENRE UNA CREMA. ABBATTERE IN POSITIVO. <i>Da questo procedimento si ottengono 4/6 porzioni da 50 gr.</i>

ATTREZZATURE

TEGLIA DI ACCIAIO
BILANCIA
BILANCINO DI PRECISIONE
FORNO CONVENZIONALE
MINUTERIA DI SERVIZIO
PELAPATATE
FRULLATORE O TERMOMIX

NOTE

**Calo peso post cottura 15%*
**Su 1kg di carne: 12 gr di Sali bilanciati.*

Fusello di pollo



Disossare i fuselli di pollo.



Condirli con i sali bilanciati per carni bianche.



Cuocere a 85° vapore per 30 minuti.



Tritare il rosmarino.



Rigenerare i fuselli aggiungendo
e il rosmarino tritato.



Infornare a 230° c ventilato per 5 minuti.

Purea di patate



Pelare le patate.



Tagliarle a pezzetti di 3 cm circa.



Disporre i pezzetti in teglia di acciaio a bordi alti.



Unire l'acqua, il latte e il sale. Frullare.

Tortino vegetale

<i>QT</i>	<i>U</i>	<i>INGREDIENTE</i>	<i>PROCEDIMENTO</i>
		TORTINO VEGETALE	
200	G	CECI PRECOTTI	SCOLARE I CECI DAL VASO SOTTO L'ACQUA CORRENTE. TRITARE TUTTI GLI INGREDIENTI IN UN CUTTER. PORZIONARE IN UN COPPA PASTA UNA PORZIONE DA 100 G. INFORNARE A 230° VENTILATO 0% UMDITA' PER 6 MINUTI. ABBATTERE IN POSITIVO.
170	G	BROCCOLI GELO COTTI	
30	G	PISELLI GELO COTTI	
100	G	RISO ROSSO PRE COTTO	
3	G	SALE FINO	
15	G	SUCCO DI LIMONE	
		IMPIATTAMENTO	
50	G	CREMA DI PISELLI	IMPIATTARE CON LA CREMA DI PISELLI ALLA BASE, ADAGIARE IL TORTINO E ULTIMARE CON 15 gr di piselli cotti e un giro d'olio. Porzione totale: 170 gr <i>Nb.</i> <i>Sono state utilizzate le buste di ceci e di riso rosso come da schede tecniche.</i> <i>Tuttavia è possibile utilizzare ceci cotti in scatola e riso rosso da precuocere.</i> <i>*Con questa ricetta escono 4 tortini da 100 gr</i>
15	G	PISELLI GELO COTTI	
3	G	OLIO EVO	
		COTTURA BROCCOLI GELO	
500	G	BROCCOLI GELO	IMMERGERE I BROCCOLI NELLA SALAMOIA SALATA PER 1 MINUTO E SCOLARE. IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO ED INSERIRE LE VERDURE. CUOCERE PER 5 MINUTI, QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE SALATA	
		PISELLI GELO COTTI	
500	G	PISELLI GELO	STENDERE I PISELLI GELO SU TEGLIA BORDI ALTI E UNIRE LA SALAMOIA. IMPOSTARE IL FORNO A 230° C 0% UMIDITA' VENTILATO E INSERIRE LE VERDURE. CUOCERE PER 3 MINUTI. SCOLARE LA VERDURA DALLA SALAMOIA. QUINDI ABBATTERE IN POSITIVO.
500	G	SALAMOIA PER VERDURE	
		CREMA DI PISELI	
250	G	PISELLI GELO COTTI	CUOCERE I PISELLI COME DA SCHEDA "PISELLI GELO COTTI". FRULLARE I PISELLI CON IL GEL DI MAIZENA NEUTRO AD ALTA VELOCITA'. ABBATTERE IN POSITIVO.
250	G	GEL DI MAIZENA NEUTRO	
		SALAMOIA PER VERDURE	
1000	G	ACQUA	
20	G	SALE FINO	
7	G	ZUCCHERO	
		SALAMOIA PER VERDURE SALATA	
1000	G	ACQUA	
40	G	SALE FINO	
7	G	ZUCCHERO	

ATTREZZATURE

TEGLIA DA FORNO
FRULLATORE

MIXER
BILANCIA E MINUTERIA DI SERVIZIO



Preparazione della crema di piselli per l'impiattamento finale.



Scolare dal vaso i ceci sotto l'acqua corrente.



Pesare ceci, broccoli e piselli



Pesare il riso rosso precotto.



Unire i ceci, i broccoli, i piselli ed il riso e tritare al cutter.



Porzionare in un coppa pasta 100 gr di preparato ed infornare a 230° ventilato per 6 minuti.



Impiattare con la crema di piselli alla base, adagiare sopra il tortino e ultimare con 15 gr di piselli e un giro d'olio evo.

Schede di preparazione per la cottura in busta in autoclave

RISO ROSSO

Ingredienti: acqua 54,5 %, riso rosso 43%, olio di girasole 1,5%, sale 0,9% e acido ascorbico 0,1%

Procedimento: viene riempita la busta con riso asciutto, quindi viene aggiunto l'olio di girasole e poi l'acqua, il sale e l'acido ascorbico, quindi la busta viene termosaldata e sottoposta al ciclo di sterilizzazione.

Il ciclo di sterilizzazione prevede un riscaldamento veloce fino a 100°C quindi un passaggio da 100° a 121°C in 15 minuti e quindi il mantenimento a 121°C per 15 minuti. Con questo processo si ottiene un F° 10-12.

RISO NERO

Ingredienti: acqua 54,5 %, riso nero 43%, olio di girasole 1,5%, sale 0,9% e acido ascorbico 0,1%

Procedimento: viene riempita la busta con riso asciutto, quindi viene aggiunto l'olio di girasole e poi l'acqua, il sale e l'acido ascorbico, quindi la busta viene termosaldata e sottoposta al ciclo di sterilizzazione in autoclave.

Il ciclo di sterilizzazione prevede un riscaldamento veloce fino a 100°C quindi un passaggio da 100° a 121°C in 15 minuti e quindi il mantenimento a 121°C per 15 minuti. Con questo processo si ottiene un F° 10-12.

CECI

Ingredienti: acqua 57%, Ceci 42%, sale 0,9%, acido ascorbico 0,1%

Procedimento: viene riempita la busta con i ceci secchi, addizionati di acqua, sale ed acido ascorbico.

Quindi la busta viene termosaldata e sottoposta al ciclo di sterilizzazione in autoclave.

Il ciclo di sterilizzazione prevede un riscaldamento veloce fino a 100°C, quindi il passaggio da 100° a 121°C in 20 minuti e poi il mantenimento a 121°C per 35 minuti. Con questo processo si ottiene un F° 12-15.

POMODORO BASE

Ingredienti: polpa di pomodoro, carote, cipolle.

Procedimento: al pomodoro vengono aggiunte carote e cipolle quindi con il frullatore si rende il preparato omogeneo, che viene quindi scaldato per 45 minuti. Si procede quindi alla pesatura ed al riempimento della busta. Le buste vengono quindi termosaldate e messe in autoclave.

Il ciclo di sterilizzazione prevede un riscaldamento veloce fino a 100°C quindi passaggio da 100° a 121°C in 15 minuti e quindi mantenimento a 121°C per 15 minuti. Con questo processo si ottiene un F° 10-12.

FAGIOLI TONDINI

Ingredienti: acqua 52%, Fagioli tondini 47%, sale 0,9%, acido ascorbico 0,1%.

Procedimento: viene riempita la busta con fagioli secchi, addizionati di acqua, sale ed acido ascorbico. Quindi la busta viene termosaldata e sottoposta al ciclo di sterilizzazione in autoclave.

Il ciclo di sterilizzazione prevede un riscaldamento veloce fino a 100°C e quindi il passaggio da 100 a 121°C in 20 minuti e poi il mantenimento a 121°C per 27 minuti. Con questo processo si ottiene un F° 12-15.

MINESTRA DI CEREALI E LEGUMI

Ingredienti: acqua 63%, legumi e cereali 21% (ORZO 30%, FARRO non perlato 25%, fagioli tondini 20%, ceci 7,5%, lenticchie 7,5%, piselli decorticati 5%, lenticchie decorticate 5%), pomodoro polpa 12%, olio extravergine di oliva 2%, sale 0,8%, cipolla disidratata 0,5%, carota disidratata 0,5%, acido ascorbico 0,1%, spezie 0,05% (rosmarino, salvia, aglio, alloro, bacche di ginepro, pepe nero, basilico),

Procedimento: vengono pesati tutti i legumi ed i cereali in proporzione e messi in miscelatore per essere mescolati e quindi vengono addizionati la farina di ceci, le spezie, carota e cipolla e quindi l'olio extra vergine di oliva. Quindi il composto omogeneo viene imbustato e aggiunto di pomodoro precedentemente scaldato con olio per 40 minuti, sale ed acido ascorbico. Le buste vengono quindi termosaldate e messe in autoclave.

Il ciclo di sterilizzazione prevede un riscaldamento veloce fino a 100°C, quindi il passaggio da 100 a 121°C in 20 minuti e poi il mantenimento a 121°C per 27 minuti. Con questo processo si ottiene un F° 12-15

ZUPPA DI FARRO e ORZO

Ingredienti: acqua 47,5%, orzo 25%, farro 25%, olio di girasole 1,5%, sale 0,9%, acido ascorbico 0,1.

Procedimento: acqua, Farro, Orzo, sale, acido ascorbico vengono posti in un bollitore e scaldati per 25 minuti e quindi scolati e raffreddati.

Successivamente viene addizionato l'olio di girasole e mescolati per renderli omogenei. La miscela viene pesata e posta nella busta, le buste vengono quindi termosaldate e quindi messe in autoclave. Le buste vengono quindi termosaldate e messe in autoclave.

Il ciclo di sterilizzazione prevede un riscaldamento veloce fino a 100°C, quindi il passaggio da 100 a 121°C in 20 minuti e poi il mantenimento a 121°C per 40 minuti. Con questo processo si ottiene un F° 12-15.

ZUPPA DI LEGUMI

Ingredienti: acqua 75%, legumi 18,5% (fagioli tondini 28%, lenticchie 25%, ceci 20%, piselli decorticati 10%, lenticchie decorticate 10%), fiocchi di patate 2,5%, olio extravergine di oliva 2%, sale 0,8%, cipolla disidratata 0,5%, carota disidratata 0,5%, acido ascorbico 0,1%, spezie 0,05% (rosmarino, salvia, aglio, alloro, bacche di ginepro, pepe nero, basilico).

Procedimento: vengono pesati tutti i legumi in proporzione e messi in miscelatore per essere mescolati e quindi vengono addizionati i fiocchi di patate, spezie, carota e cipolla e quindi l'olio extra vergine di oliva. Il composto omogeneo viene poi imbustato e aggiunto di acqua, sale e acido ascorbico. Le buste vengono quindi termosaldate e messe in autoclave.

Il ciclo di sterilizzazione prevede un riscaldamento veloce fino a 100°C e quindi il passaggio da 100° a 121°C in 20 minuti e poi il mantenimento a 121°C per 27 minuti. Con questo processo si ottiene un F° 12-15.

**LA COLLABORAZIONE CON IL
COMITATO REGIONALE DELLE
UNIVERSITÀ ABRUZZESI C.C.R.U.A**

Valutazione delle proprietà anti-infiammatorie di una serie di pietanze - Università degli Studi di Teramo

REFERENTE

Prof. Mauro Serafini

PERSONALE COINVOLTO

Prof. Donato Angelino

Dott.ssa Marina Ramal Sanchez

Dott.ssa Veronica D'Antonio

Dott.ssa Chiara Bravo Trippetta

Dott.ssa Elena Corvaglia

OBIETTIVO

Valutare l'effetto anti/pro-infiammatorio di 9 (nove) pietanze su un modello intestinale avanzato costituito da tre tipi cellulari (due linee cellulari intestinali e una linea immunitaria).

MATERIALI E METODI

Digestione *in vitro* delle pietanze

Le pietanze sono state inviate dall'Accademia Niko Romito (Castel di Sangro, AQ) e ricevute dal personale coinvolto nel progetto dell'Università di Teramo, come d'accordi, in due date diverse: 04-03-2025 (4 pietanze); 29-04-2025 (5 pietanze). Le pietanze sono state processate entro 30 minuti dall'arrivo in sede. A tale scopo, la digestione *in vitro* è stata effettuata adattando per il presente studio il protocollo INFOGEST (Minekus et al., 2014), che simula in maniera consecutiva le fasi orale, gastrica e intestinale della digestione umana. Ogni pietanza è stata omogeneizzata mediante frullatore fino a ottenere un campione uniforme, dal quale sono stati prelevati 4 g. Per la fase orale, i 4 g di ogni pietanza sono stati mescolati con 4 mL di saliva umana e incubati per 2 minuti. Per la fase gastrica, è stato aggiunto fluido gastrico simulato contenente pepsina (2000 U/mL di attività nel volume finale). Il pH è stato regolato a 3 e il volume a 16 mL e la miscela è stata incubata a 37°C per 2 ore in un miscelatore rotante. Quindi è stata aggiunta una soluzione contenente liquido intestinale simulato, contenente estratto di bile (10 mM di sali biliari nel volume finale) e pancreatina (100 U/mL di attività della tripsina nel volume finale). Il pH è stato

regolato a 7 e il volume a 32 mL e la miscela è stata incubata per due ore a 37°C in un miscelatore rotante. Al termine della digestione, i digeriti sono stati raccolti, centrifugati a 1700 g, divisi in aliquote e conservati a -20°C fino al trattamento cellulare. Per l'analisi sul modello cellulare, i digeriti sono stati diluiti in terreno di coltura a diverse concentrazioni (400, 200, 100 e 50 µL per mL di terreno di coltura cellulare). Un'aliquota senza alimenti ma contenente gli enzimi della digestione è stata usata come controllo negativo per valutare la risposta strettamente legata agli alimenti.

Calcolo sostanza secca

La concentrazione dei digeriti è espressa in grammi di sostanza secca di ogni pietanza su litro di digerito (g s.s./L). La misura della sostanza secca delle pietanze è stata effettuata con metodo gravimetrico (105°C, 24 ore). La concentrazione finale del digerito di ogni pietanza è riportata nella tabella 1.

	Nome Pietanza	Codice assegnato	Conc s.s. (g/L)
1	Lasagna vegetale - metodo NR	LV-NR1	34,38
2	Lasagna al ragù - metodo NR	LR-NR2	45,55
3	Fusello di pollo con crema di carote	P-NR3	36,83
4	Branzino in crema di carote	B-NR4	28,8
5	Fettina di vitello in crema di broccoli	V-NR5	36,67
6	Minestra di ceci e riso rosso	M-NR6	37,11
7	Lasagna vegetale - metodo tradizionale	LVt-NR7	38,47
8	Lasagna al ragù - metodo tradizionale	LRt-NR8	52,81
9	Tortino di verdure	T-NR9	32,72

Tabella 1. Riassunto delle pietanze analizzate, con il codice assegnato e la concentrazione di sostanza secca (conc s.s.), espressa in grammi di sostanza secca per litro.

Valutazione delle proprietà pro/anti-infiammatorie delle pietanze in un modello intestinale avanzato

Per la valutazione del potenziale pro- o anti-infiammatorio delle pietanze, è stato utilizzato un modello intestinale avanzato, composto da tre linee cellulari: una linea cellulare simile agli enterociti intestinali (Caco-2), un clone specifico di una linea cellulare epiteliale simile alle cellule caliciformi produttrici di muco intestinale (HT29-MTX-E12), e una linea cellulare immunitaria, i monociti (THP-1). Le cellule sono state incubate utilizzando il modello rappresentato nella Figura 1 e descritto da Ramal-Sanchez et al., *Front. Immunol.*, 2025. Brevemente, una volta assemblato e stimolato il modello mediante un opportuno stimolatore delle cellule immunitarie, il phorbol 12-myristato 13-acetato (PMA), alla concentrazione di 100 nM per 20 ore, i digeriti delle diverse pietanze sono stati incubati nella parte apicale del modello per 4 ore, alle concentrazioni precedentemente riportate. Come controllo anti-infiammatorio è stato utilizzato prednisolone alla concentrazione di 5 µM, applicato con le stesse modalità previste per le pietanze, ovvero nella parte apicale dopo 20 ore di stimolazione del modello. Al termine dell'incubazione, i surnatanti del compartimento basolaterale sono stati raccolti, aliquotati e congelati a -80 °C fino all'analisi delle citochine. Le cellule immunitarie sono state a loro volta recuperate, centrifugate a 125 g per 5 minuti e congelate a -80 °C. Una volta completata la fase di testing delle pietanze sulle cellule e raccolti i campioni cellulari, le cellule immunitarie sono state portate personalmente dalla Dott.ssa Marina Ramal Sanchez, in data 4 luglio 2025, all'Università "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara per l'analisi dell'espressione genica.

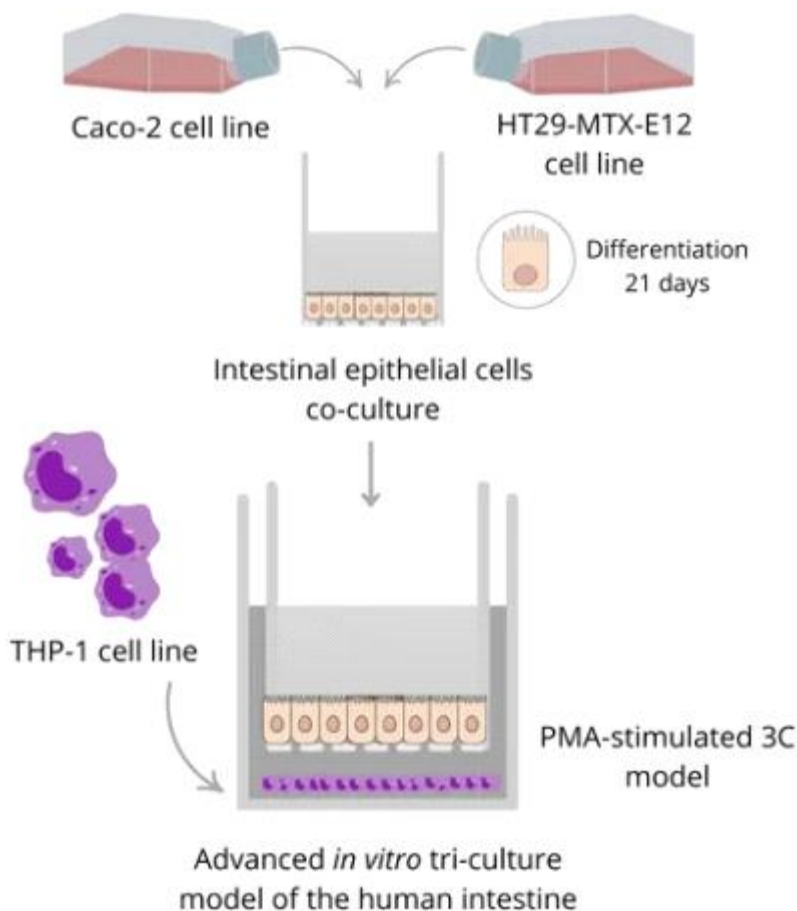


Figura 1. Schema del modello intestinale avanzato utilizzato per l'analisi delle pietanze (*Ramal-Sanchez et al., Front. Immunol. 2025*).

Analisi dei marcatori infiammatori mediante ELLA Simple Plex®

I marcatori solubili infiammatori (citochine) IL-18, IL-6, IL12p70 e TNF- α sono stati misurati insieme utilizzando un volume totale di 25 μ L per campione (diluzione 1:2), seguendo il protocollo stabilito per l'immunosaggio automatizzato ELLA Simple Plex® (ProteinSimple, San Jose, CA, USA). Ogni pietanza è stata analizzata 3 volte, in replicato tecnico e biologico (cellule a passaggi diversi), a 4 concentrazioni diverse. La citochina IL-8 è stata misurata di forma individuale, utilizzando un volume di 5 μ L per campione (diluzione 1:10), seguendo il protocollo appena descritto. Tutti i surnatanti raccolti dopo il testing di tutte le pietanze sono stati sottoposti ad analisi ELLA.

Analisi statistico dei risultati

L'analisi è stata condotta su tutte le pietanze, utilizzando dati provenienti da tre esperimenti biologici (cellule a passaggi differenti) e tecnici (giorni diversi) indipendenti. Sono state considerate le quattro citochine rilevate al di sopra del limite di detezione in seguito all'analisi delle pietanze: IL-6, IL-18, TNF- α e IL-8. I dati sono stati elaborati con GraphPad Prism 9.1.0 ed espressi come istogrammi, riportando la

media $\pm$ deviazione standard rispetto al gruppo controllo (cellule trattate con PMA ma senza ulteriori stimolazioni o aggiunte). Per valutare l'effetto dei trattamenti, è stato calcolato il valore Δ (delta) di ciascuna citochina sottraendo il valore del controllo da quello del trattamento, ottenendo così la variazione netta nella produzione rispetto al gruppo di riferimento. Sono stati eseguiti test di normalità (test di Shapiro-Wilk per $n < 50$) e identificazione dei valori anomali (ROUT test) per ogni singolo esperimento. A seguito della conferma della distribuzione normale dei dati, le differenze tra gruppi sono state analizzate mediante analisi della varianza a due vie (two-way ANOVA), confrontando tutti i trattamenti con il controllo. Per le comparazioni multiple è stato utilizzato il test LSD di Fisher non corretto.

RISULTATI

Tutte le pietanze sono state sottoposte a digestione *in vitro* e testate in triplicato, utilizzando il modello intestinale avanzato. I surnatanti del compartimento basolaterale di tutte le pietanze sono stati analizzati mediante il sistema automatizzato ELLA per la quantificazione delle citochine IL-6, IL-12p70, IL-18, IL-8 e TNF- α . Quattro di esse sono state rilevate regolarmente, mentre IL-12p70 ha mostrato valori costantemente al di sotto del limite di quantificazione del metodo (LLOQ), ad eccezione di pochi casi sporadici. La mancata rilevazione significativa di IL-12p70 non è attribuibile a errori strumentali, ma a una reale ridotta produzione della citochina nelle condizioni sperimentali applicate. Questo risultato è coerente con la letteratura scientifica, poiché IL-12p70 è un eterodimero (p35/p40) la cui secrezione da parte delle THP-1 è nota per essere scarsa, discontinua e strettamente dipendente dal tipo di stimolo, dallo stato cellulare e dal timing di raccolta. Fattori come numero di passaggi cellulari, composizione del terreno, variazioni di lotti di reagenti e condizioni di stimolazione possono influenzare marcatamente i livelli di questa citochina. È quindi plausibile che in esperimenti precedenti fossero presenti condizioni più favorevoli alla sua produzione, mentre nelle attuali analisi il rilascio risulta sotto la soglia di quantificazione. La tabella 2 riporta i valori ottenuti per trasparenza, sottolineando che il metodo funziona correttamente ma i livelli sono troppo bassi per l'esecuzione dell'analisi statistica.

	Media	Deviazione Standard		Media	Deviazione Standard
CTRL	0,015	0,007	V-NR5	0,023	0,020
Blank	0,023	0,020		0,015	0,016
LV-NR1	0,191	0,196		0,052	0,074
	0,199	0,333		0,025	0,030
	0,109	0,175	M-NR6	0,005	0,006
	0,047	0,028		0,009	0,005
LR-NR2	0,509	0,757		0,002	0,004
	0,021	0,036		0,078	0,136
	0,846	0,901	LVt-NR7	0,010	0,017
	0,067	0,005		0,011	0,018
P-NR3	0,024	0,036		0,158	0,230
	0,070	0,118		0,025	0,034
	0,009	0,011	LRt-NR8	0,036	0,062
	0,059	0,052		0,006	0,011
B-NR4	0,003	0,006		0,004	0,006
	0,002	0,003	T-NR9	0,039	0,068
	0,038	0,043		0,194	0,114

	0,043	0,057		0,303	0,171
				0,056	0,095
				0,257	0,139

Tabella 2. Valori ottenuti dall'analisi della citochina IL-12p70, espressi in pg/mL. I dati riportano la media $\pm$ deviazione standard, calcolata su tre replicati biologici e tecnici.

Come controllo anti-infiammatorio, volto a verificare il corretto funzionamento del modello e la capacità di ridurre la produzione di citochine, è stato utilizzato prednisolone 5 μ M, applicato con le stesse modalità delle pietanze, ovvero nella parte apicale dopo 20 ore di stimolazione del modello. Il prednisolone è un glucocorticoide sintetico ampiamente impiegato in clinica per le sue proprietà antinfiammatorie e immunosoppressive, in grado di modulare la produzione di diverse citochine pro-infiammatorie. La sua inclusione come controllo positivo consente di verificare la corretta responsività del modello sperimentale e la capacità di rilevare una riduzione significativa dei livelli citochinici in condizioni di trattamento farmacologico noto. La Figura 2 mostra l'effetto del prednisolone su ciascuna citochina analizzata. In tutte le citochine considerate è stata osservata una riduzione significativa, a conferma dell'effetto anti-infiammatorio del prednisolone e della corretta funzionalità del modello sperimentale.

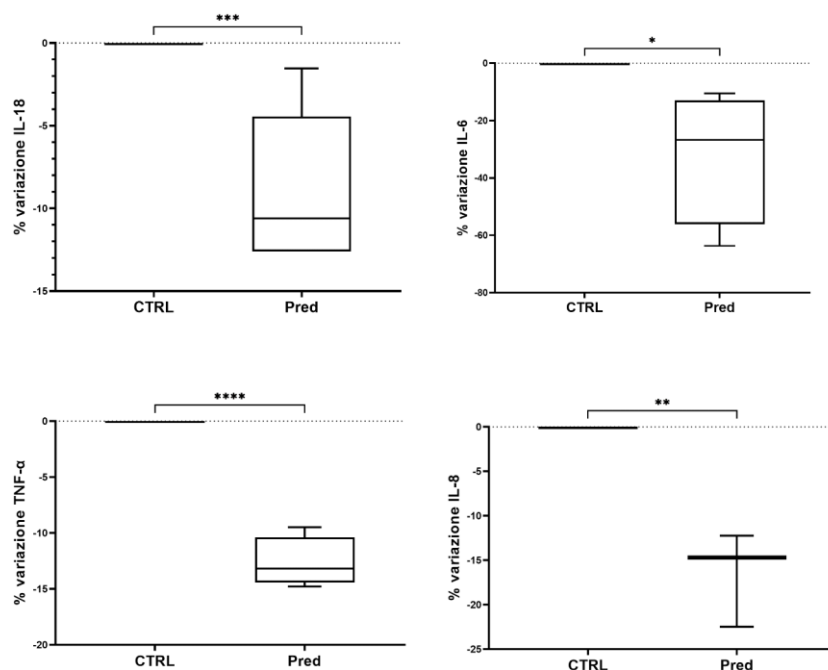


Figura 2. Analisi dell'effetto del prednisolone rispetto al controllo. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito all'aggiunta dell'anti-infiammatorio classico prednisolone alla concentrazione di 5 μ M. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 5. p < 0,05; **p<0.01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001 rispetto al controllo. CTRL: controllo trattato con PMA; Pred: prednisolone 5 μ M.

Analisi delle pietanze

Come sopra riportato, sono state analizzate quattro citochine classicamente considerate pro-infiammatorie (IL-18, TNF- α , IL-8 e IL-6 – quest'ultima tecnicamente definita pleiotropica) in relazione alle diverse pietanze: lasagna vegetale (metodo NR), lasagna al ragù (metodo NR), fusello di pollo con crema di carote, branzino in crema di carote, fettina di vitello in crema di broccoli, minestra di ceci e riso rosso, lasagna di vegetale (metodo tradizionale), lasagna al ragù (metodo tradizionale) e tortino di verdure. I risultati ottenuti sono rappresentati graficamente in forma di istogrammi, con la produzione delle quattro citochine riportata per ciascuna pietanza.

La Figura 3 mostra l'analisi delle citochine (TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8) in seguito al trattamento con diverse concentrazioni di lasagna vegetale (metodo NR). I risultati sono espressi come percentuale di variazione della concentrazione citochinica rispetto al gruppo di controllo, rappresentativo di una condizione lievemente infiammata e non trattata. Per TNF- α e IL-18 i trattamenti evidenziano una tendenza generale alla riduzione dei livelli rispetto al controllo, sebbene le differenze non risultino statisticamente significative. Al contrario, per IL-6 e IL-8 si osserva un andamento più variabile; in particolare, la concentrazione D3 induce un aumento significativo di IL-6.

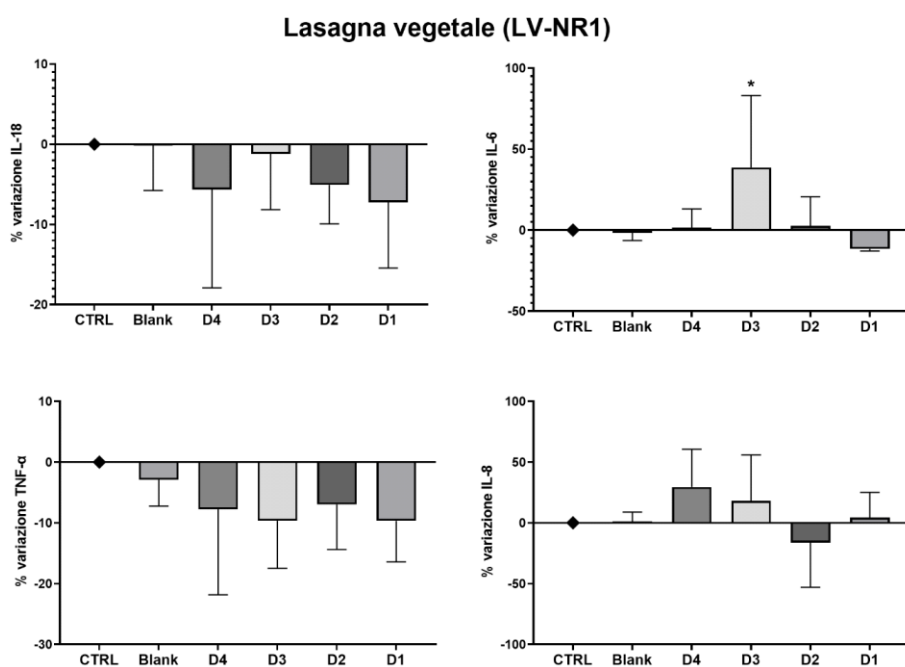


Figura 3. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza LV-NR1. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi della lasagna vegetale (metodo NR), con codice LV-NR1. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. *p < 0,05, rispetto al controllo; CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

La Figura 4 mostra l'analisi delle citochine TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8 in seguito al trattamento con diverse concentrazioni di lasagna al ragù (metodo NR). Per TNF- α , si osserva una lieve riduzione della risposta infiammatoria in tutte le condizioni testate, sebbene l'effetto non risulti statisticamente significativo. IL-18 mostra un comportamento simile, con una tendenza alla riduzione nella maggior parte dei trattamenti,

ma anche in questo caso senza significatività. Nel caso dell'IL-6, si osserva una maggiore variabilità, con alcune concentrazioni che determinano un aumento e altre una riduzione della concentrazione della citochina. Per quanto riguarda l'IL-8, l'andamento risulta più eterogeneo, con il trattamento D2 che induce un aumento significativo di questa citochina pro-infiammatoria.

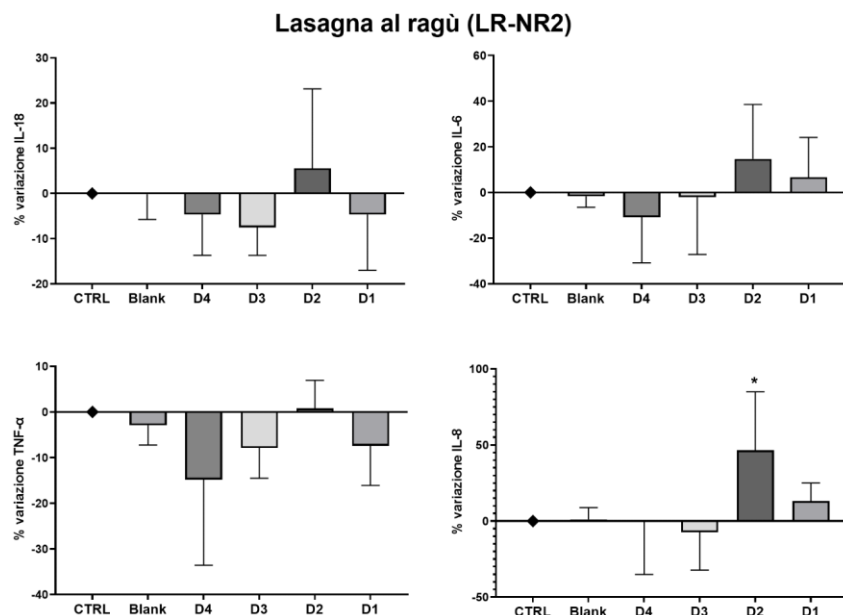


Figura 4. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza LR-NR2. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi della lasagna al ragù (metodo NR), con codice LR-NR2. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. *p < 0,05, rispetto al controllo; CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

La Figura 5 mostra l'effetto del trattamento con diverse concentrazioni di fusello di pollo con crema di carote (metodo NR) sulla produzione delle citochine pro-infiammatorie TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8. Per tutte le citochine analizzate, non sono emerse differenze statisticamente significative rispetto al controllo. TNF- α e IL-18 mostrano una lieve tendenza alla riduzione in alcune condizioni, mentre IL-6 e IL-8 presentano un andamento più variabile, senza però evidenziare variazioni rilevanti.

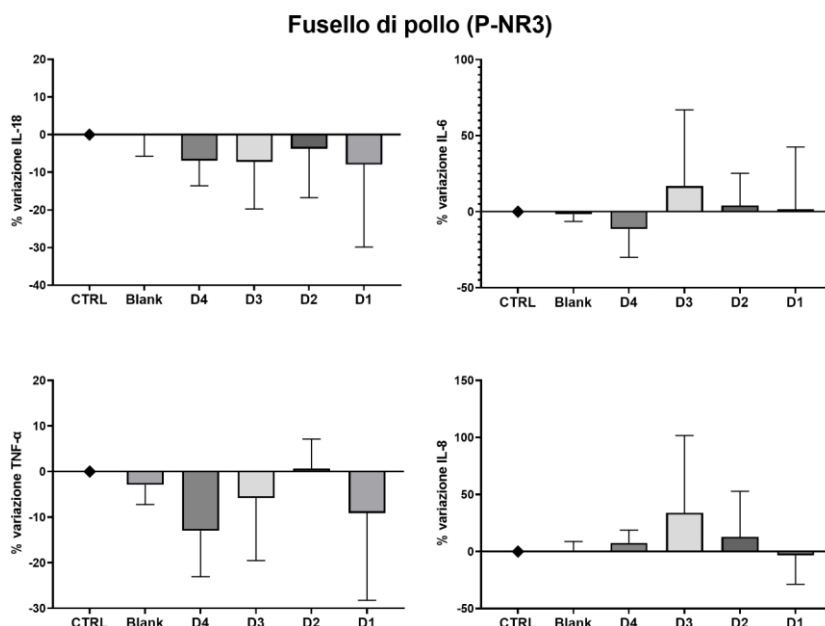


Figura 5. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza P-NR3. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi del fusello di pollo con crema di carote, con codice P-NR3. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

La Figura 6 mostra l'analisi delle citochine TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8 in seguito al trattamento con diverse concentrazioni di branzino in crema di carote (B-NR4). La concentrazione D4 mostra una tendenza alla riduzione di TNF- α , IL-18 e IL-8, sebbene senza raggiungere la significatività statistica. Al contrario, IL-6 evidenzia un andamento di incremento in tutte le concentrazioni testate, comportamento parzialmente analogo a quello osservato per TNF- α e IL-18.

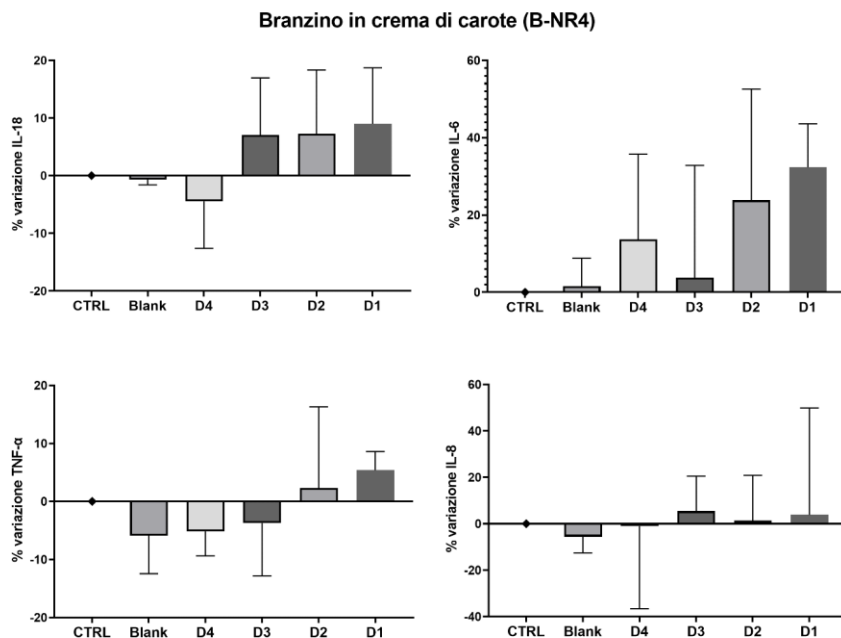


Figura 6. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza B-NR4. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi del branzino in crema di carote, con codice B-NR4. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

La Figura 7 mostra l'analisi delle citochine TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8 in seguito al trattamento con diverse concentrazioni di fettina di vitello in crema di broccoli (V-NR5). Anche in questo caso non sono emerse differenze statisticamente significative; tuttavia, si osserva una tendenza alla riduzione della concentrazione di IL-18 e TNF- α alle concentrazioni più elevate, mentre IL-6 mostra un trend di incremento a tutte le concentrazioni testate. L'andamento di IL-8 risulta invece più variabile.

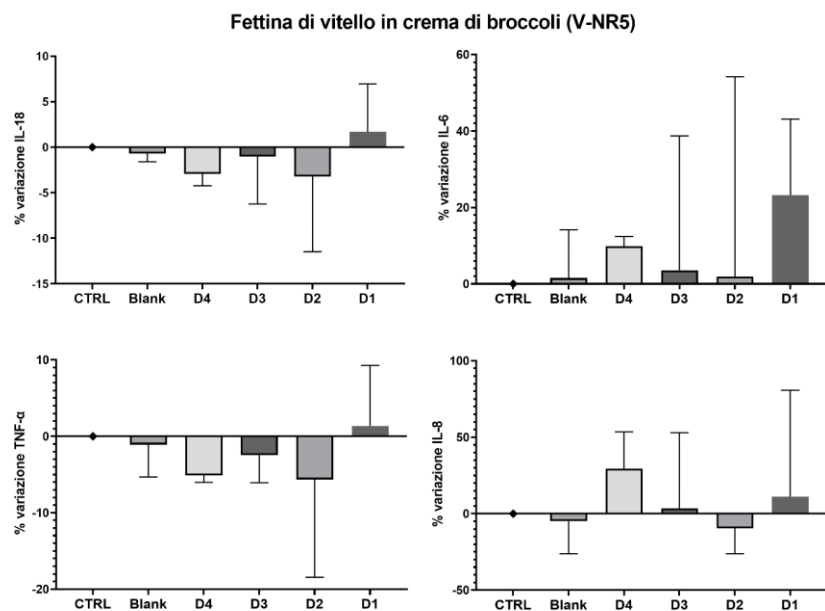


Figura 7. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza V-NR5. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi della fettina di vitello in crema di broccoli, con codice V-NR5. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

La Figura 8 mostra l'analisi delle citochine TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8 in seguito al trattamento con diverse concentrazioni di **minestra di ceci e riso rosso (M-NR6)**. In questo caso, la concentrazione più alta di digerito determina un aumento significativo di TNF- α , mentre le concentrazioni più basse mostrano, al contrario, una tendenza alla riduzione della produzione di questa citochina. L'andamento di IL-18 e IL-6 risulta simile a quello osservato per le pietanze precedenti, mentre IL-8 mostra un effetto più lineare tra le diverse concentrazioni, senza tuttavia raggiungere la significatività statistica.

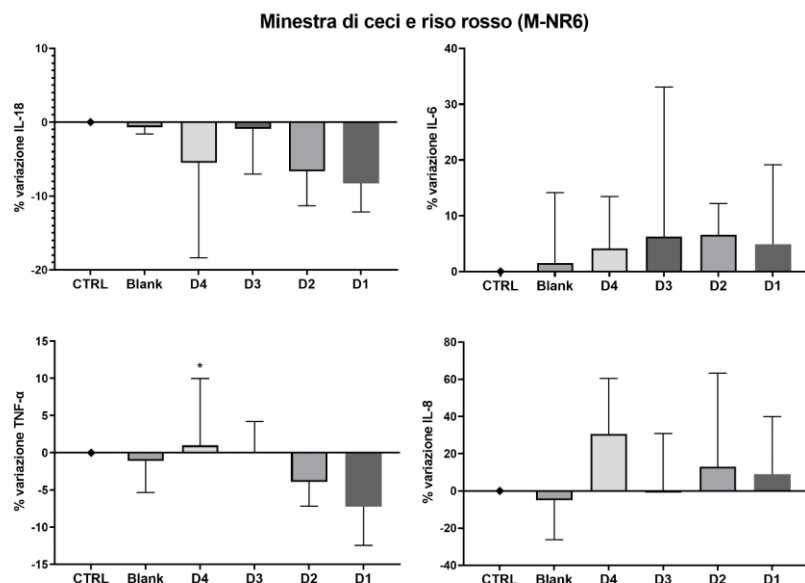


Figura 8. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza M-NR6. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi della minestra di ceci e riso rosso, con codice M-NR6. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. * $p < 0,05$, rispetto al controllo; CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

La Figura 9 mostra l'analisi delle citochine TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8 in seguito al trattamento con diverse concentrazioni di **lasagna di verdure (metodo tradizionale) (LVt-NR7)**. In questo caso si osserva un aumento significativo di IL-6 alle concentrazioni D3, D2 e D1 del digerito. Un andamento di incremento è visibile anche per TNF- α e per le concentrazioni più alte di IL-18, sebbene in entrambi i casi non venga raggiunta la significatività statistica. IL-8 mostra un trend pro-infiammatorio, ma anch'esso privo di significatività.

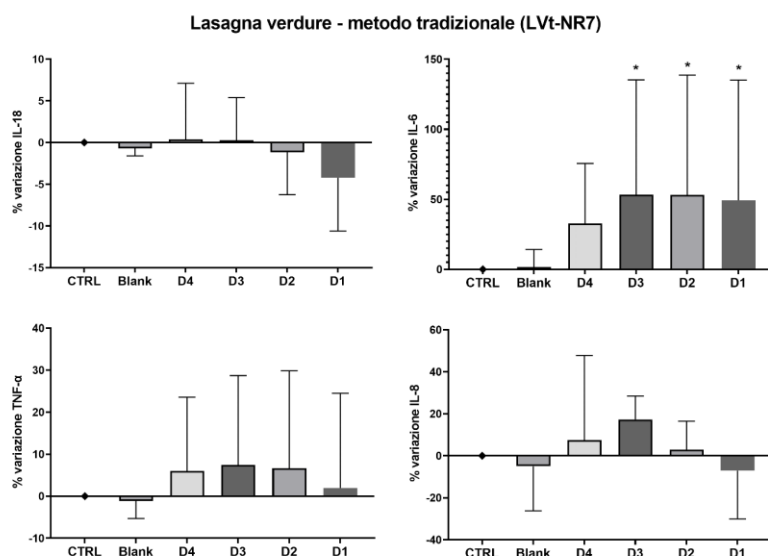


Figura 9. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza LVt-NR7. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi della lasagna di verdure (metodo tradizionale), con codice LVt-NR7. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. *p < 0,05, rispetto al controllo; CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

La Figura 10 mostra l'analisi delle citochine TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8 in seguito al trattamento con diverse concentrazioni di lasagna al ragù (metodo tradizionale) (LR-NR8). Il grafico evidenzia un aumento significativo di IL-8 alla concentrazione più alta (D4), mentre alle altre concentrazioni si osserva un andamento più variabile. Le citochine IL-18 e TNF- α mostrano un trend a carattere anti-infiammatorio, mentre IL-6 presenta variazioni limitate in questo caso.

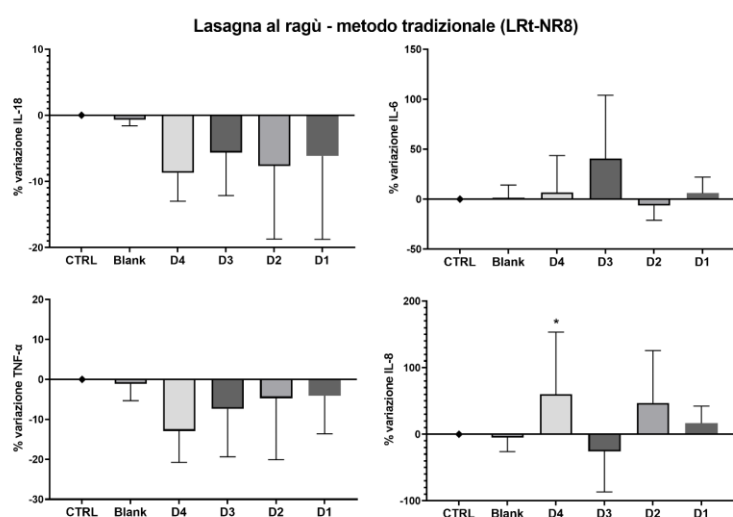


Figura 10. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza LRt-NR8. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi della lasagna al ragù (metodo tradizionale), con codice LRt-NR8. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. *p < 0,05, rispetto al controllo; CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

La Figura 11 mostra l'analisi delle citochine TNF- α , IL-18, IL-6 e IL-8 in seguito al trattamento con diverse concentrazioni di tortino di verdure (T-NR9). In questo caso, IL-18 risulta significativamente aumentata alle concentrazioni D3 e D2 del digerito. Le citochine IL-6 e TNF- α mostrano un trend pro-infiammatorio, mentre IL-8 evidenzia un effetto significativamente anti-infiammatorio alla concentrazione più alta (D4), andamento condiviso anche con le concentrazioni più basse.

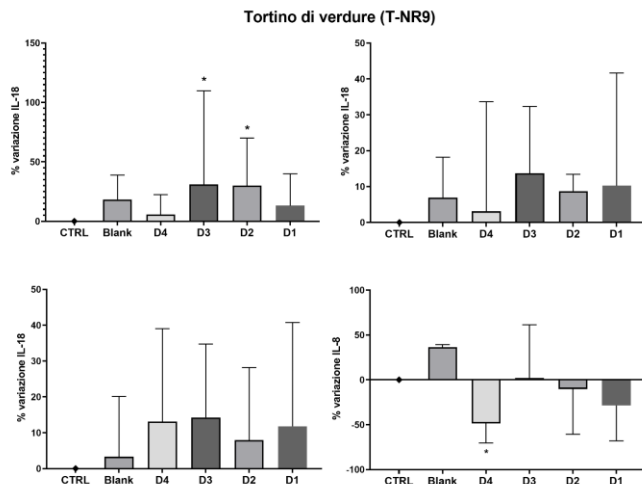


Figura 11. Variazione dei marcatori infiammatori in seguito ad analisi della pietanza T-NR9. Il grafico mostra, in percentuale, la variazione nella produzione delle citochine IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8 in seguito ad analisi del tortino di verdure, con codice T-NR9. I risultati sono espressi come percentuale di variazione delle citochine, riportando la media $\pm$ deviazione standard (% di variazione rispetto al gruppo di controllo). N = 3. * $p < 0,05$, rispetto al controllo; CTRL: controllo trattato con PMA; Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1.

CONCLUSIONI

Nel complesso, i risultati ottenuti mostrano che le diverse pietanze testate esercitano effetti variabili sulla modulazione della risposta infiammatoria, con tendenze sia pro- che anti-infiammatorie a seconda della pietanza (e quindi degli ingredienti in essa contenuti), della modalità di cottura e soprattutto delle interazioni tra i composti presenti.

Nello specifico la lasagna vegetale (metodo tradizionale) e la lasagna vegetale (metodo NR), con composizione simile, dimostrano entrambe **un aumento della citochina IL-6 pro infiammatoria**, più evidente per la lasagna realizzata con metodo convenzionale con 4 concentrazioni su 4.

La lasagna al ragù (tradizionale) e la lasagna metodo NR mostrano lo stesso andamento con l'aumento di IL-8, pro-infiammatoria ed anche in questo caso la lasagna tradizionale mostra un aumento di 3 concentrazioni su 4, quindi con un trend più negativo.

Tutte le pietanze che contengono proteine animali, sia carne che pesce e la presenza di creme, carote o broccoli, evidenziano effetti non interpretabili. A tale proposito non ci sono evidenze che le proteine animali mostrino un effetto anti-infiammatorio, può essere vero il contrario, ma non in questo caso. Tuttavia proprio la mancanza di marcati effetti pro infiammatori può essere letta come un risultato interessante. La presenza delle creme con sostanze bioattive non fornisce apparentemente alcun vantaggio, ma probabilmente proprio la mancanza di effetti pro-infiammatori marcati di pietanze con proteine animali che normalmente le presentano può essere letta come un effetto “mitigante” apportato dagli ingredienti vegetali.

Il tortino di verdure causa un incremento di IL-18 pro-infiammatoria e anche qui la cottura al forno può aver causato una forte alterazione dei composti bioattivi delle verdure.

La minestra di ceci e riso rosso non causa alcun effetto, in linea con i dati presenti in letteratura, in quanto i ceci non hanno alcuna attività antiossidante così come il riso rosso, il cui contenuto in fibre non può indurre alcun effetto anti-infiammatorio diretto, ma indiretto tramite la riduzione del colesterolo *in vivo*.

Il risultato più importante che si evince da questo studio preliminare riguarda l'importanza di preparare piatti semplici con pochi ingredienti, valutando il loro effetto e poi aumentare la complessità del piatto, ma soprattutto studiare come le diverse modalità di cottura, considerando quelle più estreme come la cottura al forno, possano modificare la funzionalità dell'ingrediente vegetale, insieme alle interazioni con le proteine animali.

RIFERIMENTI

- Brodkorb A, Egger L, Alminger M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. Nat Protoc. (2019) 14:991–1014. doi: 10.1038/S41596-018-0119-1.
- Ramal-Sanchez M, Bravo-Trippetta C, D'Antonio V, Corvaglia E, Kämpfer AAM, Schins RPF, Serafini M and Angelino D (2025). Development and assessment of an intestinal tri-cellular model to investigate the pro/anti-inflammatory potential of digested foods. Front. Immunol. 16:1545261. doi: 10.3389/fimmu.2025.1545261.

Valutazione dell'attività antiossidante degli estratti acquosi di ricette preparate con il Metodo Niko Romito e tradizionale, utilizzando un modello intestinale in vitro di stress ossidativo

- Università degli Studi di Teramo

REFERENTE

Prof. Mauro Serafini

PERSONALE COINVOLTO

Prof. Donato Angelino

Dott.ssa Marina Ramal Sanchez

Dott.ssa Veronica D'Antonio

Dott.ssa Chiara Bravo Trippetta

Dott.ssa Elena Corvaglia

Obiettivo: valutare la capacità antiossidante degli estratti acquosi di ricette preparate da uno chef stellato Michelin. Ciò è stato ottenuto valutando la loro abilità nel contrastare lo stress ossidativo in cellule epiteliali intestinali Caco-2, trattate con 2,2'-azobis (2-amidinopropano) diidrocloreuro (ABAP).

Materiali e metodi

1. Selezione delle ricette, campionamento e calcolo della sostanza secca

Ricette selezionate e testate:

- Lasagna vegetale – metodo tradizionale (LVt-NR7)
- Lasagna al ragù – metodo tradizionale (LRt-NR8)
- Tortino vegetale – metodo NR (T-NR9)
- Minestra di ceci e riso rosso – metodo NR (M-NR6)
- Fettina di vitello in crema di broccoli – metodo NR (V-NR5)

- Lasagna vegetale - metodo NR (LV-NR1)
- Lasagna al ragù - metodo NR (LR-NR2)
- Fusello di pollo con crema di patate – metodo NR (P-NR3)
- Branzino in crema di carote – metodo NR (B-NR4)

A partire dalle ricette finali è stata prelevata una quantità utile di campione per l'estrazione e la misurazione della sostanza secca. La concentrazione del campione è determinata valutando la sostanza secca in rapporto ai grammi di alimento pesato e calcolata come segue:

g s.s. : $V_i = x : 1000 \text{ mL} \rightarrow x = \text{g/L}$.

La misurazione della sostanza secca è stata effettuata utilizzando il metodo gravimetrico (105 °C per 24 h).

2. Estrazione della frazione idrosolubile

I campioni alimentari sono stati inizialmente pestati o tritati. Gli estratti acquosi delle ricette sono stati preparati mescolando i campioni con acqua in rapporto 1:10 e agitati per 1 ora a temperatura ambiente in condizioni di buio. L'omogenato è stato filtrato con un colino e successivamente centrifugato per 10 minuti a $1700 \times g$. Il surnatante è stato raccolto e filtrato con carta da filtro.

3. Semina cellulare e saggio DCF-DA

Le cellule Caco-2 sono state seminate ad una densità di 20.000 cellule per pozzetto in piastre da 96 pozzetti, utilizzando terreno completo Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM). Le cellule sono state incubate a 37 °C in atmosfera umidificata con 5% di CO₂ per 24 ore.

Dopo 24 ore, ciascun pozzetto è stato lavato con 200 µL di Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS) e successivamente sono stati aggiunti 100 µL di DCF-DA (10 µM). La piastra è stata incubata per 30 minuti a 37 °C. Dopo l'incubazione, i pozzetti sono stati lavati con 120 µL di HBSS e sono stati aggiunti i diversi trattamenti, fino a raggiungere un volume finale di 200 µL per pozzetto. L'estratto è stato testato a concentrazioni di 1, 0,5, 0,25 e 0,1 g s.s./L, da solo o in presenza di ABAP, un agente ossidante che induce stress ossidativo. Quest'ultimo è stato utilizzato a una concentrazione di 250 µM, scelta perché risultata la più appropriata in base a esperimenti precedenti. L'ABAP è stato testato anche su cellule con acido ascorbico (AA), un agente antiossidante.

I trattamenti utilizzati sono i seguenti: controllo negativo (C-): 200 µL di HBSS, controllo positivo (C+): 100 µL di HBSS e 100 µL di ABAP; acido ascorbico (AA): 100 µL di acido ascorbico (5 µM) e 100 µL di ABAP; estratto (0,1; 0,25; 0,5; 1): 100 µL di estratto—alle concentrazioni di 0,2, 0,5, 1 e 2 g s.s./L—e 100 µL di ABAP.

La fluorescenza è stata rilevata dopo 45 minuti di incubazione a 37 °C utilizzando un lettore EnSpire Multimode Plate Reader (PerkinElmer, Waltham, MA, USA) con lunghezze d'onda di eccitazione ed emissione rispettivamente di 485 nm e 535 nm.

4. Analisi statistica

Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti in triplicato e i dati sono stati analizzati con Microsoft Excel. Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando GraphPad Prism 8.0.2. Tutti i risultati sono stati sottoposti a test di normalità (test di Shapiro-Wilk) e analizzati mediante ANOVA ordinaria (one-way ANOVA).

Risultati

Tutti gli estratti sono stati testati anche in assenza di ABAP e, salvo diversa indicazione esplicita, nessuno di essi ha influenzato la produzione di ROS quando applicato da solo.

1. Lasagna vegetale – metodo tradizionale

La Figura A evidenzia l'effetto di diverse concentrazioni di lasagna di verdure (preparata con metodo tradizionale) sulla produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Tutte le concentrazioni analizzate hanno determinato una riduzione significativa rispetto al controllo positivo, mostrando un andamento dose-risposta, con una riduzione più marcata alle dosi maggiori. In particolare, viene osservata una percentuale di inibizione compresa tra 12,01% e 76,69%.

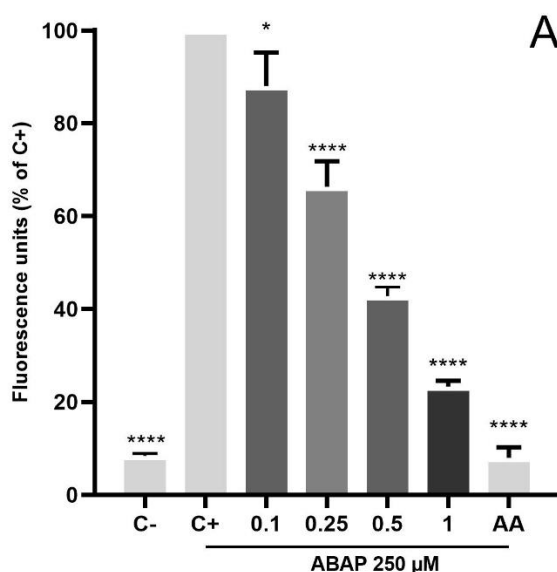


Figura A. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di lasagna vegetale, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001.

2. Lasagna al ragù – metodo tradizionale

La Figura B evidenzia l'effetto di diverse concentrazioni di lasagna al ragù (preparata con metodo tradizionale) sulla produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Tutte le concentrazioni testate mostrano una diminuzione significativa della produzione di radicali liberi rispetto al controllo positivo, seguendo un andamento dose- risposta, con una riduzione maggiore osservata per le concentrazioni più elevate. In particolare, viene osservata una percentuale di inibizione compresa tra 45,86% e 82,57%.

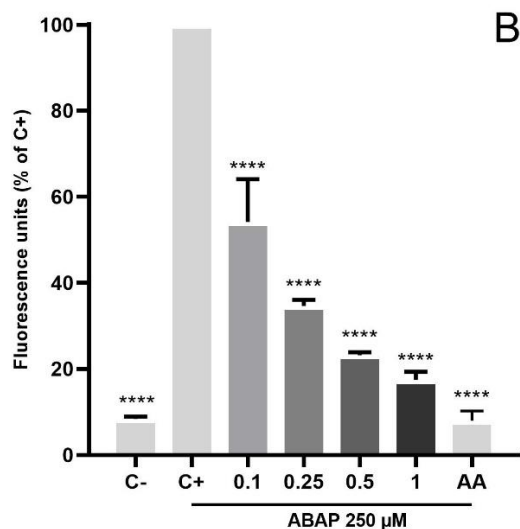


Figura B. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di lasagna al ragù, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001.

3. Tortino vegetale – metodo NR

La Figura C evidenzia l'effetto di diverse concentrazioni di tortino vegetale sulla produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Tutte le concentrazioni testate mostrano una diminuzione significativa della produzione di radicali liberi rispetto al controllo positivo, seguendo un trend dose- risposta, con una riduzione maggiore osservata per le concentrazioni più elevate. In particolare, viene osservata una percentuale di inibizione compresa tra 40,15% e 82,08%.

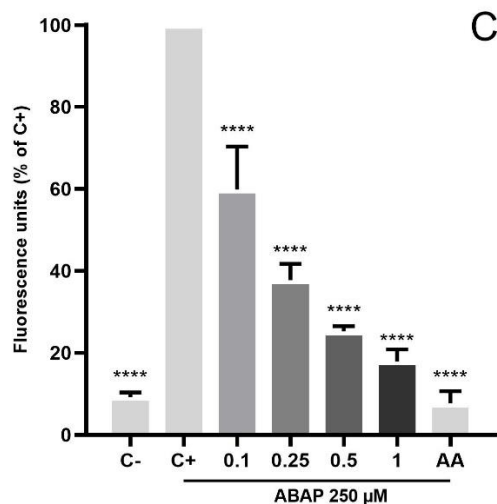


Figura C. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di tortino vegetale – metodo NR, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001.

4. Minestra di ceci e riso rosso – metodo NR

La Figura D evidenzia l'effetto di diverse concentrazioni di minestra di ceci e riso rosso sulla produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Tutte le concentrazioni testate mostrano una diminuzione significativa della produzione di radicali liberi rispetto al controllo positivo, seguendo un andamento dose- risposta, con una riduzione maggiore osservata per le concentrazioni più elevate. In particolare, viene osservata una percentuale di inibizione compresa tra 27,83% e 72,16%.

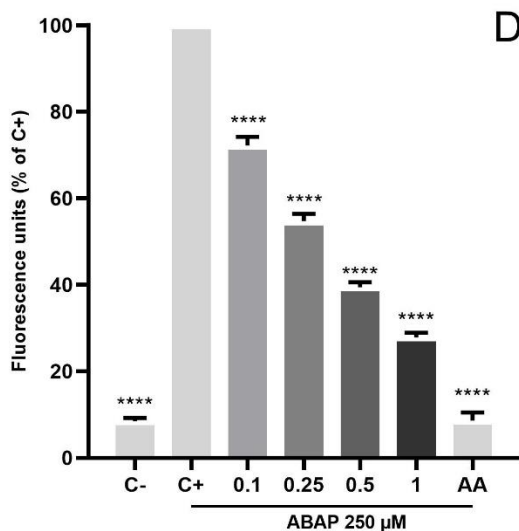


Figura D. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di minestra di ceci e riso rosso – metodo NR, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001.

5. Fettina di vitello in crema di broccoli – metodo NR

La Figura E illustra l'attività antiossidante di diverse concentrazioni di fettina di vitello in crema di broccoli, valutata come capacità di contrastare la produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Tutte le concentrazioni esaminate, ad eccezione della più bassa, determinano una riduzione significativa dei radicali liberi rispetto al controllo positivo. L'effetto osservato mostra un andamento dose-risposta, con riduzioni progressivamente maggiori al crescere della concentrazione. In particolare, le concentrazioni più elevate hanno determinato una diminuzione compresa tra il 11,76% e 37,78%.

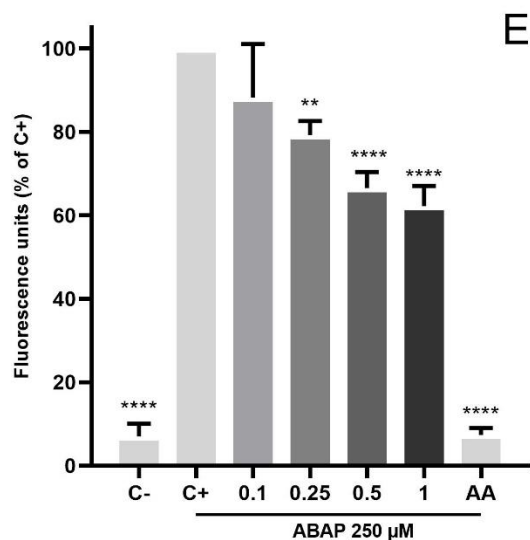


Figura E. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di fettina di vitello in crema di broccoli – metodo NR, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001.

In questo caso, si è riscontrato un aumento nella produzione di radicali liberi per i trattamenti con l'estratto senza agente pro-ossidante, suggerendo un possibile effetto opposto o un'interferenza dell'estratto. Infatti, i valori di fluorescenza misurati per i trattamenti con il solo estratto (senza ABAP) hanno mostrato un incremento di radicali liberi alle concentrazioni testate. I risultati sono riportati in relazione all'ABAP per consentire un'interpretazione più chiara.

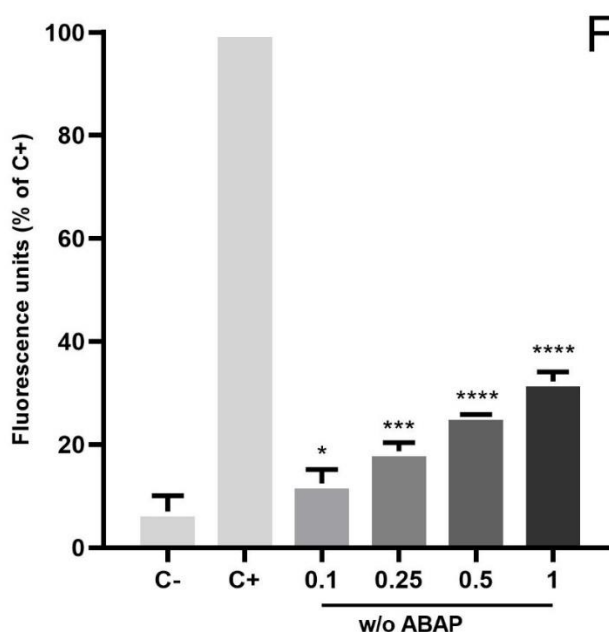


Figura F. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di fettina di vitello in crema di broccoli – metodo NR, espressa come percentuale delle unità di fluorescenza rispetto a C-. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0,1; 0,25; 0,5; 1: cellule trattate con estratto e HBSS. n=3 **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001

I valori di fluorescenza ottenuti in assenza di ABAP sono stati sottratti da quelli registrati in sua presenza, al fine di eliminare le interferenze di fondo.

Tutte le concentrazioni testate mostrano una diminuzione più marcata e significativa della produzione di radicali liberi rispetto al controllo positivo, seguendo un andamento dose- risposta, con una riduzione maggiore osservata per le concentrazioni più elevate. In particolare, viene osservata una percentuale di inibizione compresa tra 24,22% e 70,05%.

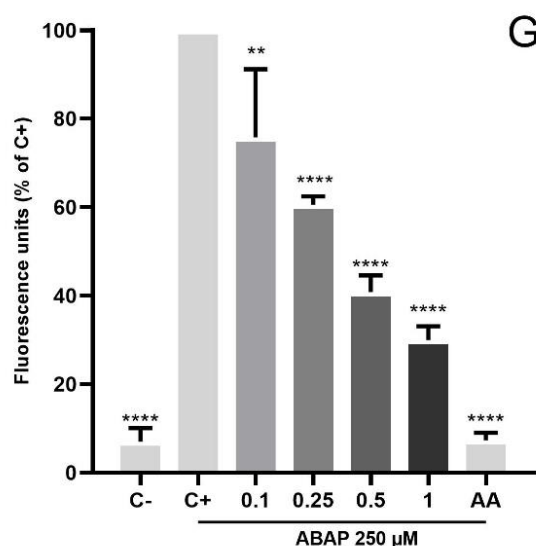


Figura G. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di fettina di vitello in crema di broccoli – metodo NR, espressa come percentuale delle unità di fluorescenza rispetto a C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0,1; 0,25; 0,5; 1: unità di fluorescenza degli estratti in presenza di ABAP, corrette sottraendo la fluorescenza senza ABAP. n=3 *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, ****p<0,0001

6. Lasagna vegetale – metodo NR

La Figura H evidenzia l'effetto di diverse concentrazioni di lasagna di verdure sulla produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Tutte le concentrazioni testate mostrano una diminuzione significativa della produzione di radicali liberi rispetto al controllo positivo, a differenza della concentrazione più bassa, che non risulta essere significativamente diversa. Una riduzione maggiore viene osservata per le concentrazioni più elevate, seguendo un effetto dose-risposta. In particolare, viene osservata una percentuale di inibizione compresa tra 41,07% e 71,98%.

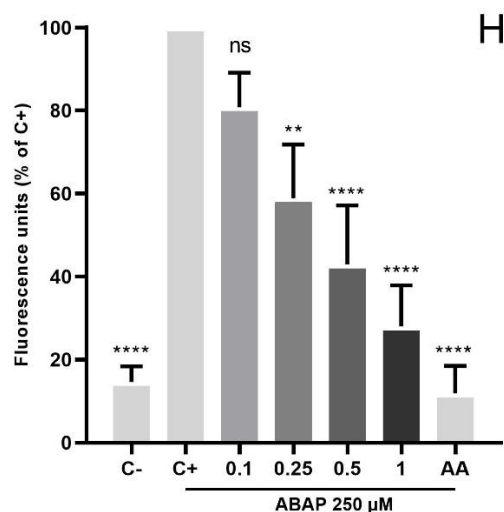


Figura H. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di lasagna vegetale – Metodo NR, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001.

7. Lasagna al ragù - metodo NR

La Figura I evidenzia l'effetto di diverse concentrazioni di lasagna al ragù sulla produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Tutte le concentrazioni testate mostrano una diminuzione significativa della produzione di radicali liberi rispetto al controllo positivo, seguendo un trend dose- risposta, con una riduzione maggiore osservata per le concentrazioni più elevate. In particolare, viene osservata una percentuale di inibizione compresa tra 36,9% e 75,18%.

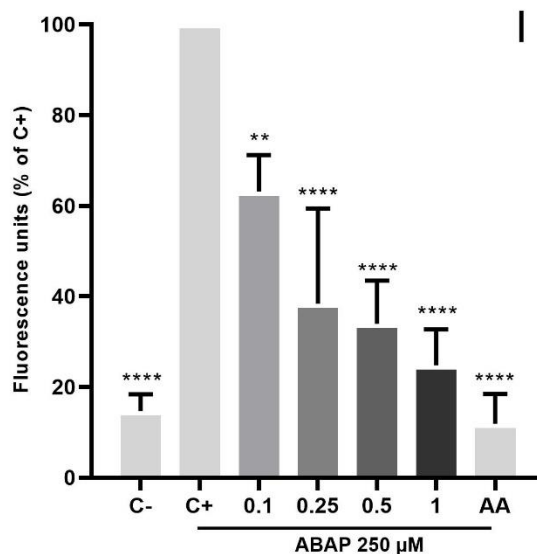


Figura I. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di Lasagna al ragù – Metodo NR, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001.

8. Fusello di pollo con crema di patate – metodo NR

La Figura K evidenzia l'effetto di diverse concentrazioni di fusello di pollo con crema di patate sulla produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Tutte le concentrazioni testate mostrano una diminuzione significativa della produzione di radicali liberi rispetto al controllo positivo con una riduzione maggiore osservata per le concentrazioni più elevate. In particolare, viene osservata una percentuale di inibizione compresa tra 17,17% e 48,51%.

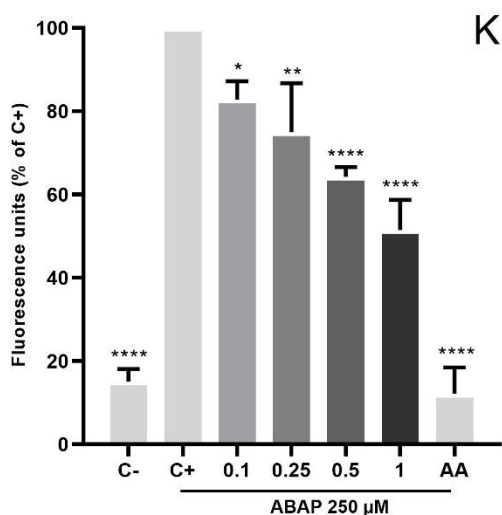


Figura K. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di Fusello di pollo con crema di patate – metodo NR, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001.

9. Branzino in crema di carote – metodo NR

La Figura J evidenzia l'effetto di diverse concentrazioni di branzino in crema di carote sulla produzione di radicali liberi indotta da ABAP. Le diverse concentrazioni testate non mostrano una differenza significativa rispetto al controllo positivo, se non per la concentrazione più alta testata. In questo caso viene osservata una percentuale di inibizione del 38,82%.

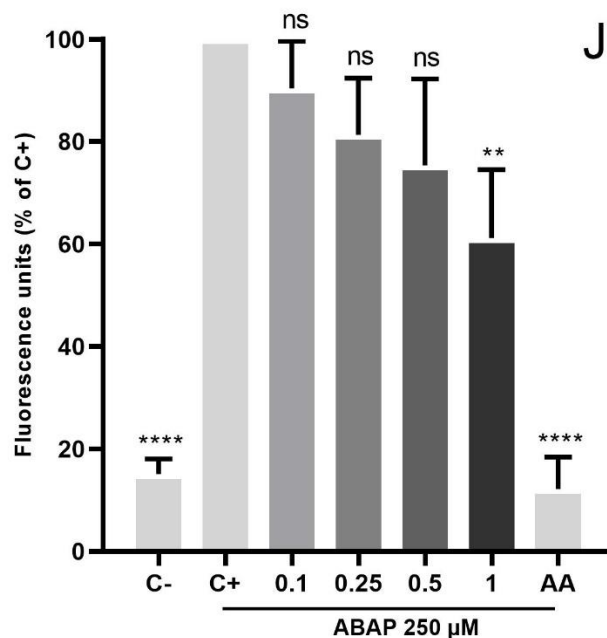


Figura J. Emissione di fluorescenza della DCF-DA dell'estratto di Branzino in crema di carote – metodo NR, espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto al C+. C-: cellule e HBSS; C+: cellule trattate con ABAP; 0.1, 0.25, 0.5, 1: cellule trattate con estratto e ABAP; AA: cellule trattate con AA e ABAP. n=3. I valori di *p* indicano la significatività statistica rispetto al C+. **p*<0,05, ***p*<0,01, ****p*<0,001, *****p*<0,0001

I diversi estratti testati sono stati confrontati in base alla loro percentuale di inibizione dell'emissione di fluorescenza a una concentrazione di 0,25 g/L. La lasagna al ragù – metodo tradizionale è risultata essere la più efficace nell'inibire la produzione di radicali liberi, seguita dal tortino vegetale, mentre il branzino in crema di carote è risultato essere inefficace alla specifica concentrazione.

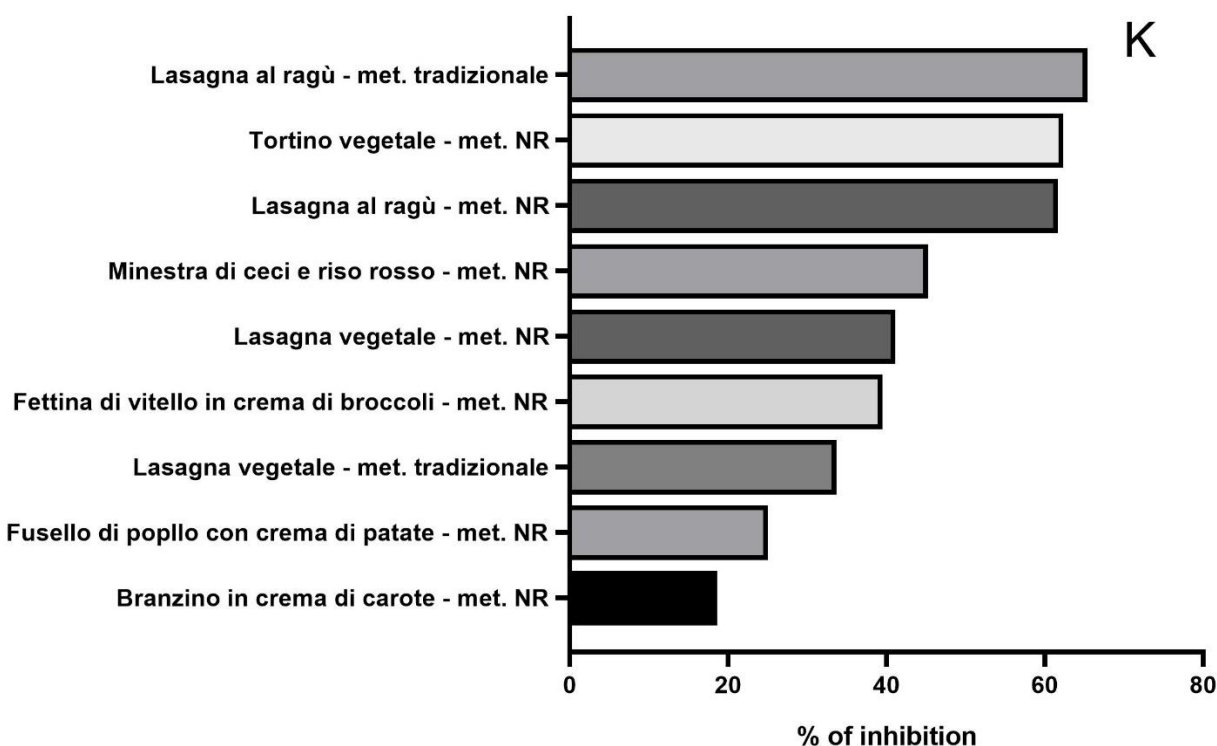


Figura K. Percentuale di inibizione della produzione di ROS indotta da ABAP nelle cellule Caco-2 da parte degli estratti alimentari. L'emissione di fluorescenza (espressa come percentuale di unità di fluorescenza rispetto a C+) è stata misurata dopo 45 minuti di co-trattamento con gli estratti (0,25 g/L) e 250 μ M di ABAP. n=3.

Conclusioni

Tutti gli estratti analizzati hanno mostrato una significativa attività antiossidante, con differenze tra le diverse preparazioni e concentrazioni.

Nello specifico, le lasagne vegetale – metodo tradizionale e la lasagna al ragù – metodo tradizionale hanno evidenziato una buona efficacia, con una chiara risposta dose-dipendente. Ugualmente la lasagna vegetale – metodo NR e la lasagna al ragù – metodo NR hanno mostrato un trend dose-risposta. Tuttavia, il metodo tradizionale risulta più efficace rispetto al metodo NR per la lasagna al ragù. Questo risultato in apparente contraddizione può essere facilmente spiegato con la maggior quantità di carotenoidi, licopene e antiossidanti in genere che si liberano dal pomodoro quando le temperature di trasformazione sono più elevate ed i tempi più lunghi. Infatti come è noto in letteratura [1,2] le elevate temperature favoriscono il rilascio degli antiossidanti dalle strutture cellulari dalle quali non riuscirebbero a svolgere le loro azioni antiossidanti e tale fenomeno è molto superiore all'effetto contrario di un aumento dell'ossidazione delle stesse molecole per effetto dell'ossigeno e delle elevate temperature che accelerano le reazioni di ossidazione non enzimatiche. Tuttavia il saldo finale di questi due fenomeni contrapposti, entro certi intervalli di temperatura, è sempre a favore all'aumento del contenuto di antiossidanti. Quindi in pratica essendo la cottura tradizionale più violenta rispetto a quella del MNR determina questo effetto apparentemente contrario.

Per quanto riguarda la lasagna vegetale invece la pietanza preparata secondo il MNR presenta un effetto antiossidante nettamente superiore a quello preparata con il metodo tradizionale che ricordiamo presenta stessi ingredienti, mentre l'unica cosa che cambia è il metodo di preparazione-cottura, oggetto appunto dello studio.

Anche la minestra di ceci e riso rosso e il tortino vegetale hanno confermato un buon potenziale antiossidante, attribuibile alla ricchezza di composti bioattivi di legumi e verdure.

La fettina di vitello in crema di broccoli ha ridotto in modo significativo la produzione di radicali liberi a tutte le concentrazioni, eccetto la più bassa. Tuttavia, gli estratti testati da soli hanno generato interferenze nella lettura, successivamente corrette, confermando poi un effetto antiossidante in tutte le concentrazioni testate, con un effetto dose-risposta.

Il fusello di pollo con crema di patate ha mostrato un'attività antiossidante efficace, contribuendo alla riduzione della produzione di radicali liberi, sebbene in misura inferiore rispetto ad altri campioni analizzati. Al contrario, il branzino con crema di carote non ha evidenziato un effetto antiossidante significativo nel complesso, se non per la concentrazione più elevata in cui è stata osservata una riduzione significativa di radicali liberi, comunque inferiore rispetto a quella riscontrata nelle altre preparazioni.

Nel complesso, i piatti considerati hanno dimostrato un significativo potenziale antiossidante, con effetti più evidenti alle concentrazioni elevate, a differenza del branzino in crema di carote in cui non si è osservata un'attività antiossidante dose-dipendente.

Le differenze osservate per le diverse ricette possono essere ricondotte alla composizione degli alimenti, alle interazioni tra gli ingredienti e alla trasformazione o meno dei composti bioattivi, la cui disponibilità ed efficacia risultano ulteriormente influenzate dai metodi di preparazione e cottura. Le differenze osservate per le due coppie di lasagne possono invece essere ricondotte esclusivamente ai metodi di trasformazione in quanto gli ingredienti utilizzati per le quattro preparazioni erano identici.

Bibliografia Essenziale

1. Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing., Seybold, C., Fröhlich, K., Bitsch, R., Otto, K., Böhm, V., 2004. J. Agric. Food Chem. 52 (23), 7005–7010. <https://doi.org/10.1021/jf049169c.10>.
2. Effects of heat treatment on the carotenoid and tocopherol composition of tomato, Eun-Sun Hwang, Maria Stacewicz-Sapuntzakis, Phyllis E Bowen, 2012 J Food Sci . Oct;77(10):C1109-14. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02909.x. Epub 2012 Sep 5

Determinazione dell'Indice GLICemicO di pasti preparati con il Metodo NR-FPT Acronimo: (GLICO-NRM) -Università dell'Aquila

REFERENTE

Marco Giorgio Baroni, Professore Ordinario Endocrinologia

Co-Investigators:

Prof Federica Sentinelli, Università dell'Aquila

Prof Arcangelo Barbonetti, Università dell'Aquila

Dott.ssa Sara Morgante, Diabetologia, PO San Salvatore, L'Aquila

Dott.ssa Francesca Scannapieco, SS Endocrinologia, Università dell'Aquila

Anna Fedele, Università dell'Aquila

Luogo di esecuzione dello studio:

UOC Andrologia Medica e Diabetologia, PO San Salvatore, L'Aquila

Tipo di studio:

Sperimentazione clinica non farmacologica no-profit

BACKGROUND

La ristorazione collettiva, che include mense ospedaliere, scolastiche e aziendali, gioca un ruolo fondamentale nella salute della popolazione, in quanto solo in Italia ogni anno la ristorazione collettiva prepara circa 1 miliardo di pasti suddivisi tra scuola, sanità e lavoro che complessivamente coprono circa il 90% e le altre tipologie di collettività il restante 10%. A questi vanno poi aggiunti circa 1,5 miliardi di pasti somministrati ogni anno dalle attività ristorative convenzionali e non, che complessivamente solo in Italia sono circa 350.000. La qualità nutrizionale dei pasti forniti in questi contesti è determinante per la prevenzione delle malattie metaboliche e cardiovascolari. Tuttavia, le tecniche di cottura tradizionali spesso aumentano la risposta glicemica degli alimenti, determinando una maggiore gelatinizzazione degli amidi e la perdita di fibre, rendendo i carboidrati più rapidamente disponibili per l'assorbimento intestinale. Questo sottolinea la necessità di sviluppare e testare metodologie innovative di preparazione dei pasti che preservino la qualità nutrizionale degli alimenti e riducano il loro impatto metabolico.

L'indice glicemico dei pasti ha un ruolo cruciale nella salute metabolica e nella prevenzione delle malattie cardiovascolari (1-3). È noto che diete ricche di alimenti ad alto indice glicemico favoriscono picchi glicemici postprandiali, stress ossidativo e infiammazione, tutti fattori che contribuiscono allo sviluppo di malattie metaboliche. Al contrario, il consumo di pasti a basso indice glicemico migliora la sensibilità insulinica, riduce le escursioni glicemiche postprandiali e riduce il rischio cardiovascolare. In questo contesto, la sostituzione di alimenti ad alto indice glicemico con alternative a basso indice glicemico e la modifica dei metodi di preparazione rappresentano strategie chiave per migliorare la salute pubblica.

Il Metodo Niko Romito di trasformazione degli alimenti (NR-FPT) è una tecnologia innovativa che ha dimostrato di preservare i composti bioattivi, minimizzare i danni ossidativi e migliorare il profilo nutrizionale complessivo degli alimenti (4). Questo metodo utilizza tecniche di cottura a temperatura controllata, sottovuoto e a vapore, che mantengono l'integrità della matrice alimentare e potrebbero influenzare positivamente la risposta glicemica modulando la gelatinizzazione dell'amido e la conservazione delle fibre. Uno studio comparativo tra NR-FPT e procedure tradizionali ha mostrato che il metodo innovativo consente una migliore conservazione del contenuto antiossidante degli alimenti, limitando la formazione di perossidi e altre sostanze pro-ossidanti che si sviluppano con la cottura ad alte temperature. Questi risultati suggeriscono che il consumo di pasti preparati con NR-FPT possa avere effetti favorevoli sul metabolismo glucidico e sulla riduzione dello stress ossidativo postprandiale.

L'implementazione di tecniche innovative come l'NR-FPT nella ristorazione collettiva potrebbe contribuire a un migliore controllo glicemico a livello di popolazione, riducendo l'incidenza delle malattie metaboliche correlate alla dieta (5-7). Inoltre, l'applicazione del metodo NR-FPT è in linea con gli obiettivi di sostenibilità, poiché consente una maggiore efficienza energetica nella preparazione degli alimenti e una riduzione delle perdite di nutrienti. Questo studio fornirà dati cruciali per supportare l'integrazione del metodo NR-FPT nei servizi di ristorazione collettiva, contribuendo all'adozione di politiche nutrizionali più efficaci e salutari su larga scala.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Questo studio si propone di misurare l'indice glicemico di n.2 pasti preparati con il metodo NR-FPT, confrontandolo con l'indice glicemico ottenuto con glucosio (indice di riferimento) e con l'indice glicemico di un pasto preparato con metodi tradizionali.

METODO

Disegno dello studio

Il disegno dello studio è stato monocentrico prospettico di sperimentazione non-farmacologica. Lo studio è durato 3 mesi, e l'arruolamento di soggetti sani è stato consecutivo.

Soggetti da studiare

Per questo studio, è reclutato un campione di 10 partecipanti sani di età compresa tra 18 e 45 anni, con BMI 18-28, assenza di malattie metaboliche e metabolismo glucidico nella norma.

La numerosità è stata calcolata secondo quanto riportato in Brouns F et al. (8). In breve, gli autori dimostrano che l'inclusione di 10 soggetti determina un sufficiente grado di power (80%) e di precisione per determinare l'Indice glicemico di un cibo o pasto.

Composizione dei pasti: I pasti da testare sono stati 3. Due dei pasti preparati con il metodo NR-FTP, forniti da Accademia Niko Romito, e hanno un contenuto di carboidrati di 50 g, per poter essere paragonati allo standard. Il terzo pasto sarà preparato con metodi standard e conterrà 50 grammi di carboidrati. La composizione in dettaglio con possibili allergeni da indicare nel consenso informato sono in appendice.

Criteri di inclusione: Soggetti sani, età 18-45 anni, reclutati consecutivamente dopo aver fornito Consenso Informato

Criteri di esclusione: Soggetti affetti da malattie del metabolismo (diabete, dislipidemia primitiva, sindrome metabolica), pregressa storia di dismetabolismo (diabete gestazionale). Patologie cardiovascolari, renali ed epatiche, stato di gravidanza in corso.

Metodo per il calcolo dell'Indice Glicemico (IG)

I partecipanti sono stati sottoposti a una curva da carico orale con 50 g di glucosio, con misurazione della glicemia e dell'insulinemia ai tempi 0-15-30-45-60-90-120 minuti, e a una curva dopo ogni pasto misto preparato con il metodo NR-FPT o standard, con misurazione della glicemia e dell'insulinemia agli stessi intervalli di tempo.

Ogni partecipante è stato testato in quattro diverse occasioni, con un intervallo minimo di 48 ore tra i test. Il pasto testato contiene 50 g di carboidrati disponibili e è stato consumato in 12-15 minuti. La glicemia e l'insulinemia sono state misurate tramite prelievi di sangue capillare o venoso ai suddetti tempi. I pasti da testare sono stati 3, la cui composizione è descritta in appendice.

Protocollo per la Determinazione dell'Indice Glicemico

Il protocollo di misurazione dell'indice glicemico seguirà le linee guida internazionali (6 -8) per la valutazione della risposta glicemica postprandiale.

2. Soggetti dello Studio

- **Requisiti:**

- 10-12 volontari sani (non diabetici) di età compresa tra 18 e 65 anni.
- BMI 18-28 kg/m².
- Assenza di malattie metaboliche o condizioni che influenzino la glicemia.

- **Screening:**

- Anamnesi medica.
- Misurazioni di glicemia a digiuno.
- Esclusione di soggetti con allergie alimentari relative all'alimento in esame.

3. Alimenti Testati

- **Alimento di riferimento:** Glucosio puro (IG standard = 100).
- **Alimento in esame:** Campione di alimento specifico da analizzare.

4. Procedura Sperimentale

- **Preparazione dei soggetti:**

- I partecipanti devono essere a digiuno da almeno 10 ore.
- È vietato l'esercizio fisico intenso, il consumo di alcol o il fumo nelle 24 ore precedenti.

- **Somministrazione dell'alimento:**

- L'alimento testato e quello di riferimento devono fornire 50 g di carboidrati disponibili.
- La quantità dell'alimento è calcolata considerando il contenuto di carboidrati per porzione.

- **Misurazione della glicemia e insulinemia:**

- Prelievo del sangue capillare o venoso per misurare la glicemia e insulinemia basale (tempo 0).
- Somministrazione dell'alimento in 12-15 minuti.
- Misurazioni successive della glicemia e insulinemia a 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minuti dopo il consumo.
- **Intervallo tra i test:**
 - Ogni alimento deve essere testato in giorni diversi con un intervallo minimo di 48 ore tra una prova e l'altra.

5. Calcolo dell'Indice Glicemico

- **Costruzione della curva glicemica:**
 - Creare un grafico con i livelli di glicemia (mg/dL) sull'asse delle ordinate e il tempo (minuti) sull'asse delle ascisse.
- **Calcolo dell'area sotto la curva (AUC):**
 - Determinare l'area sotto la curva glicemica per l'alimento testato e quello di riferimento, considerando i valori sopra la linea basale.
- **Formula dell'indice glicemico:**
 - L'area sotto la curva glicemica (AUC) sarà calcolata per entrambi i pasti e l'indice glicemico sarà determinato utilizzando la formula:
 - $IG = (AUC \text{ alimento testato} / AUC \text{ alimento di riferimento}) \times 100$

6. Interpretazione dei Risultati

- **IG basso:** ≤ 55 .
- **IG medio:** 56-69.
- **IG alto:** ≥ 70 .
- **Calcolo del carico glicemico (CG)**

Sarà determinato attraverso l'uso della formula [53]:

$$CG = (IG \times \text{grammi di carboidrati disponibili}) / 100$$

Interpretazione dei Risultati

- CG Basso CG: ≤ 10 ;
- CG moderato: 11–19;
- CG alto: ≥ 20 .

RISULTATI

Le caratteristiche cliniche e metaboliche dei 10 soggetti in studio sono descritte in tabella 1

	Media $\pm$ DS
sex	5 maschi e 5 femmine
età media	31,9 $\pm$ 6,0
peso	67,6 $\pm$ 12,5
BMI	22,8 $\pm$ 2,5
circonferenza vita	72,2 $\pm$ 6,5
Glicemia a digiuno	80,5 $\pm$ 5,6
Insulinemia a digiuno	4,13 v 5,6
pressione arteriosa sistolica	108,5 $\pm$ 7,8
pressione arteriosa diastolica	72 $\pm$ 5,6
Frequenza cardiaca	64 e $\pm$ 8,7
Colesterolo totale	169,9 $\pm$ 17,0
HDL	60,3 e DS 9,4
Trigliceridi	53,1 e DS 21,4
LDL	99 e DS 20,8
Creatinina	0,8 e DS 0,1
AST	22,5 e DS 3,1
ALT	16,5 e DS 3,7
Gamma GT	16,3 e DS 3,9

Dopo le misurazioni di glicemia e insulinemia secondo protocollo, le medie dei valori dell'Indice Glicemico e Insulinemico sono state:

- indice glicemico:

- primo pasto romito 26,67;
- secondo pasto romito 16,65;
- terzo pasto standard 57,78

- indice insulinemico:

- primo pasto romito 83,95;
- secondo pasto romito 68,67;
- terzo pasto standard 81,11

Interpretazione dei risultati

L'indice glicemico misura quanto rapidamente un pasto aumenta la glicemia. Valori più bassi indicano un impatto minore sulla glicemia postprandiale. Risulta chiaramente molto basso l'IG dei due pasti preparati con il metodo NR-FPT, soprattutto il secondo (16,65), a indicare un effetto glicemico contenuto. Il pasto standard ha un IG più che doppio, suggerendo un rischio maggiore di picchi glicemici.

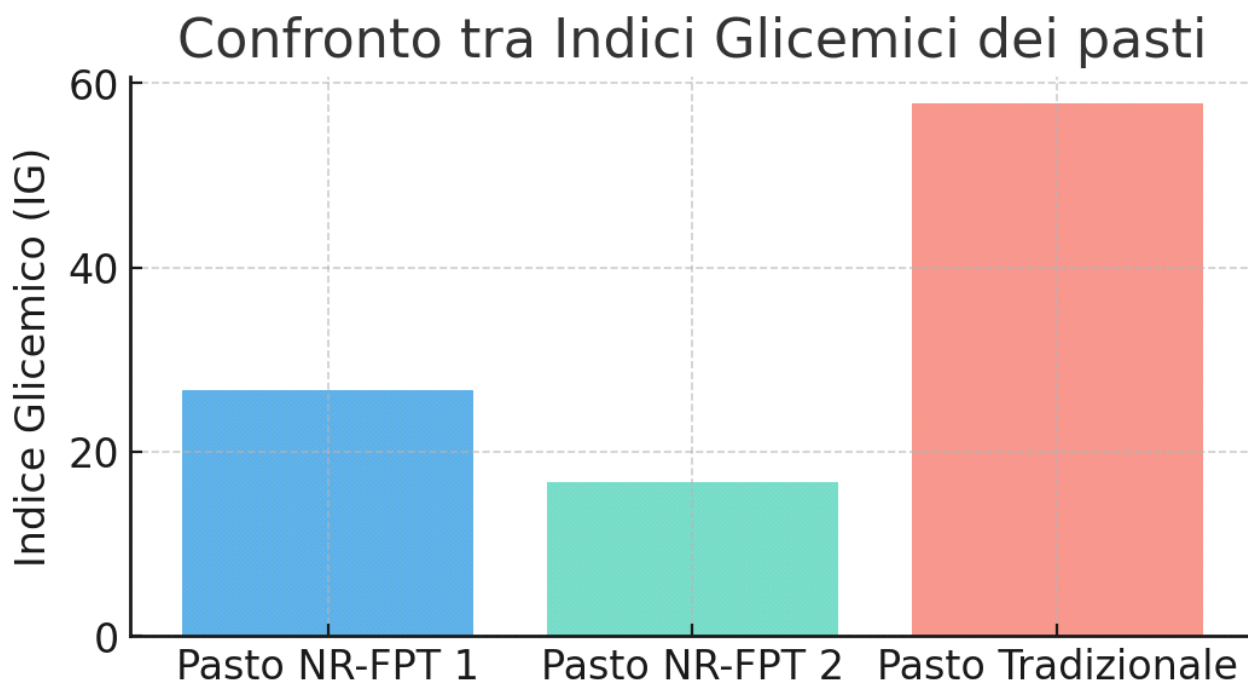


Fig.1 Grafico dell'indice glicemico per i tre pasti:

Il grafico evidenzia chiaramente come i pasti Romito abbiano un impatto glicemico significativamente inferiore rispetto al pasto standard.

I risultati del carico glicemico (Figura 2) rivelano che:

- il PASTO 1 mostra un carico glicemico moderato, pari a 13,87;
- il PASTO 2 ha un carico glicemico basso con valore pari a 8,5;

- il PASTO 3, preparato con metodi tradizionali, presenta un carico glicemico elevato con valore di 29,47.

Ciò suggerisce che le tecniche di preparazione innovative adottate nei pasti 1 e 2 contribuiscono a limitare la risposta glicemica complessiva dell'organismo, con potenziali benefici sul controllo metabolico e sulla secrezione insulinica.

Un carico glicemico più basso, infatti, è associato a una minore stimolazione insulinica post-prandiale, a una riduzione dello stress ossidativo e infiammatorio e, nel lungo periodo, a un minor rischio di sviluppare insulino-resistenza e patologie metaboliche.

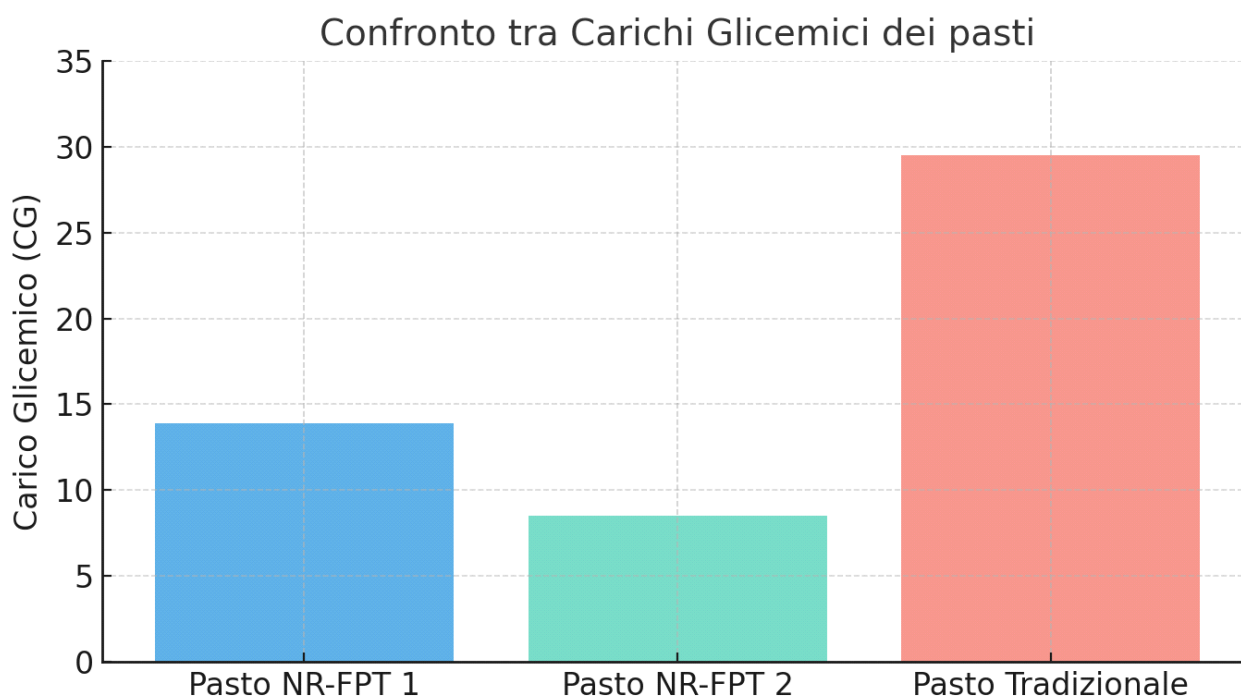


Figura 2. Grafico dell'indice glicemico per i tre pasti

L'indice insulinemico riflette invece la quantità di insulina secreta in risposta al pasto, indipendentemente dall'aumento glicemico. L'indice insulinemico confronta l'area sotto la curva insulinemica (AUC) di un alimento rispetto a un alimento di riferimento, solitamente il pane bianco o il glucosio, che ha valore 100.

Nei tre pasti la risposta insulinemica risulta moderata, più bassa del riferimento (fig. 3). Si evidenzia che, anche se l'IG è basso, l'insulinemia non differisce in modo sostanziale tra i pasti, specialmente tra il primo

pasto NR-FPT rispetto al pasto standard. Questo può indicare la presenza di altri stimoli insulinici (es. proteine o grassi), che non aumentano la glicemia ma comunque inducono secrezione di insulina.

Il secondo pasto NR-FPT, prevalentemente vegetale, ha dato il minor stimolo alla secrezione insulinica, e mostra sia IG che Indice Insulinemico più bassi, rendendolo metabolicamente più favorevole.

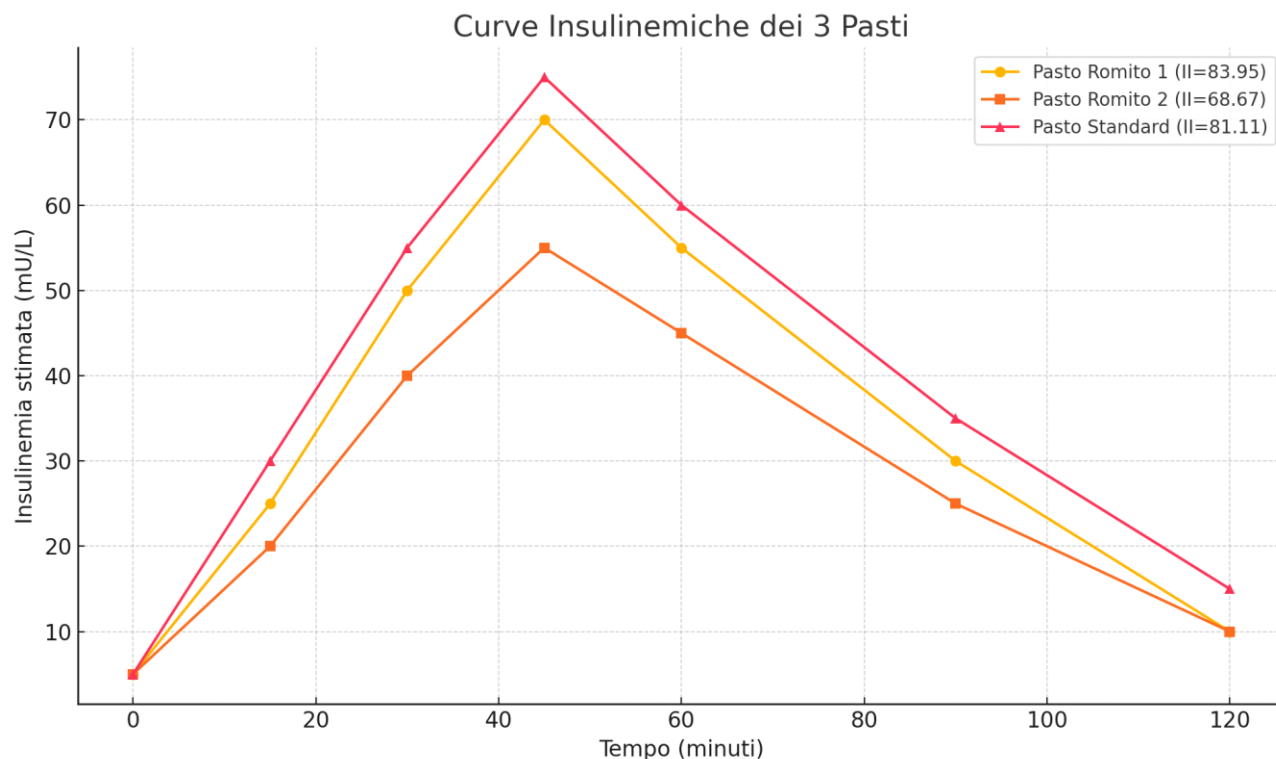


Fig.3 Grafico delle curve insulinemiche simulate per i tre pasti:

Pasto NR-FPT 1 (linea gialla): insulinemia moderatamente elevata, con un indice insulinemico di 83.95.

Pasto NR-FPT 2 (linea arancione): risposta insulinica più contenuta, con un II di 68.67.

Pasto Standard (linea rossa): risposta insulinica con II di 81.11.

Discussione dei risultati

I risultati del presente studio confermano l'efficacia delle tecniche di preparazione gastronomiche a minore aggressività termica (NR-FPT) nel modulare la risposta glicemica.

Inoltre, le tecniche di preparazione si sono dimostrate efficaci nel controllare o ridurre gli effetti infiammatori e ossidativi di pasti a maggior indice glicemico. Infatti, studi condotti nell'ambito del Progetto IN – *Nutritional Intelligence* hanno evidenziato come l'utilizzo di tecniche di cottura innovative,

rispetto ai metodi tradizionali, preservi i composti bioattivi degli alimenti (come fenoli, carotenoidi e vitamina C) e migliori il rapporto antiossidanti/pro-ossidanti, suggerendo un effetto protettivo sullo stress ossidativo e l'infiammazione postprandiale.

Questi dati sono coerenti con quanto riportato in letteratura. Hodges et al. hanno dimostrato che il metodo di preparazione degli alimenti influenza significativamente la risposta glicemica postprandiale, evidenziando come cotture più delicate riducano il picco glicemico rispetto a quelle tradizionali.

Analogamente, studi condotti su bambini e adolescenti obesi hanno mostrato che diete a basso indice glicemico migliorano la sensibilità insulinica e il profilo metabolico: ad esempio, Ebbeling CB et al. hanno riportato che una dieta a ridotto indice glicemico ad libitum sembra rappresentare un'alternativa promettente alla dieta convenzionale negli adolescenti obesi.

Questi risultati supportano l'ipotesi che non solo la qualità dei carboidrati, ma anche le modalità di preparazione e la composizione del pasto, influenzino la risposta glicemica e insulinica.

I risultati ottenuti con il metodo NR-FPT si inseriscono in questo quadro: entrambi i pasti preparati con tecniche a bassa aggressività termica hanno mostrato IG notevolmente inferiori rispetto al pasto standard, con un effetto particolarmente marcato nel pasto con maggior contenuto vegetale (IG 16,65), a indicare un effetto glicemico contenuto.

Al contrario, il pasto standard ha un IG più che doppio, suggerendo un rischio maggiore di picchi glicemici e un impatto metabolico potenzialmente sfavorevole.

Il grafico in figura 1 mostra chiaramente come i due pasti Romito presentino un impatto glicemico significativamente inferiore rispetto al pasto standard.

In Figura 2 sono invece riportati i valori del carico glicemico (CG) dei tre pasti testati, i pasti 1 e 2 di Romito presentano un CG rispettivamente di 13,9 e 8,5, valori considerati *moderato* e *basso*, mentre il pasto 3 (standard) mostra un CG di 29,5, considerabile come *alto*. Questi risultati rafforzano l'ipotesi centrale del presente lavoro, secondo cui le tecniche gastronomiche innovative, orientate alla minore aggressività termica, possano costituire uno strumento efficace di prevenzione nutrizionale, specialmente nei contesti di ristorazione collettiva destinata anche a bambini e adolescenti, proponendosi, perciò, come un'alternativa metabolicamente più sana a parità della qualità e quantità dei componenti.

L'indice insulinemico, invece, riflette la quantità di insulina secreta in risposta al pasto, indipendentemente dall'aumento glicemico. Esso confronta l'area sotto la curva insulinemica (AUC) di

un alimento rispetto a un alimento di riferimento, solitamente il pane bianco o il glucosio, che ha valore 100.

Nei tre pasti la risposta insulinemica risulta moderata, più bassa del riferimento (fig. 3):

- Pasto NR-FPT 1 (linea gialla): insulinemia moderatamente elevata, con un indice insulinemico di 83.95;
- Pasto NR-FPT 2 (linea arancione): risposta insulinica più contenuta, con un indice insulinemico di 68.67;
- Pasto Standard (linea rossa): risposta insulinica con indice insulinemico di 81.11.

Si evidenzia che, anche se l'IG è basso, l'insulinemia non differisce in modo sostanziale tra i pasti, specialmente tra il primo pasto NR-FPT rispetto al pasto standard. Questo può indicare la presenza di altri stimoli insulinici (es. proteine o grassi), che non aumentano la glicemia ma comunque inducono secrezione di insulina.

Il secondo pasto NR-FPT, prevalentemente vegetale, ha dato il minor stimolo alla secrezione insulinica, e mostra sia indice glicemico che insulinemico più bassi, rendendolo metabolicamente più favorevole.

Conclusioni

Il presente studio ha evidenziato come le tecnologie innovative di trasformazione degli alimenti, rappresentate dal metodo NR-FPT, possano contribuire a ridurre in maniera significativa l'impatto glicemico dei pasti rispetto alle metodiche tradizionali.

I due pasti preparati con il metodo NR-FPT hanno mostrato valori di indice e carico glicemico inferiori rispetto al pasto standard, suggerendo un potenziale ruolo preventivo di questo approccio nel contenere i picchi glicemici e migliorare il profilo metabolico.

In particolare, il secondo pasto – a prevalente composizione vegetale – ha evidenziato la risposta più favorevole sia in termini di indice glicemico, di carico glicemico e di indice insulinemico, confermando che la scelta degli alimenti, il loro bilanciamento e le tecniche gastronomiche utilizzate sono fattori chiave nella modulazione della risposta glicemica e insulinica.

Questi risultati aprono la strada a un approccio innovativo alla prevenzione nutrizionale, inserendosi in un quadro più ampio in cui l'educazione alimentare e la promozione di abitudini salutari rappresentano strumenti fondamentali per ridurre il rischio di sovrappeso e malattie metaboliche.

Per tradurre tali evidenze in pratica, è necessario sviluppare strategie integrate di prevenzione: educare per prevenire significa investire a lungo termine nel benessere collettivo. Istituzioni, scuole, famiglie e media devono collaborare per creare ambienti che favoriscano scelte alimentari sane. La diffusione di pratiche gastronomiche innovative può diventare un catalizzatore di cambiamento sia nelle mense scolastiche sia nella ristorazione ospedaliera.

L'approccio integrato tra ricerca scientifica, educazione e interventi pratici nella ristorazione collettiva potrebbe, quindi, rappresentare una strategia di salute pubblica sostenibile e lungimirante, capace di migliorare il profilo metabolico delle nuove generazioni e ridurre il carico di malattie croniche in età adulta.

Investire oggi nell'educazione alimentare significa costruire, domani, una società più sana: il benessere comincia da ciò che mettiamo nel piatto.

Bibliografia

- FAO/WHO Report "Carbohydrates in Human Nutrition" Food and Agriculture Organization (FAO) e World Health Organization (WHO), 1998
- International Tables of Glycemic Index and Glycemic Load. Atkinson FS, Foster-Powell K, Brand-Miller JC. *Diabetes Care*, 2008 DOI: 10.2337/dc08-1239
- ISO 26642:2010. "Food Products - Determination of the Glycaemic Index (GI) and Recommendation for Food Classification". International Organization for Standardization (ISO). 2010
- Niko Romito, Roberto Luneia, Lorenzo M. Donini, et al., Cooking techniques and nutritional quality of food: A comparison between traditional and innovative ways of cooking, *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25 (2021), 100381.
- Jenkins et al. "Glycemic Index of Foods: A Physiological Basis for Carbohydrate Exchange". *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1981. DOI: 10.1093/ajcn/34.3.36
- Wolever et al. "The Use of the Glycemic Index in Predicting the Blood Glucose Response to Mixed Meals". *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1991 DOI: 10.1093/ajcn/54.5.846
- Augustin et al. "Glycemic Index, Glycemic Load and Glycemic Response: An International Scientific Consensus Summit" *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2015 DOI: 10.1016/j.numecd.2015.05.005
- Brouns F, Bjorck I, Frayn KN, Gibbs AL, Lang V, Slama G, Wolever TM. Glycaemic index methodology. *Nutr Res Rev*. 2005 Jun;18(1):145-71. doi: 10.1079/NRR2005100.

APPENDICE

Pasti per test su Volontari Sani per Indice Glicemico

In base ai calcoli effettuati sulle pietanze realizzate durante le prove e alle porzioni consigliate dal Crea Nutrizione si possono ipotizzare questi due pasti:

PASTO 1- preparato con Metodo Niko Romito

Lasagna al Ragù (porzione 240g)

Ingredienti: pasta all'uovo 67% (semola di grano duro, uova 18,5%, acqua), acqua.

Salsa di pomodoro, carne macinata di vitello, carne macinata di maiale, sedano, carota, cipolla, sale. Parmigiano (latte, caglio sale).

Allergeni presenti: cereali contenenti GLUTINE, UOVA, SEDANO, LATTE.

Allergeni come contaminati accidentali: può contenere SENAPE e SOIA.

Fusello di pollo con crema di patate (porzione 170g)

Ingredienti: fusello di pollo, crema di patate (patate, acqua, latte), rosmarino tritato, olio EVO

Allergeni presenti: -

Allergeni come contaminati accidentali: -.

Pane semintegrale (porzione 50 g)

Ingredienti: acqua, farina di GRANO tenero tipo "1*" (32%), farina di GRANO tenero tipo "0*" (9%), lievito madre (acqua, farina di GRANO tenero tipo "1*"), patata (6%), semola di GRANO duro "Senatore Cappelli" (4%), sale marino.

Allergeni presenti: cereali contenenti GLUTINE.

Allergeni come contaminati accidentali: può contenere SOIA, LATTE, UOVA, FRUTTA A GUSCIO, SEDANO, SOIUTL.

Con questo pasto abbiamo 52 g di carboidrati disponibili

PASTO 2-preparato con Metodo Niko Romito

Lasagna Vegetale (porzione 240g)

Ingredienti: pasta all'uovo 67% (semola di grano duro, uova 18,5%, acqua), acqua.

Besciamella (latte, burro, amido di mais, sale), piselli, fagiolini, broccoli, basilico. Parmigiano (latte, caglio sale).

Allergeni presenti: cereali contenenti GLUTINE, UOVA, LATTE.

Allergeni come contaminati accidentali: può contenere SENAPE e SOIA.

Branzino con crema di carote (porzione 170g)

Ingredienti: filetto di branzino, carote, gel di maizena (amido di mais, acqua, olio EVO, sale), succo di limone.

Allergeni presenti: PESCE

Allergeni come contaminati accidentali: -.

Pane semintegrale (porzione 30 g)

Ingredienti: acqua, farina di GRANO tenero tipo "1*" (32%), farina di GRANO tenero tipo "0*" (9%), lievito madre (acqua, farina di GRANO tenero tipo "1*"), patata (6%), semola di GRANO duro "Senatore Cappelli" (4%), sale marino.

Allergeni presenti: cereali contenenti GLUTINE.

Allergeni come contaminati accidentali: può contenere SOIA, LATTE, UOVA, FRUTTA A GUSCIO, SEDANO, SOIUTL.

Con questo pasto abbiamo 51 g di carboidrati disponibili

PASTO 2-preparato con Metodo Convenzionale

Lasagna Vegetale (porzione 240g)

Ingredienti: pasta all'uovo 67% (semola di grano duro, uova 18,5%, acqua), acqua.

Besciamella (latte, burro, amido di mais, sale), piselli, fagiolini, broccoli, basilico. Parmigiano (latte, caglio sale).

Allergeni presenti: cereali contenenti GLUTINE, UOVA, LATTE.

Allergeni come contaminati accidentali: può contenere SENAPE e SOIA.

Branzino con crema di carote (porzione 170g)

Ingredienti: filetto di branzino, carote, gel di maizena (amido di mais, acqua, olio EVO, sale), succo di limone.

Allergeni presenti: PESCE

Allergeni come contaminati accidentali: -.

Pane semintegrale (porzione 30 g)

Ingredienti: acqua, farina di GRANO tenero tipo "1*" (32%), farina di GRANO tenero tipo "0*" (9%), lievito madre (acqua, farina di GRANO tenero tipo "1*"), patata (6%), semola di GRANO duro "Senatore Cappelli" (4%), sale marino.

Allergeni presenti: cereali contenenti GLUTINE.

Allergeni come contaminati accidentali: può contenere SOIA, LATTE, UOVA, FRUTTA A GUSCIO, SEDANO, SOIUTL.

Con questo pasto abbiamo 51 g di carboidrati disponibili

Valutazione delle proprietà anti-infiammatorie, della risposta genomica di una serie di pietanze - Università “G. d’Annunzio” Chieti-Pescara

REFERENTE

Prof.ssa Ester Vitacolonna

Co-Investigators.

Prof. Liborio Stuppia

Dott.ssa Marica Franzago

Dott. Michele Danese

Pierluigi Cavallo

OBIETTIVO

Il Metodo Niko Romito di trasformazione degli alimenti (NR-FPT) è una tecnologia innovativa che ha dimostrato di preservare i composti bioattivi, minimizzare i danni ossidativi e migliorare il profilo nutrizionale complessivo degli alimenti. Questo metodo utilizza tecniche di cottura a temperatura controllata, sottovuoto e a vapore, che mantengono l'integrità della matrice alimentare e potrebbero influenzare positivamente la risposta glicemica modulando la gelatinizzazione dell'amido e la conservazione delle fibre. Uno studio comparativo tra NR-FPT e procedure tradizionali ha mostrato che il metodo innovativo consente una migliore conservazione del contenuto antiossidante degli alimenti, limitando la formazione di perossidi e altre sostanze pro-ossidanti che si sviluppano con la cottura ad alte temperature. Questi risultati suggeriscono che il consumo di pasti preparati con NR-FPT possa avere effetti favorevoli sul metabolismo glucidico e sulla riduzione dello stress ossidativo postprandiale. Nello studio presente sono state analizzate pietanze preparate con il metodo Niko Romito soprariportato e confrontate con pietanze preparate con metodo tradizionale. Per il Progetto sono state coinvolte le Università di Teramo, L'Aquila e Chieti- Pescara. Nello specifico, l'obiettivo dello studio a cura della Università di Chieti- Pescara è stato quello di valutare le modifiche nella regolazione genica su pattern di geni coinvolti nei fenomeni anti-infiammatori prima e dopo l'aggiunta dei digeriti preparati dall'Università di Teramo a partire da nove pietanze selezionate e inviate alla stessa Università di Teramo dall'Accademia Niko Romito (Castel di Sangro, AQ). Le pietanze inviate dall'Accademia Niko Romito e ricevute dal personale coinvolto nel progetto dell'Università di Teramo, successivamente, il 4 luglio 2025, sono state ricevute dal personale coinvolto nel progetto dell'Università di Chieti. Lo studio è stato svolto presso il Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento e presso il Laboratorio di Genetica Medica, dell'Università “G. d’Annunzio” Chieti-Pescara.

RUOLO DELLE CITOCINE ANALIZZATE NELLO STUDIO

L'interleuchina-18 (IL-18), nota anche come IL-1F4, è una citochina pro-infiammatoria chiave che appartiene alla superfamiglia IL-1. Tale citochina attiva la risposta immunitaria cellulo-mediata, promuovendo la differenziazione dei linfociti T helper di tipo 1 (Th1) e l'attività delle cellule Natural Killer, stimolando la produzione di interferone-gamma (IFN- γ), implicati in **patologie infiammatorie** e cardiovascolari. Studi in vitro suggeriscono che specifici nutrienti, come i grassi saturi e zuccheri, possono aumentare la produzione di IL-18 attraverso l'attivazione diretta del complesso macromolecolare intracellulare Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3). Inoltre, l'IL-18 regola anche la fame e la sazietà, la composizione corporea e il metabolismo del glucosio, contrastando potenzialmente l'obesità e l'insulino-resistenza (Netea et al. 2006, Carbone et al. 2017).

L'interleuchina-8, nota come CXCL8, è una piccola molecola riconosciuta come una chemiochina secreta dalle cellule del sistema immunitario. Le chemiochine inducono l'espressione dell'integrina e attraggono principalmente i leucociti nel sito di infezione, sebbene si sia scoperto che i loro ruoli sono molto più diversificati. Tale **citochina pro-infiammatoria** viene prodotta principalmente da macrofagi, cellule endoteliali e cellule epiteliali e svolge un ruolo importante nella migrazione cellulare, prendendo di mira i neutrofili. Il consumo di carne rossa è stato associato a un quadro infiammatorio, caratterizzato da un aumento di IL-8. I livelli di IL-8 sono aumentati anche con l'assunzione frequente di dolci, mentre un maggiore consumo di frutta a guscio è risultato correlato a livelli più bassi di IL-6. Inoltre, IL-6 e IL-8 formano un cluster che include anche IL-1b e TNF- α . Inoltre, l'età, il BMI, il fumo, l'attività fisica e le abitudini alimentari sono state correlate a queste specifiche citochine, rappresentando così potenziali marcatori per l'infiammazione cronica di basso grado (D'Esposito et al. 2022)

L'Interleuchina-6 (IL-6) è una citochina pleiotropica con ruoli acuti e cronici nell'immunità e nel metabolismo. La letteratura ha evidenziato che alcuni alimenti possono favorire l'aumento dei livelli di *IL-6* nel sangue **promuovendo l'infiammazione** (inclusi, cibi ultra-processati, carboidrati raffinati, e carne rossa) mentre altri possono contribuire a ridurli (questi includono frutta e verdura, cereali integrali e legumi) (Yeo et al. 2017, Maggio et al. 2006). In particolare, studi postprandiali hanno evidenziato in soggetti sani che tra i diversi marcatori infiammatori (quali *IL-6*, CRP, *TNF- α* , IL-1 β , IL-8), *IL-6* mediamente raddoppia circa 6 ore dopo un pasto ricco di grassi (Ludman et al. 2007, Emerson et al. 2017). Uno studio su donne sane confrontando un “pasto stile Mediterraneo” (MED) con un “pasto in stile occidentale” (Western diet), ha riscontrato un aumento significativo di IL-6 dopo il pasto “occidentale” (Tüccar et al. 2023). Inoltre, una recente revisione sistematica e meta-analisi conferma che l'aderenza alla Dieta Mediterranea si associa ad una riduzione significativa di IL-6, proteina C-reattiva (CRP) e altri marcatori infiammatori (Tehrani et al. 2025).

Il tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) è una citochina con un importante ruolo nella regolazione dell'infiammazione. Livelli elevati sono correlati a infiammazione sistemica e malattie infettive. Alcuni alimenti sono in grado di influenzare i livelli di TNF- α promuovendo o riducendo di conseguenza l'infiammazione.

L'interleuchina-10 (IL-10) è una citochina immunosoppressiva cioè “**anti-infiammatoria**” prodotta principalmente dai monociti. Si è dimostrato che una dieta ricca di grassi e fruttosio riduce i livelli di IL-10, mentre una dieta ricca di fibre e potassio tende ad aumentare significativamente l'espressione genica e i livelli di IL-10, migliorando l'infiammazione (Malik et al. 2020).

MECCANISMI EPIGENETICI ANALIZZATI NELLO STUDIO

La metilazione del DNA, uno dei principali e riconosciuti meccanismi epigenetici, consiste nel trasferimento di un gruppo metilico al carbonio C5 dei residui di citosina all'interno dei dinucleotidi CpG (citosina-fosfato-guanina). La metilazione del DNA è un processo chiave per la regolazione genica, infatti l'aggiunta di gruppi metilici nelle isole CpG vicino ai promotori dei geni, normalmente blocca la trascrizione, impedendo la sintesi proteica.

Le alterazioni della metilazione nelle regioni regolatorie del *TNF- α* e *IL-6*, in risposta a fattori ambientali, tra cui dieta, e diverse patologie, come obesità o infiammazione di basso grado, **possono essere causali di disregolazione di processi biologici** (Boonrong et al. 2024, Ma et al. 2016).

Inoltre, anche i microRNA (miRNAs), che sono una classe di piccoli RNA non codificanti, sono in grado di influenzare l'espressione genica, inibendo l'espressione degli mRNA bersaglio (Bartel DP et al. 2004, Zeng et al. 2006). Diversi miRNAs possono influenzare le risposte immunitarie innate (O'Connell et al. 2012, Liu et al., O'Connell et al. 2010), ma i meccanismi regolatori non sono stati completamente compresi (Alam et al. 2011). **MiR-27 emerge come una delle molecole regolatorie rilevanti nella modulazione della risposta infiammatoria.**

Alcuni studi hanno analizzato il ruolo di miR-27-a nei processi infiammatori (Lv YN et al. 2017, Xie et al. 2014), suggerendo che miR-27a potrebbe agire attraverso un meccanismo a feedback negativo attraverso il quale i macrofagi riducono la risposta infiammatoria eccessiva. In quest'ottica, Xie et al. (2014) hanno mostrato che un'espressione aberrante di miR-27a può portare ad una riduzione dell'IL-10 e quindi contribuire allo sviluppo di malattie infiammatorie. Inoltre, altri studi riportano in vari modelli (microglia, cellule epiteliali intestinali, macrofagi peritoneali) che **l'aumento di espressione di miR-27a riduce significativamente la produzione di citochine infiammatorie, come *IL-6* e *TNF- α*** (Lv YN et al. 2017, Kobeissy et al. 2025).

MATERIALI E METODI

ESTRAZIONE DNA-RNA

L'RNA è stato estratto con il kit manuale Norgen Total RNA purification. Il DNA è stato estratto mediante il kit di estrazione attualmente in commercio "Magpurix cultured cell dna extraction kit" (RESNOVA). Le concentrazioni sono state misurate mediante lo spettrofotometro NanoDrop.

ESPRESSIONE *TNF- α* , *IL-6*, *IL-18*, *IL-8*, *IL-10*, *GAPDH*

L'analisi dell'espressione genica dei geni coinvolti nei processi antiossidanti ed antinfiammatori quali *IL-6* e *TNF- α* , *IL-18*, *IL-8*, *IL-10* è stata effettuata mediante Real-time PCR utilizzando la metodica TaqMan, tecnica di rivelazione basata sull'ibridazione di oligonucleotidi di innesco specifici per i loci genici da analizzare. Il gene *GAPDH* è stato utilizzato come gene housekeeping (di riferimento). Ogni campione è stato analizzato in duplicato.

ESPRESSIONE *miR-27a-3p*

È stata effettuata l'analisi di espressione del microRNA: *miR-27a-3p*. *MiR-16-5p* è stato utilizzato come riferimento. Ogni campione è stato analizzato in duplicato.

METILAZIONE DEL DNA

L'analisi della metilazione dei siti CpG nelle regioni regolatorie dei geni IL-6 (4 siti CpGs) e TNF- α (4 siti CpGs) è stata effettuata con la metodica del bisolfito di sodio seguita dal pirosequenziamento mediante PyroMark Q48 Autoprep. Il DNA genomico è stato trattato con bisolfito di sodio, convertendo le citosine non metilate in uracili, e successivamente il DNA è stato amplificato tramite PCR; in questo modo le citosine non metilate sono state amplificate sotto forma di timine, mentre le citosine metilate si sono amplificate come citosine. Al termine, i frammenti di DNA, tramite pirosequenziamento, sono stati sottoposti a sequenziamento genico (McNeely et al. 2003, Higashimoto et al. 2023). Questo processo permette di analizzare il numero e la posizione delle citosine e delle timine, permettendo di risalire alla sequenza genica iniziale e pertanto allo stato di metilazione. Le analisi sono state eseguite in duplicato. I primers di PCR e sequenziamento per l'analisi dei siti CpG sono stati disegnati tramite PyroMark Assay Design. Lo stato di metilazione è stato correlato con l'espressione genica.

ANALISI STATISTICA

L'analisi inferenziale condotta sui dati ha permesso di distinguere le pietanze e i metodi di preparazione che potrebbero modulare l'espressione di geni pro e antiinfiammatori. I test statistici (**t-test** a due campioni e **t-test** appaiati) sono stati eseguiti con correzione multipla Benjamini–Hochberg (FDR). La soglia di significatività è stata fissata a $p < 0.05$ e $FDR < 0.05$.

Metodologia

- Trasformazione dei dati: i valori di espressione ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) sono stati convertiti in $\log_2(\text{foldchange})$ per migliorare la normalità della distribuzione e rendere più robusti i test statistici.
- Ipotesi nulla (H_0): non esiste differenza nell'espressione genica tra le condizioni confrontate. Ipotesi alternativa (H_1): esiste una differenza reale nell'espressione genica.
- Test statistici effettuati:
 - T-test a due campioni per confrontare NR vs TRAD
 - Correzione multipla: Benjamini–Hochberg (FDR) per ridurre il rischio di falsi positivi.
- Inclusione outlier: i valori estremi del Tortino di verdure [2] sono stati mantenuti

Inoltre, per quanto riguarda il profilo di metilazione dei siti CpGs studiati nelle regioni regolatorie dei geni *IL6* e *TNF α* , l'analisi inferenziale è stata condotta sui dati sperimentali relativi alle diverse pietanze per valutare le relazioni statisticamente rilevanti tra le concentrazioni delle pietanze e la risposta biologica, misurata attraverso la media di metilazione dei siti analizzati per ciascun gene di interesse e i valori di espressione genica ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).

RISULTATI

ESPRESSIONE GENICA (TNF-α, IL-6, IL-18, IL-8, IL-10)

La tabella evidenzia il Fold Change (da verde, più basso, a rosso, più alto) per i geni testati (IL-6 e TNF-α, IL-18, IL-8, IL-10) per ogni pietanza (4: concentrazione digerito 4; 3: concentrazione digerito 3; 2: concentrazione digerito 2; 1: concentrazione digerito 1)

Fold Change (NF, Ctrl, Pred.) per Pietanza, Concentrazione e Gene (2a vista)

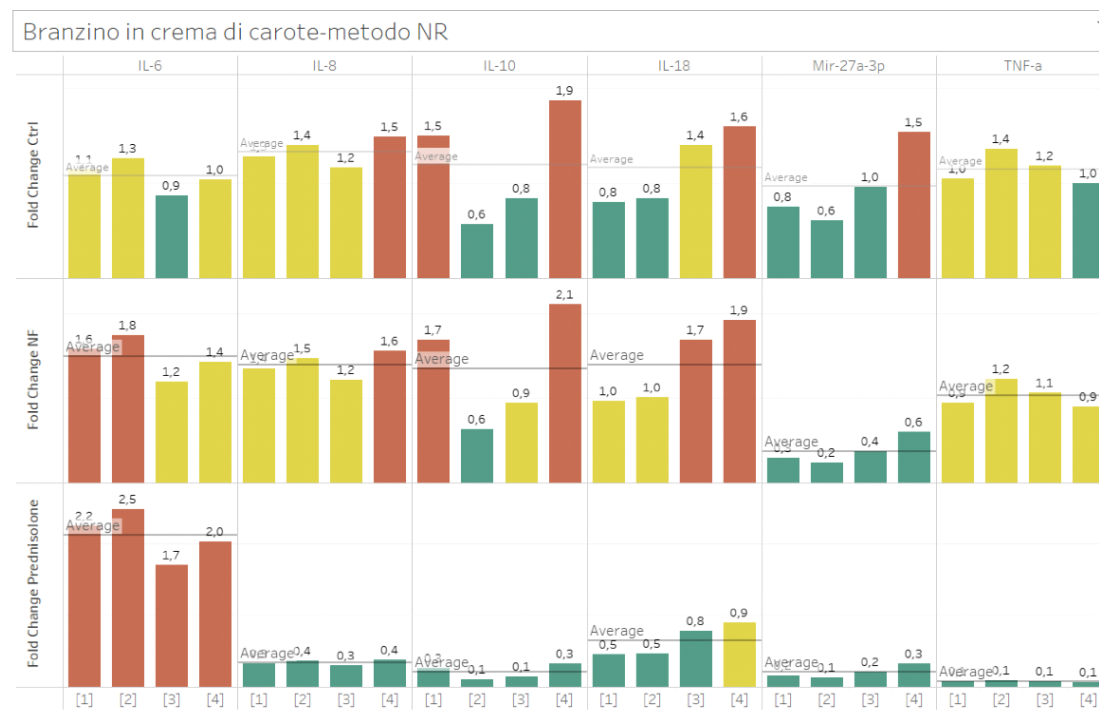
Pietanza	Concentr...	gene																	
		IL-6			IL-8			IL-10			IL-18			Mir-27a-3p			TNF-α		
		Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone
Branzino in crema di carote-metodo...	1	1.1	1.6	2.2	1.3	1.4	0.3	1.5	1.7	0.3	0.8	1.0	0.5	0.8	0.3	0.2	1.0	0.9	0.1
	2	1.3	1.8	2.5	1.4	1.5	0.4	0.6	0.6	0.1	0.8	1.0	0.5	0.6	0.2	0.1	1.4	1.2	0.1
	3	0.9	1.2	1.7	1.2	1.2	0.3	0.8	0.9	0.1	1.4	1.7	0.8	1.0	0.4	0.2	1.2	1.1	0.1
	4	1.0	1.4	2.0	1.5	1.6	0.4	1.9	2.1	0.3	1.6	1.9	0.9	1.5	0.6	0.3	1.0	0.9	0.1
Fusello di pollo con crema di carote-metodo...	1	1.1	1.5	2.1	1.1	1.1	0.3	1.1	1.3	0.2	0.7	0.9	0.4	1.1	0.4	0.2	0.9	0.8	0.1
	2	0.9	1.2	1.8	1.2	1.3	0.3	1.6	1.8	0.3	6.5	7.8	3.6	0.8	0.3	0.2	0.9	0.8	0.1
	3	2.2	3.0	4.2	15.6	16.4	4.0	3.1	3.4	0.5	2.2	2.6	1.2	1.2	0.5	0.3	8.7	7.9	0.6
	4	1.0	1.3	1.9	1.5	1.5	0.4	1.5	1.7	0.3	0.8	0.9	0.4	2.6	1.0	0.6	1.1	1.0	0.1
Lasagna al ragù-metodo NR	1	1.1	1.5	2.1	1.1	1.2	0.3	0.8	0.9	0.1	0.8	1.0	0.4	0.9	0.4	0.2	1.3	1.1	0.1
	2	1.3	1.7	2.5	0.8	0.8	0.2	3.5	3.9	0.6	3.1	3.7	1.7	0.6	0.2	0.1	1.0	0.9	0.1
	3	1.3	1.7	2.5	1.3	1.4	0.3	3.5	3.9	0.6	2.3	2.7	1.3	1.8	0.7	0.4	1.3	1.2	0.1
	4	1.5	2.1	3.0	1.1	1.2	0.3	1.4	1.6	0.2	5.7	6.8	3.2	0.5	0.2	0.1	1.0	0.9	0.1
Lasagna vegetale - metodo NR	1	1.1	1.6	2.2	1.0	1.0	0.2	1.9	2.1	0.3	1.2	1.4	0.7	3.5	1.4	0.7	1.3	1.2	0.1
	2	0.2	0.3	0.4	0.4	0.4	0.1	0.7	0.8	0.1	12.2	14.7	6.8	1.5	0.5	0.3	0.1	0.1	0.0
	3	1.1	1.5	2.1	0.8	0.9	0.2	0.7	0.8	0.1	1.2	1.4	0.6	1.1	0.4	0.2	1.0	0.9	0.1
	4	1.3	1.8	2.6	1.9	2.0	0.5	1.8	2.0	0.3	2.7	3.3	1.5	2.1	0.8	0.4	2.3	2.1	0.2
Lasagna al ragù-metodo tradizionale	1	1.5	2.0	2.8	1.6	1.7	0.4	2.0	2.2	0.3	2.9	3.5	1.6	0.7	0.3	0.1	1.0	0.9	0.1
	2	0.6	0.8	1.1	0.9	0.9	0.2	0.7	0.8	0.1	1.5	1.8	0.8	0.3	0.1	0.1	0.3	0.3	0.0
	3	1.0	1.4	2.0	0.8	0.9	0.2	1.3	1.5	0.2	2.5	3.1	1.4	0.7	0.3	0.1	1.1	1.0	0.1
	4	0.8	1.1	1.6	1.2	1.2	0.3	0.5	0.6	0.1	1.3	1.5	0.7	1.2	0.5	0.3	0.9	0.8	0.1
Minestra di ceci e riso rosso-metodo NR	1	1.2	1.6	2.3	1.3	1.4	0.3	0.8	0.9	0.1	0.7	0.8	0.4	0.8	0.3	0.2	1.2	1.0	0.1
	2	1.0	1.3	1.9	1.0	1.0	0.3	1.6	1.8	0.3	2.1	2.5	1.2	0.5	0.2	0.1	1.1	1.0	0.1
	3	1.0	1.3	1.9	1.1	1.1	0.3	1.1	1.2	0.2	1.8	2.2	1.0	1.3	0.5	0.3	1.2	1.0	0.1
	4	0.9	1.3	1.8	1.1	1.1	0.3	1.9	2.2	0.3	3.0	3.6	1.7	1.9	0.7	0.4	1.2	1.0	0.1
Lasagna verdure-metodo tradizionale	1	0.8	1.2	1.7	1.1	1.2	0.3	0.7	0.8	0.1	1.8	2.1	1.0	0.3	0.1	0.1	1.2	1.0	0.1
	2	1.0	1.4	2.0	1.1	1.2	0.3	1.1	1.2	0.2	1.6	1.9	0.9	1.0	0.4	0.2	1.2	1.1	0.1
	3	1.4	1.9	2.7	1.3	1.4	0.3	0.6	0.7	0.1	0.7	0.9	0.4	0.5	0.2	0.1	1.5	1.4	0.1
	4	1.0	1.4	2.0	1.1	1.1	0.3	1.3	1.4	0.2	2.0	2.4	1.1	1.9	0.7	0.4	1.2	1.0	0.1
Fettina di vitello in crema di broccoli-metodo..	1	1.0	1.4	2.0	1.1	1.2	0.3	0.5	0.5	0.1	0.8	0.9	0.4	1.7	0.7	0.4	1.2	1.1	0.1
	2	0.2	0.2	0.3	0.4	0.4	0.1	0.6	0.6	0.1	9.1	11.0	5.1	0.5	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0
	3	0.4	0.6	0.8	0.6	0.6	0.2	0.4	0.4	0.1	2.4	2.8	1.3	1.2	0.5	0.3	0.6	0.5	0.0
	4	1.1	1.6	2.2	1.1	1.2	0.3	1.0	1.1	0.2	1.3	1.6	0.7	0.4	0.2	0.1	1.1	1.0	0.1
Tortino di verdure-metodo NR	1	0.8	1.3	5.2	1.0	0.6	2.0	0.4	0.8	0.4	1.0	2.5	0.7	0.4	1.1	0.7	1.0	0.9	2.1
	2	0.2	0.3	1.0	307.8	170.6	608.1	193.5	340.7	158.3	195.7	484.3	141.7	0.4	0.8	0.5	0.0	0.0	0.0
	3	1.0	1.7	6.6	1.5	0.8	3.0	0.6	1.0	0.5	0.6	1.5	0.5	0.4	1.0	0.6	0.8	0.7	1.6
	4	0.5	0.8	3.2	1.8	1.0	3.6	0.4	0.7	0.3	0.6	1.4	0.4	0.6	1.4	0.9	0.1	0.1	0.3

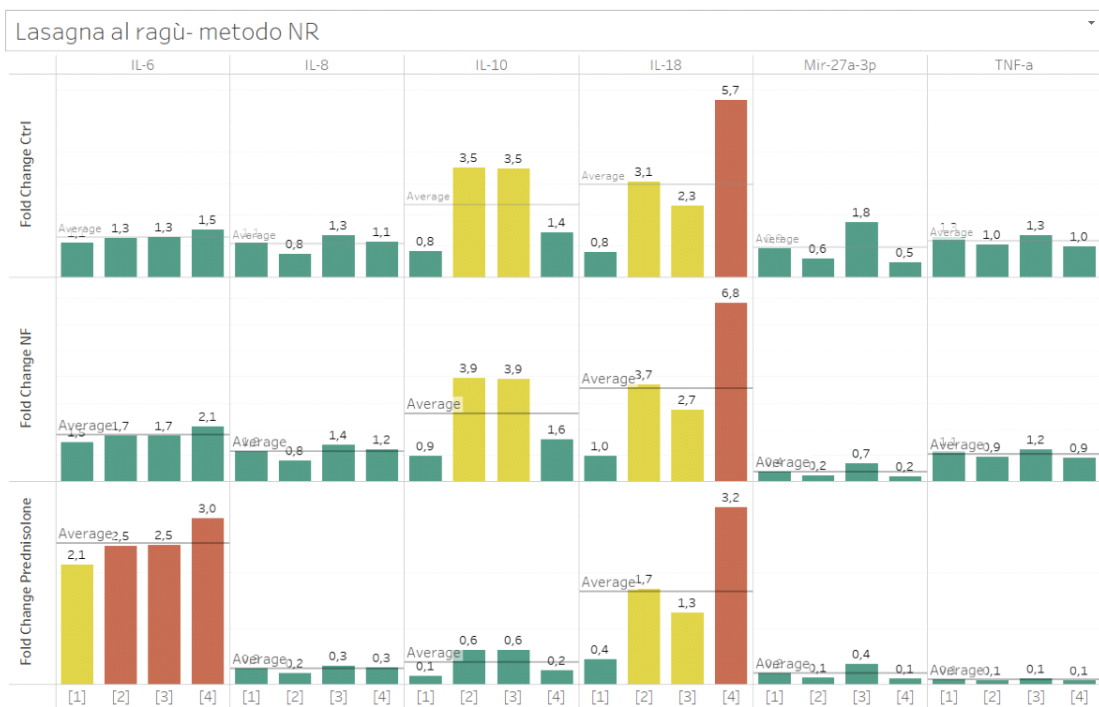
Considerando l'andamento dell'espressione genica per il tortino di verdure che appare "outlier" con un aumento dell'espressione genica dell'IL-8, IL-10 e IL-18 per la concentrazione 2, di seguito si riporta una nuova tabella con esclusione della suddetta pietanza. L'esclusione di valori estremi dalla heatmap può migliorare la leggibilità complessiva evidenziando meglio le differenze tra i valori centrali.

Fold Change (NF, Ctrl, Pred.) per Pietanza, Concentrazione e Gene (2a vista)

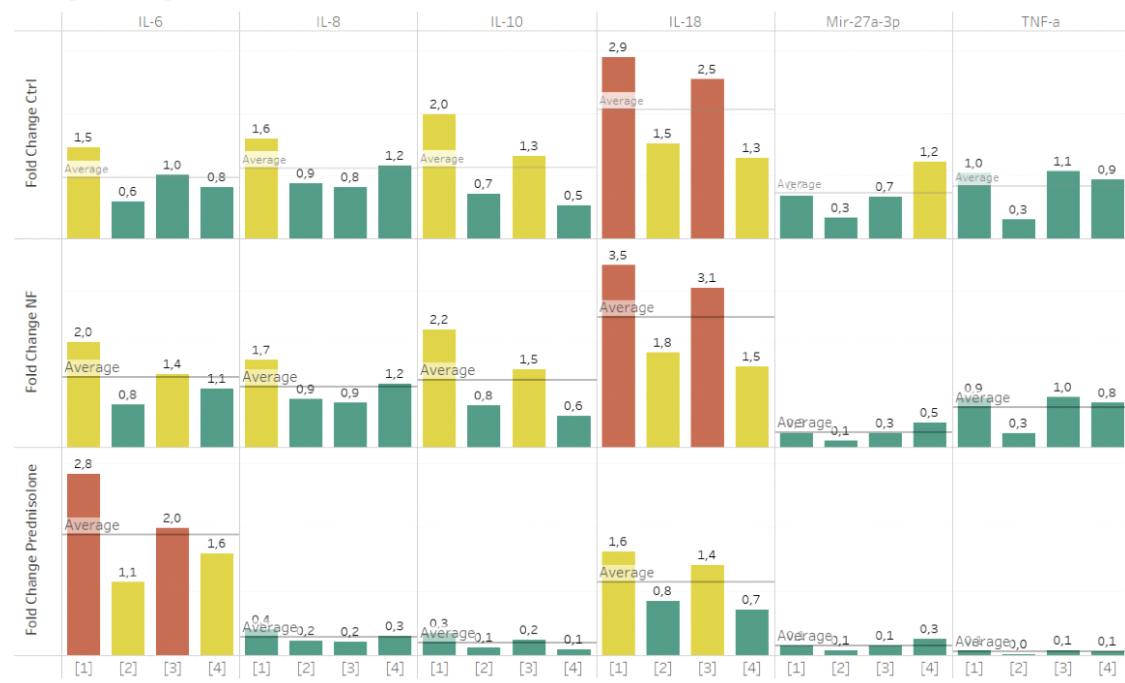
Pietanza	Concentr...	gene																	
		IL-6			IL-8			IL-10			IL-18			Mir-27a-3p			TNF-a		
		Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone	Fold Change Ctrl	Fold Change NF	Fold Change Prednisolone
Branzino in crema di carote-metodo NR	[1]	1,1	1,6	2,2	1,3	1,4	0,3	1,5	1,7	0,3	0,8	1,0	0,5	0,8	0,3	0,2	1,0	0,9	0,1
	[2]	1,3	1,8	2,5	1,4	1,5	0,4	0,6	0,6	0,1	0,8	1,0	0,5	0,6	0,2	0,1	1,4	1,2	0,1
	[3]	0,9	1,2	1,7	1,2	1,2	0,3	0,8	0,9	0,1	1,4	1,7	0,8	1,0	0,4	0,2	1,2	1,1	0,1
	[4]	1,0	1,4	2,0	1,5	1,6	0,4	1,9	2,1	0,3	1,6	1,9	0,9	1,5	0,6	0,3	1,0	0,9	0,1
Fusello di pollo con crema di carote-metodo NR	[1]	1,1	1,5	2,1	1,1	1,1	0,3	1,1	1,3	0,2	0,7	0,9	0,4	1,1	0,4	0,2	0,9	0,8	0,1
	[2]	0,9	1,2	1,8	1,2	1,3	0,3	1,6	1,8	0,3	6,5	7,8	3,6	0,8	0,3	0,2	0,9	0,8	0,1
	[3]	2,2	3,0	4,2	15,6	16,4	4,0	3,1	3,4	0,5	2,2	2,6	1,2	1,2	0,5	0,3	8,7	7,9	0,6
	[4]	1,0	1,3	1,9	1,5	1,5	0,4	1,5	1,7	0,3	0,8	0,9	0,4	2,6	1,0	0,6	1,1	1,0	0,1
Lasagna al ragu-metodo NR	[1]	1,1	1,5	2,1	1,1	1,2	0,3	0,8	0,9	0,1	0,8	1,0	0,4	0,9	0,4	0,2	1,3	1,1	0,1
	[2]	1,3	1,7	2,5	0,8	0,8	0,2	3,5	3,9	0,6	3,1	3,7	1,7	0,6	0,2	0,1	1,0	0,9	0,1
	[3]	1,3	1,7	2,5	1,3	1,4	0,3	3,5	3,9	0,6	2,3	2,7	1,3	1,8	0,7	0,4	1,3	1,2	0,1
	[4]	1,5	2,1	3,0	1,1	1,2	0,3	1,4	1,6	0,2	5,7	6,8	3,2	0,5	0,2	0,1	1,0	0,9	0,1
Lasagna vegetale-metodo NR	[1]	1,1	1,6	2,2	1,0	1,0	0,2	1,9	2,1	0,3	1,2	1,4	0,7	3,5	1,4	0,7	1,3	1,2	0,1
	[2]	0,2	0,3	0,4	0,4	0,4	0,1	0,7	0,8	0,1	12,2	14,7	6,8	1,5	0,6	0,3	0,1	0,1	0,0
	[3]	1,1	1,5	2,1	0,8	0,9	0,2	0,7	0,8	0,1	1,2	1,4	0,6	1,1	0,4	0,2	1,0	0,9	0,1
	[4]	1,3	1,8	2,6	1,9	2,0	0,5	1,8	2,0	0,3	2,7	3,3	1,5	2,1	0,8	0,4	2,3	2,1	0,2
Lasagna al ragu-metodo tradizionale	[1]	1,5	2,0	2,8	1,6	1,7	0,4	2,0	2,2	0,3	2,9	3,5	1,6	0,7	0,3	0,1	1,0	0,9	0,1
	[2]	0,6	0,8	1,1	0,9	0,9	0,2	0,7	0,8	0,1	1,5	1,8	0,8	0,3	0,1	0,1	0,3	0,3	0,0
	[3]	1,0	1,4	2,0	0,8	0,9	0,2	1,3	1,5	0,2	2,5	3,1	1,4	0,7	0,3	0,1	1,1	1,0	0,1
	[4]	0,8	1,1	1,6	1,2	1,2	0,3	0,5	0,6	0,1	1,3	1,5	0,7	1,2	0,5	0,3	0,9	0,8	0,1
Minestrina di ceci e riso rosso-metodo NR	[1]	1,2	1,6	2,3	1,3	1,4	0,3	0,8	0,9	0,1	0,7	0,8	0,4	0,8	0,3	0,2	1,2	1,0	0,1
	[2]	1,0	1,3	1,9	1,0	1,0	0,3	1,6	1,8	0,3	2,1	2,5	1,2	0,5	0,2	0,1	1,1	1,0	0,1
	[3]	1,0	1,3	1,9	1,1	1,1	0,3	1,1	1,2	0,2	1,8	2,2	1,0	1,3	0,5	0,3	1,2	1,0	0,1
	[4]	0,9	1,3	1,8	1,1	1,1	0,3	1,9	2,2	0,3	3,0	3,6	1,7	1,9	0,7	0,4	1,2	1,0	0,1
Lasagna verdure-metodo tradizionale	[1]	0,8	1,2	1,7	1,1	1,2	0,3	0,7	0,8	0,1	1,8	2,1	1,0	0,3	0,1	0,1	1,2	1,0	0,1
	[2]	1,0	1,4	2,0	1,1	1,2	0,3	1,1	1,2	0,2	1,6	1,9	0,9	1,0	0,4	0,2	1,2	1,1	0,1
	[3]	1,4	1,9	2,7	1,3	1,4	0,3	0,6	0,7	0,1	0,7	0,9	0,4	0,5	0,2	0,1	1,5	1,4	0,1
	[4]	1,0	1,4	2,0	1,1	1,1	0,3	1,3	1,4	0,2	2,0	2,4	1,1	1,9	0,7	0,4	1,2	1,0	0,1
Fettina di vitello in crema di broccoli-metodo NR	[1]	1,0	1,4	2,0	1,1	1,2	0,3	0,5	0,5	0,1	0,8	0,9	0,4	1,7	0,7	0,4	1,2	1,1	0,1
	[2]	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	0,1	0,6	0,6	0,1	9,1	11,0	5,1	0,5	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0
	[3]	0,4	0,5	0,8	0,6	0,6	0,2	0,4	0,4	0,1	2,4	2,8	1,3	1,2	0,5	0,3	0,6	0,5	0,0
	[4]	1,1	1,6	2,2	1,1	1,2	0,3	1,0	1,1	0,2	1,3	1,6	0,7	0,4	0,2	0,1	1,1	1,0	0,1

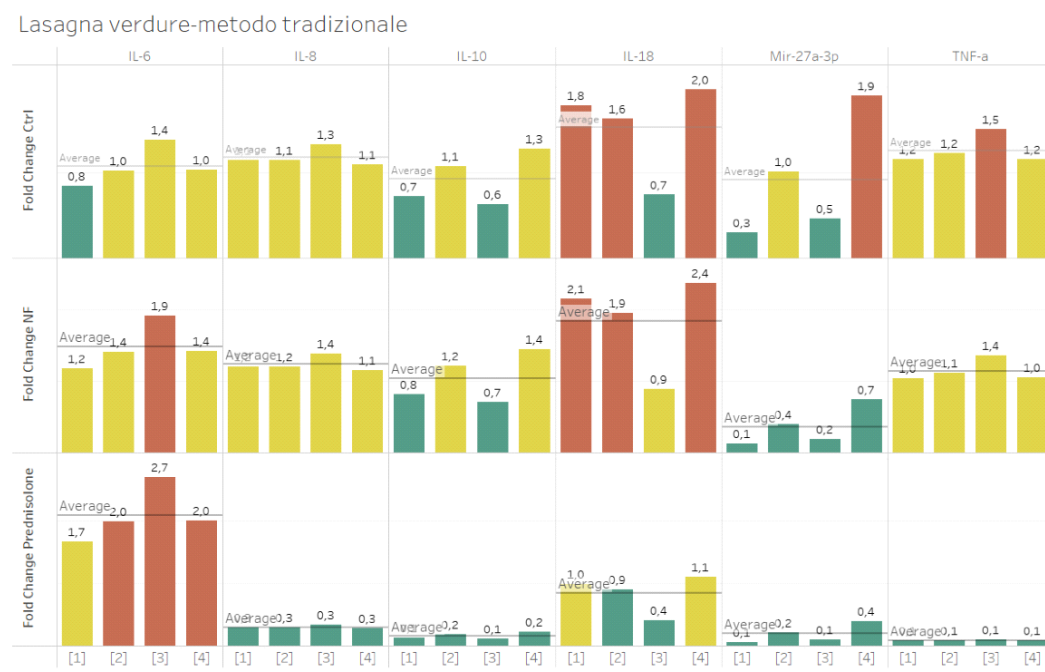
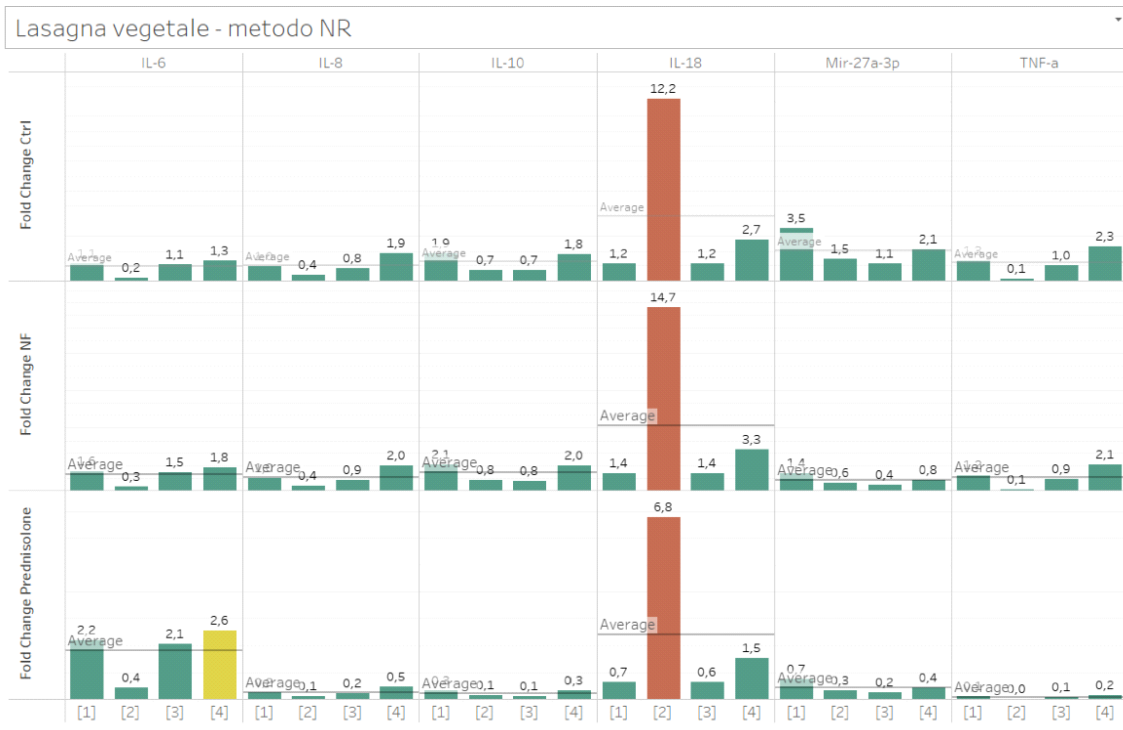
Di seguito le tabelle che riportano i valori di espressione dei geni testati per ciascuna pietanza

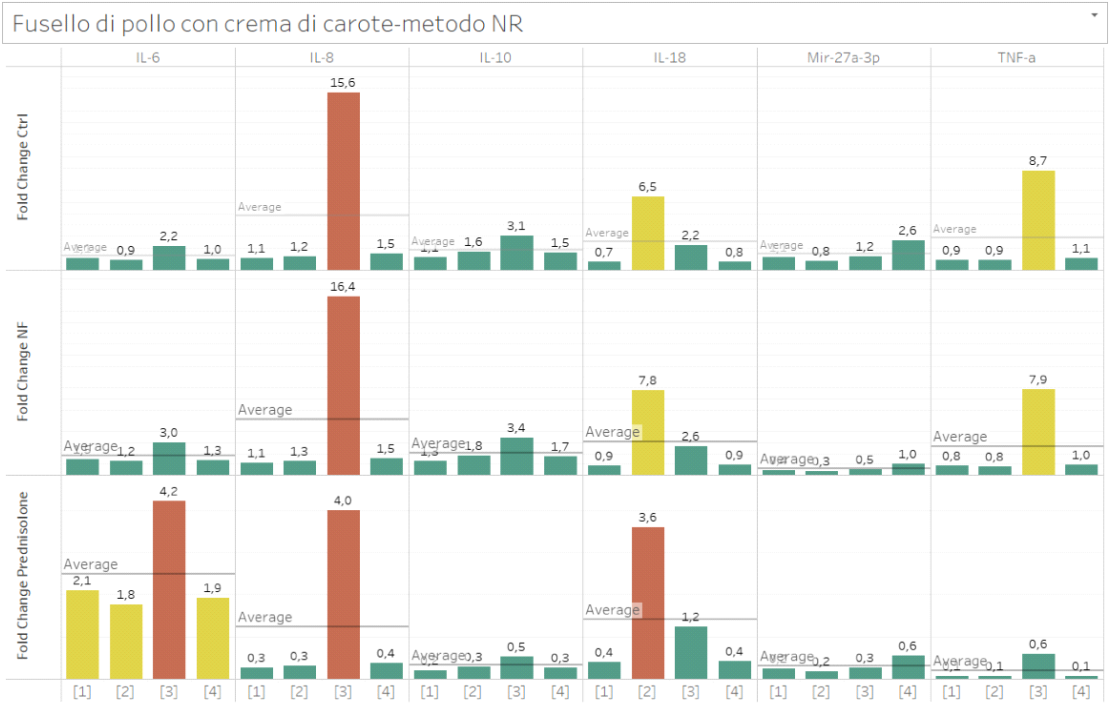




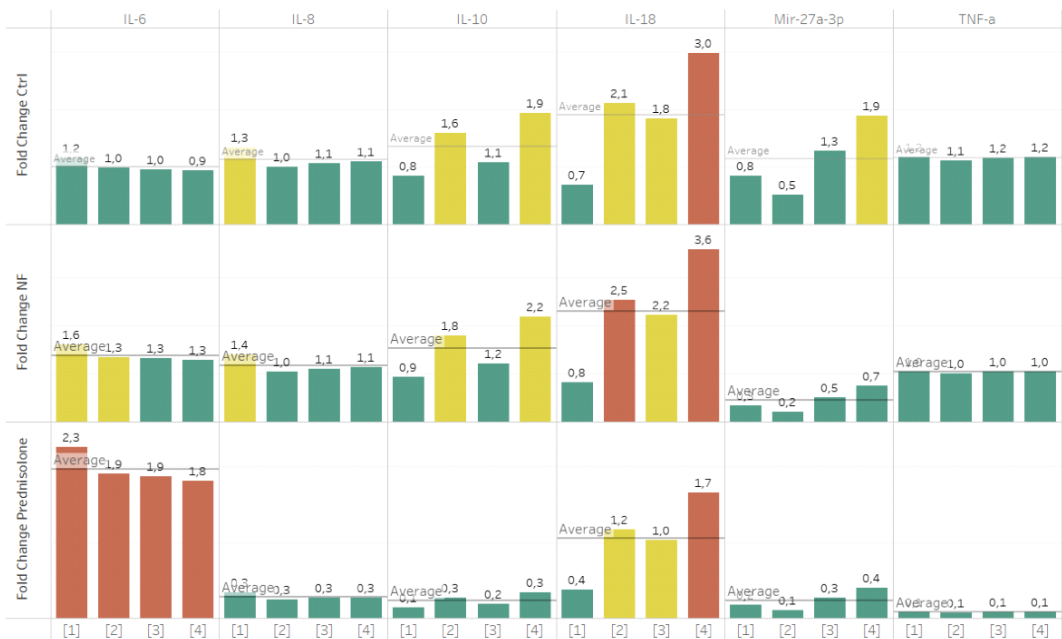
Lasagna al ragù-metodo tradizionale



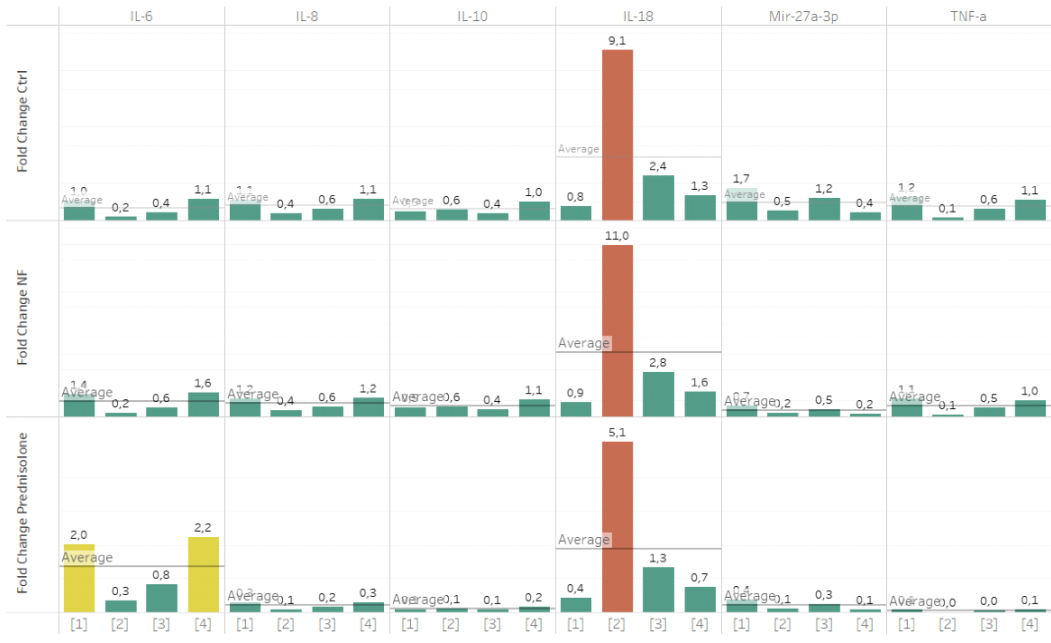




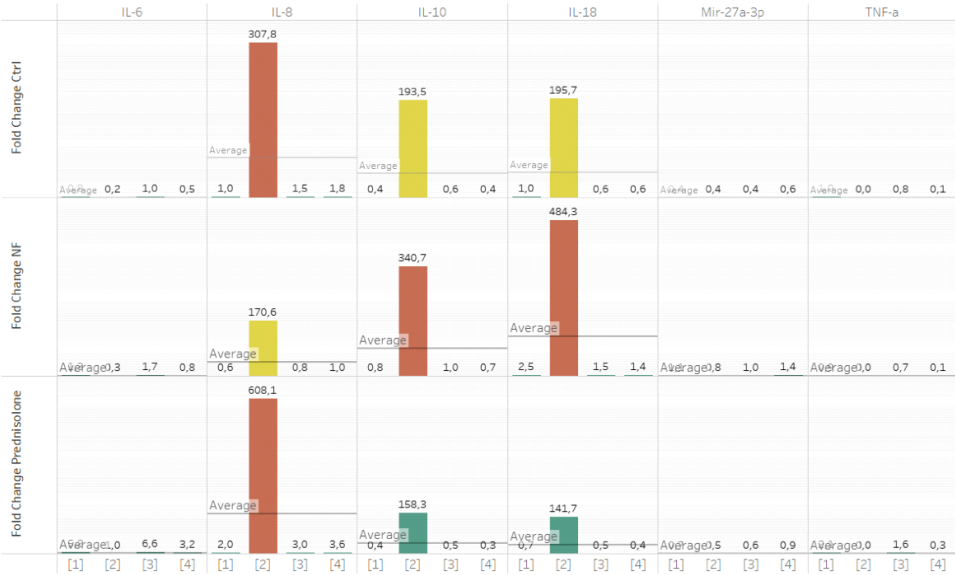
Minestra di ceci e riso rosso-metodo NR



Fettina di vitello in crema di broccoli-metodo NR



Tortino di verdure-metodo NR



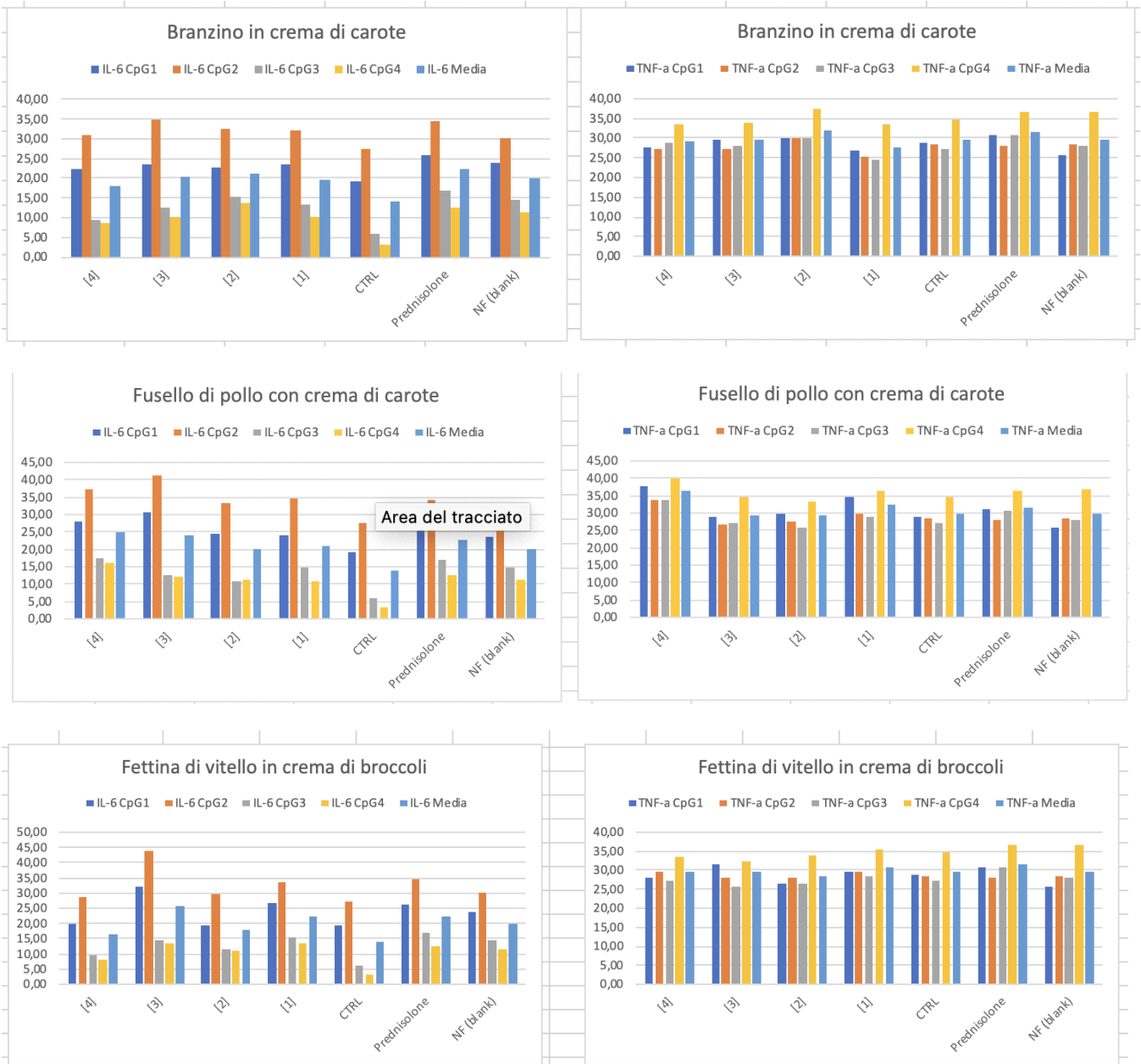
La tabella seguente mostra i risultati dell’analisi inferenziale e i relativi valori significativi

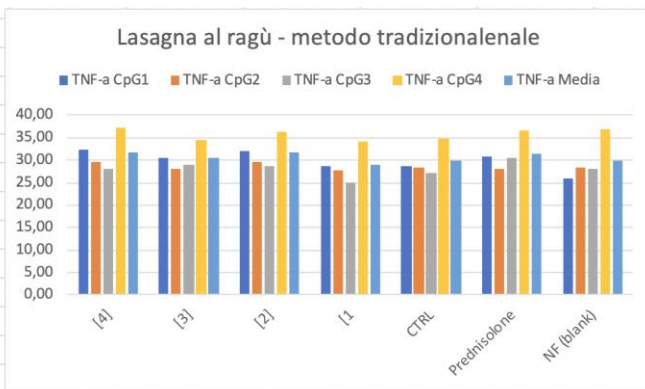
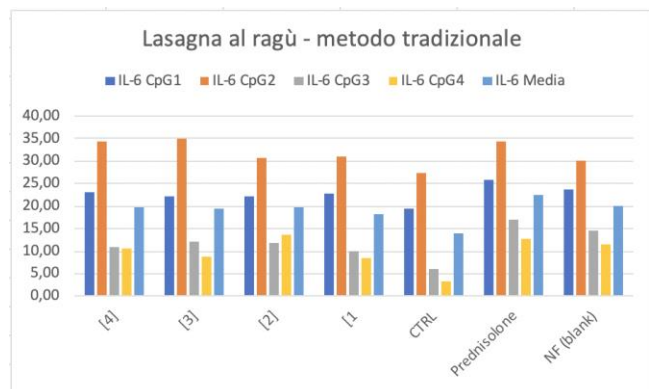
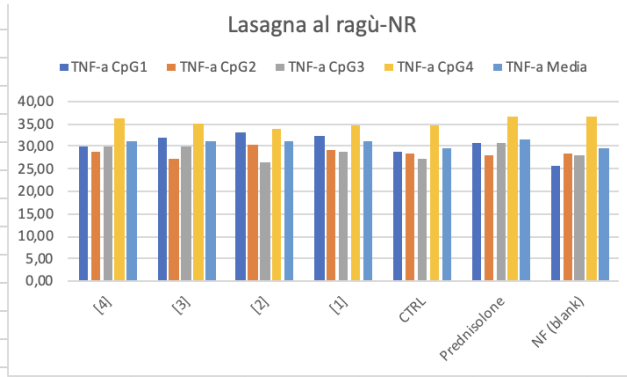
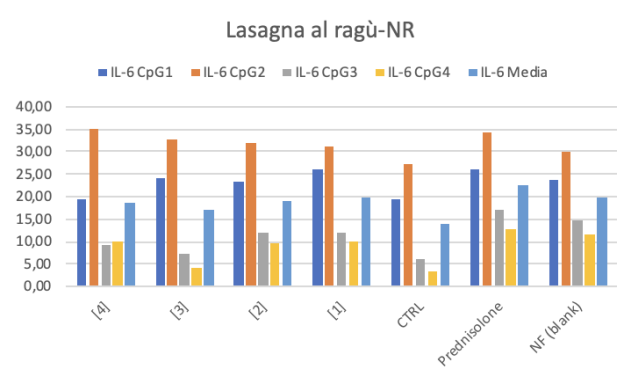
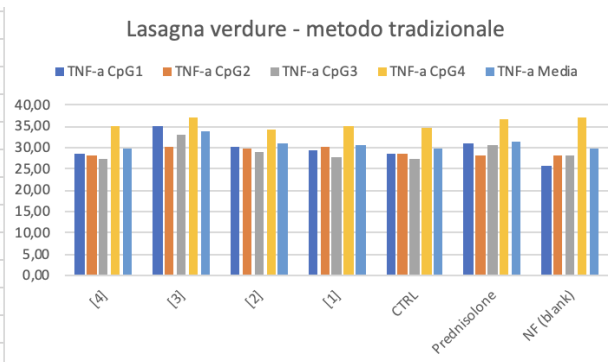
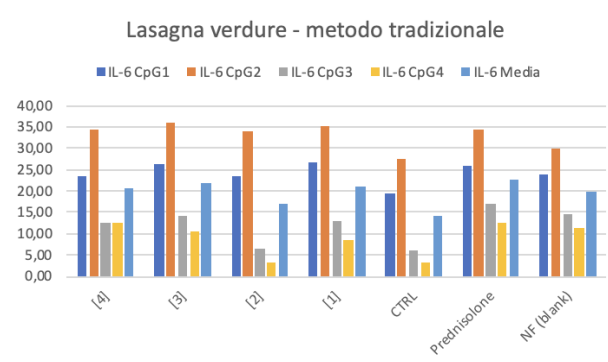
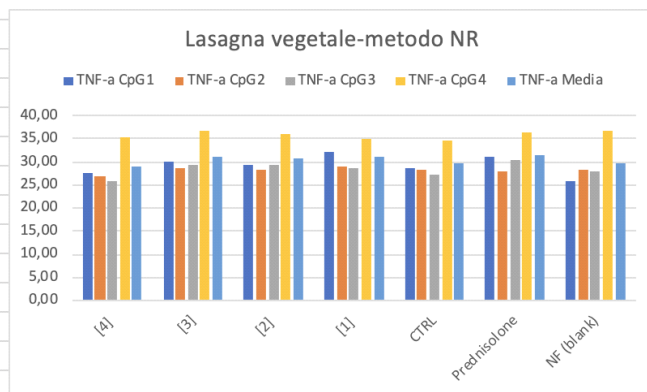
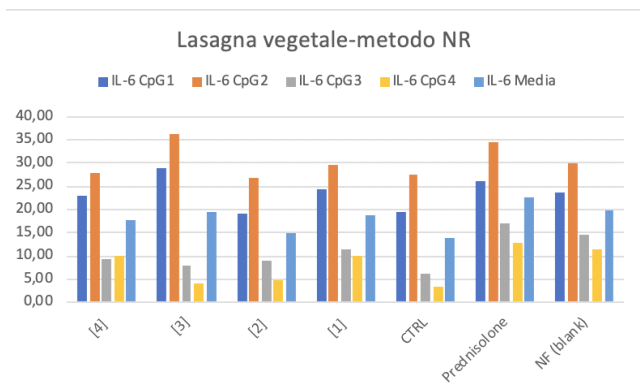
Gene/Citochina	confronto	Pietanza/metodo	p-value	FDR (BH)
IL-10	NR vs TRAD	Lasagna al ragù	0.003	0.012
Mir-27a-3p	NR vs TRAD	Lasagna vegetale	0.005	0.021

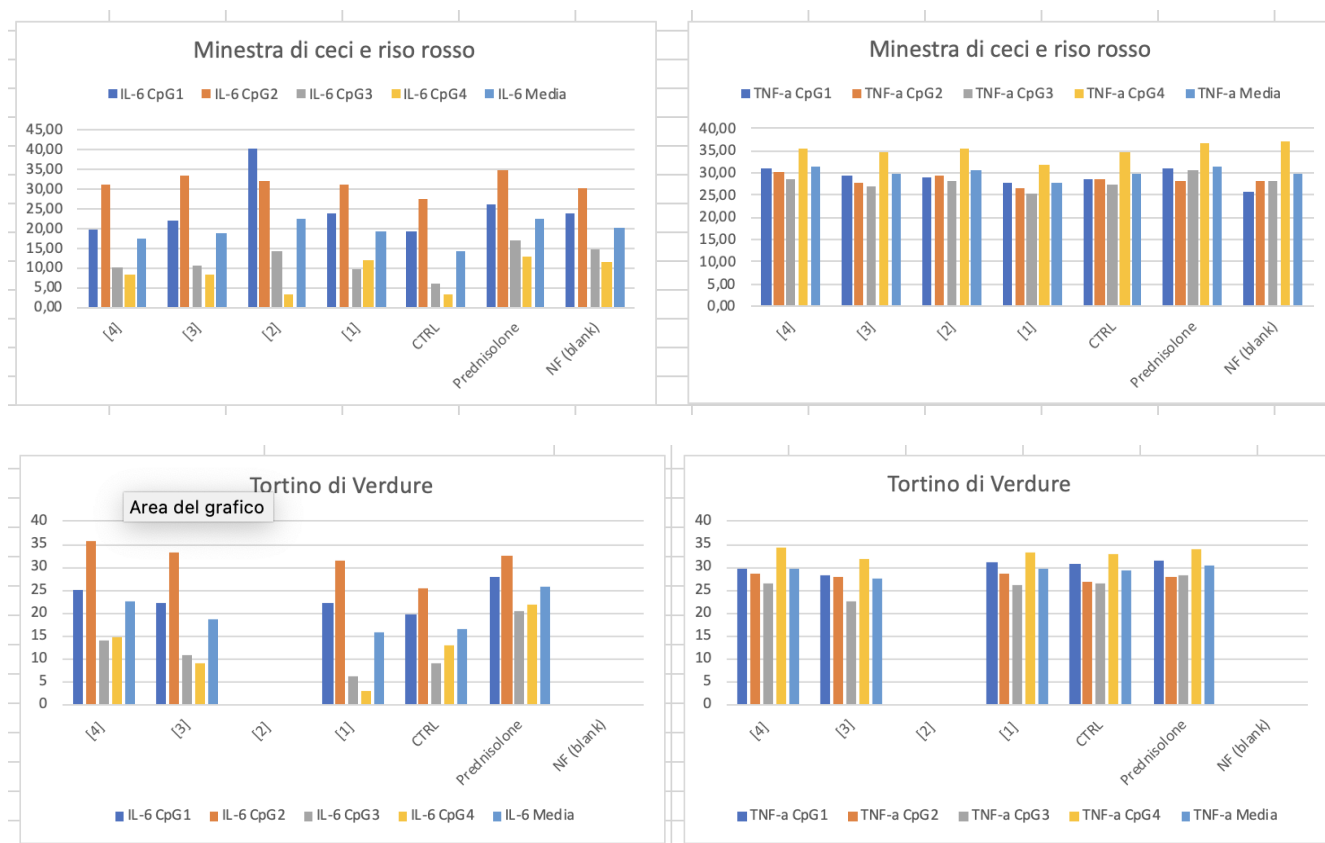
METILAZIONE DEL DNA

Dai confronti effettuati, non è stata rilevata la significatività statistica ($p > 0.05$).

I seguenti grafici mostrano i livelli di metilazione espressi in percentuale nei quattro siti CpGs dell'*IL-6* e *TNF- α* per le diverse pietanze nelle 4 concentrazioni e relativi controlli. (CTRL: controllo trattato con PMA; NF Blank: controllo negativo; D4: concentrazione digerito 4; D3: concentrazione digerito 3; D2: concentrazione digerito 2; D1: concentrazione digerito 1).







DISCUSSIONE

- L'*IL-18* emerge come il gene con l'espressione più variabile rispetto al controllo come si evince nelle seguenti pietanze: Lasagna vegetale-metodo NR [concentrazione 2], Fusello di pollo [concentrazione 3], Fettina di Vitello in crema di broccoli [concentrazione 2]. Si sottolinea che i CT (ciclo soglia) risultano più tardivi rispetto ai CT degli altri geni analizzati, indice di una ridotta espressione in termini assoluti.
- L'*IL-10* mostra valori di CT (ciclo soglia) più tardivi rispetto ai CT degli altri geni analizzati, indice di una ridotta espressione in termini assoluti. Le concentrazioni 2 e 3 della **Lasagna al ragù-metodo NR** presentano valori più alti di espressione dell'*IL-10* rispetto alle concentrazioni 1 e 4, **suggerendo una possibile risposta anti-infiammatoria**. Inoltre, la lasagna al ragù-metodo NR **presenta un pattern potenzialmente anti-infiammatorio confrontandolo con la lasagna al ragù -metodo tradizionale (p=0.003)**. Questo potrebbe suggerisce che il metodo di preparazione possa influenzare il profilo infiammatorio/anti-infiammatorio.
- L'espressione del *TNF-α* e dell'*IL-8* risulta più elevato soprattutto nella concentrazione 3 del Fusello di pollo con crema di carote-metodo NR, suggerendo un **potenziale profilo pro-infiammatorio**. (Tuttavia non essendo stato possibile analizzare la preparazione "Tradizionale" della stessa pietanza non è stato possibile confrontare i due profili pro-infiammatori. Infatti, essendo questa una pietanza costituita da componenti

- “notoriamente” pro-infiammatori anche un minor effetto “Pro-infiammatorio” sarebbe stato un elemento di valutazione certamente “Positivo”).
- Per quanto riguarda l'*IL-6*, nessuna pietanza analizzata mostra un profilo marcatamente infiammatorio, tuttavia la concentrazione 2 della **Lasagna vegetale-metodo NR** e le concentrazioni 2 e 3 della **Fettina di vitello con crema di broccoli** presentano l'espressione più bassa e pertanto, **con un profilo potenzialmente meno infiammatorio**.
 - Tra le diverse pietanze non si evince una sostanziale differenza di miR-27a-3p. Tuttavia, miR-27a-3p risulta più espresso nella Lasagna vegetale-metodo NR [concentrazione 1]. **In letteratura, elevati livelli di miR-27a correla con una riduzione delle citochine pro-infiammatorie** (Kobeissy et al. 2025). Nel nostro campione non risulta nessuna pietanza marcatamente pro-infiammatoria. Tuttavia, la lasagna al vegetale-metodo NR presenta livelli maggiori di miR-27a-3p confrontandolo con la lasagna vegetale-metodo tradizionale ($p=0.005$).

CONCLUSIONI

Alla luce dei dati ottenuti, si riportano i dati più rilevanti:

IL10: significativo nella Lasagna al ragù (NR vs TRAD) → **il metodo NR stimola potenzialmente una risposta antiinfiammatoria**.

IL18: significativo nella Lasagna vegetale-metodo NR [concentrazione 2] e Fettina di vitello in crema di broccoli [concentrazione 2] → **conferma un potenziale profilo proinfiammatorio**.

TNF- α : significativo nel Fusello di pollo con crema di carote-metodo NR (ctrl vs NF) → **potenziale profilo proinfiammatorio**.

IL8: significativo nel Tortino di verdure solo per la concentrazione 2 → **risposta infiammatoria da approfondire poiché con valori estremi**.

IL6: non ha raggiunto la significatività statistica in nessun confronto → **suggerisce un ruolo modulatore ma non determinante in questo dataset**.

• MiR27a-3p: significativo per la Lasagna vegetale-metodo NR [concentrazione 1]. Da approfondire attraverso studi futuri tale miRNA come potenziale modulatore epigenetico nei pathways dell'infiammazione.

CRITICITA'

Dopo aver eseguito l'analisi dell'espressione genica in triplicato sui campioni NF (blank), CTRL E Prednisolone del 11.03.25, 27.05.25 e 12.06.25 è stata riscontrata una differenza dei valori del DCT relativi all'espressione soprattutto di TNF- nei campioni trattati con Prednisolone e CTRL. Si fa presente che i campioni NF nelle due giornate (11.03 e 27.05), invece presentano valori medi sovrapponibili. Essendo i valori del DCT delle diverse giornate fortemente discordanti, si è proceduto con l'analisi di tutte le pietanze per la giornata del 27.05.25 ad eccezione del tortino di verdure processato nella giornata dell'1.07.25.

Di seguito i DCT dei campioni CTRL, Prednisolone e NF nelle tre giornate relativi a IL-6 e TNF-.

	GAPDH				IL-6				
	CT1	CT2	media	dev std	CT1	CT2	media	dev std	DCT
CTRL	21,86	21,90	21,88	0,03	31,80	31,76	31,78	0,03	9,90
prednisolone	26,36	26,14	26,25	0,16	36,80	37,45	37,12	0,46	10,87
NF (BLANK)	22,58	21,95	22,26	0,45	32,87	32,39	32,63	0,33	10,37
CTRL 1.11.03.2025	23,6	23,649	23,62	0,03	37,29	36,67	36,98	0,44	13,36
prednisolone 2 11.03.2025	23,501	23,464	23,48	0,03	38,66	38,68	38,67	0,01	15,18
NF (BLANK) 3 .11.03.2025	22,698	22,751	22,72	0,04	32,34	32,26	32,30	0,06	9,57
CTRL 1.12.06.2025	28,648	28,802	28,73	0,11	36,54	36,06	36,30	0,34	7,58
prednisolone 2 12.06.2025	25,751	25,78	25,77	0,02	36,94	37,01	36,98	0,05	11,21
NF (BLANK) 3 .12.06.2025	31,394	31,421	31,41	0,02	36,31	36,54	36,42	0,17	5,02
					TNF				
					CT1	CT2	media	dev std	DCT
CTRL					23,21	22,77	22,99	0,31	1,11
prednisolone					23,50	23,50	23,50	0,00	-2,75
NF (BLANK)					23,43	23,02	23,22	0,29	0,96
CTRL 1.11.03.2025					27,873	27,77	27,82	0,07	4,20
prednisolone 2 11.03.2025					27,065	27,031	27,05	0,02	3,57
NF (BLANK) 3 .11.03.2025					23,751	23,843	23,80	0,07	1,07
CTRL 1.12.06.2025					28,765	28,692	28,73	0,05	0,00
prednisolone 2 12.06.2025					25,521	25,699	25,61	0,13	-0,16
NF (BLANK) 3 .12.06.2025					31,563	31,486	31,52	0,05	0,12

Per il tortino di verdure, non è stata possibile l'analisi di metilazione del DNA dei Campioni 7 e 3 (corrispondenti alla concentrazione digeriti 2 e campione NF) del 26.06.2025. Nel dettaglio, il campione 7 presentava una concentrazione inferiore ai limiti imposti dal protocollo (probabilmente dovuto al numero di cellule) non permettendo il trattamento con bisolfito di sodio e successivo pirosequenziamento. Per quanto concerne il campione 3, esso non è stato inviato, e come comunicato in precedenza, è stato riscontrato un campione denominato "EC8" (supponiamo in una sostituzione al momento della spedizione).

REFERENCES

- Alam MM, O'Neill LA. MicroRNAs and the resolution phase of inflammation in macrophages. *Eur J Immunol*. 2011;41:2482–2485. doi: 10.1002/eji.201141740
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116:281–297. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
- Boonrong C, Roytrakul S, Shantavasinkul PC, Sritara P, Sirivarasai J. Role of Dietary Factors on DNA Methylation Levels of TNF-Alpha Gene and Proteome Profiles in Obese Men. *Nutrients*. 2024 Mar 18;16(6):877. doi: 10.3390/nu16060877. PMID: 38542788; PMCID: PMC10975841.
- Candiloro IL, Mikeska T, Dobrovic A. 2011. Assessing combined methylation-sensitive highresolution melting and pyrosequencing for the analysis of heterogeneous DNA methylation. *Epigenetics* 6(4):500–507
- Carbone S, Lee PJ, Mauro AG, Mezzaroma E, Buzzetti R, Van Tassell B, Abbate A, Toldo S. Interleukin-18 mediates cardiac dysfunction induced by western diet independent of obesity and hyperglycemia in the mouse. *Nutr Diabetes*. 2017 Apr 10;7(4):e258. doi: 10.1038/nutd.2017.1. PMID: 28394363; PMCID: PMC5436096.
- D'Esposito, V., Di Tolla, M. F., Lecce, M., Cavalli, F., Libutti, M., Misso, S., ... & Formisano, P. (2022). Lifestyle and dietary habits affect plasma levels of specific cytokines in healthy subjects. *Frontiers in nutrition*, 9, 913176.
- Emerson SR, Kurti SP, Harms CA, Haub MD, Melgarejo T, Logan C, Rosenkranz SK. Magnitude and Timing of the Postprandial Inflammatory Response to a High-Fat Meal in Healthy Adults: A Systematic Review. *Adv Nutr*. 2017 Mar 15;8(2):213-225. doi: 10.3945/an.116.014431. PMID: 28298267; PMCID: PMC5347112.
- Higashimoto, K., Hara, S., Soejima, H. 2023. DNA Methylation Analysis Using Bisulfite Pyrosequencing. In: Hatada, I., Horii, T. (eds) *Epigenomics. Methods in Molecular Biology*, vol 2577. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2724-2_1
- Liu G, Abraham E. MicroRNAs in immune response and macrophage polarization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013; 33:170–177. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300068
- Lundman P, Boquist S, Samnegård A, Bennermo M, Held C, Ericsson CG, Silveira A, Hamsten A, Tornvall P. A high-fat meal is accompanied by increased plasma interleukin-6 concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2007 Mar; 17(3):195-202. doi: 10.1016/j.numecd.2005.11.009. Epub 2006 Mar 20. PMID: 17367705.
- Lv YN, Ou-Yang AJ, Fu LS. MicroRNA-27a Negatively Modulates the Inflammatory Response in Lipopolysaccharide-Stimulated Microglia by Targeting TLR4 and IRAK4. *Cell Mol Neurobiol*. 2017 Mar; 37(2):195-210. doi: 10.1007/s10571-016-0361-4. Epub 2016 Mar 12. PMID: 26971344; PMCID: PMC11482108.
- Ma Y, Smith CE, Lai CQ, Irvin MR, Parnell LD, Lee YC, Pham LD, Aslibekyan S, Claas SA, Tsai MY, Borecki IB, Kabagambe EK, Ordovás JM, Absher DM, Arnett DK. The effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids and genetic variants on methylation levels of the interleukin-6 gene promoter. *Mol Nutr Food Res*. 2016 Feb;60(2):410-9

- Maggio, M., Guralnik, J. M., Longo, D. L., & Ferrucci, L. (2006). Interleukin-6 in Aging and Chronic Disease: A Magnificent Pathway. *The Journals of Gerontology*, 61(6): 575–584.
- Malik R, Sadewa A. H, Sunarti. High Fiber Diets Enhance Gene Expression and Il-10 Level on Hyperlipidemic Rats Model. *Curr Res Nutr Food Sci* 2020; 8(2). doi : <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.8.2.12>
- McNeely T. Pyrosequencing AB. *Pharmacogenomics*. 2003;4(2):217-21. doi: 10.1517/phgs.4.2.217.22638. PMID: 12605556
- Netea MG, Joosten LA, Lewis E, Jensen DR, Voshol PJ, Kullberg BJ et al. Deficiency of interleukin-18 in mice leads to hyperphagia, obesity and insulin resistance. *Nat Med* 2006; 12: 650–656.
- Niko Romito, Roberto Luneia, Lorenzo M. Donini, et al., Cooking techniques and nutritional quality of food: A comparison between traditional and innovative ways of cooking, *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25 (2021), 100381
- O’Connell RM, Kahn D, Gibson WS, Round JL, Scholz RL, Chaudhuri AA, Kahn ME, Rao DS, Baltimore D. MicroRNA-155 promotes autoimmune inflammation by enhancing inflammatory T cell development. *Immunity*. 2010;33:607–619. doi: 10.1016/j.immuni.2010.09.00
- O’Connell RM, Rao DS, Baltimore D. microRNA regulation of inflammatory responses. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:295–312. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-075013.
- Philippe Hussein Kobeissy, Cécile Denève-Larrazet, Jean-Christophe Marvaud, Imad Kansau, MicroRNA miR-27a-5p Reduces Intestinal Inflammation Induced by *Clostridioides difficile* Flagella by Regulating the Nuclear Factor- κ B Signaling Pathway, *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 231, Issue 1, 15 January 2025, Pages e38–e46
- Tehrani SD, Ahmadi AR, Sadeghi N, Keshani M. The effects of the mediterranean diet supplemented with olive oils on pro-inflammatory biomarkers and soluble adhesion molecules: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Metab (Lond)*. 2025 May 26;22(1):52. doi: 10.1186/s12986-025-00947-8. PMID: 40420157; PMCID: PMC12105412.
- Tüccar TB, Akbulut G. Mediterranean meal favorably effects postprandial oxidative stress response compared with a Western meal in healthy women. *Int J Vitam Nutr Res*. 2023 Aug;93(4):319-328. doi: 10.1024/0300-9831/a000734. Epub 2021 Oct 12. PMID: 34636645.
- Xie N, Cui H, Banerjee S, Tan Z, Salomao R, Fu M, Abraham E, Thannickal VJ, Liu G. miR-27a regulates inflammatory response of macrophages by targeting IL-10. *J Immunol*. 2014 Jul 1;193(1):327-334. doi: 10.4049/jimmunol.1400203. Epub 2014 May 16. PMID: 24835395; PMCID: PMC4065847.
- Yeo, R., Yoon, S. R., & Kim, O. Y. (2017). The Association between Food Group Consumption Patterns and Early Metabolic Syndrome Risk in Non-Diabetic Healthy People. *Clinical Nutrition Research*, 6(3): 172–182.
- Zeng Y. Principles of micro-RNA production and maturation. *Oncogene*. 2006; 25:6156–6162. doi: 10.1038/sj.onc.1209908