

IL CONTENUTO DI GLUTINE NELLA BIRRA



La posizione di AIC sul comunicato del Prolamin Working Group sulla determinazione del glutine in alimenti fermentati contenenti glutine parzialmente idrolizzato

È stato pubblicato sulla rivista scientifica online *Frontiers in Nutrition*, sezione Chimica degli Alimenti, la opinione del “Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity”¹, sulla determinazione del glutine in alimenti fermentati contenenti glutine parzialmente idrolizzato.

Il “Prolamin Working Group” (PWG), come viene usualmente abbreviato, è un panel di scienziati esperti a livello mondiale di analisi sul glutine e sui meccanismi patogenetici della celiachia. Fondato nel 1985, ha l’obiettivo di svolgere direttamente e orientare la ricerca sulla analisi del contenuto di glutine negli alimenti e verificare gli aspetti clinici e nutrizionali della celiachia. Si tratta di un gruppo internazionale composto da medici, chimici, tecnologi alimentari e nutrizionisti che lavorano insieme per raggiungere questi obiettivi (www.wgpat.com).

Il comunicato del PWG commenta la posizione della Food and Drug USA sulla metodica di analisi del glutine e afferma che la metodica di elezione oggi utilizzata, in Europa e nel mondo, per la quantificazione del glutine in alimenti o bevande parzialmente idrolizzate, la cosiddetta “ELISA R5 competitive”, è considerata la metodica più all’avanguardia per quantificare il glutine negli alimenti fermentati.

Inquadramento

Le birre prodotte da cereali contenenti glutine che recano in etichetta la dicitura “senza glutine” seguono particolari processi produttivi che prevedono la ridu-

zione del contenuto di glutine al di sotto dei 20 ppm, attraverso la sua frammentazione in parti più piccole (peptidi).

Proprio per quantificare il glutine presente nelle birre senza glutine da cereali contenenti glutine, nel 2007 è stata sviluppata una metodica apposita, l'ELISA R5 competitive, che, a differenza dell'ELISA R5 sandwich, riesce a riconoscere il glutine frammentato, presente in queste bevande.

Tuttavia, una recente norma approvata negli USA² riferisce che al momento non esisterebbero metodi sicuri per la rilevazione del glutine in alimenti o bevande dove il glutine viene idrolizzato.

Il comunicato del PWG

Il PWG nel suo comunicato riconosce che l'ELISA R5 competitive ha dei limiti in quanto può non rilevare i frammenti di glutine più piccoli e vi sono criticità nell'identificazione dello standard di riferimento per rendere conto delle diverse matrici in cui il glutine deve essere analizzato.

Il PWG però chiarisce che la metodica ELISA R5 competitive è stata validata da uno studio collaborativo internazionale sotto la guida dello stesso PWG nel 2013 e che, a seguito dell'esito positivo di questo studio, la metodica è stata approvata dagli esperti rispettivamente come metodo AAC³ 38-55.01 e Metodo Ufficiale di analisi AOAC⁴ (Final Action OMA 2015.05) perché il metodo si è dimostrato accurato, preciso e specifico per lo scopo per cui è stato sviluppato.

L'impegno di AIC

Nonostante le rassicurazioni raccolte dal PWG, l'Associazione Italiana Celiachia, sentito il proprio Comitato Scientifico, insieme alle altre Associazioni Celiachia, nell'ambito di AOECs, la Federazione delle Associazioni Celiachia Europee, con i loro comitati di esperti scientifici, stanno approfondendo il tema con esperti del settore.

Il campo delle metodiche analitiche è infatti in rapida e costante evoluzione, por-



tando sempre più frequentemente alla diffusione di metodologie di analisi più efficaci, sensibili e specifiche.

L'opinione di AIC e le indicazioni per chi soffre di celiachia

Nel frattempo, il Board del Comitato Scientifico AIC ha espresso su richiesta dell'Associazione il proprio parere (www.celiachia.it/faq/7-birra-e-bevande-a-base-di-orzo-o-frumento-dichiarate-senza-glutine-sono-sicure-per-i-celiaci/): “per i prodotti appositamente formulati per celiaci a base di uno o più ingredienti ricavati da frumento, segale, orzo, o da loro varietà incrociate, lavorati chimicamente o fisicamente per ridurre il loro contenuto di glutine al di sotto dei 20 mg/kg (ad esempio caffè d'orzo, birra da malto d'orzo), etichettati “senza glutine”, **si suggerisce un consumo moderato/saltuario**, considerando che contengono un residuo fisso di glutine (a differenza dei prodotti da materie prime senza glutine, dove il limite dei 20 ppm è inserito per regolare eventuali contaminazioni accidentali, saltuarie e non continuative)”.

I prodotti, come le birre senza glutine, che contengono malto d'orzo (o di frumento) idrolizzato, devono riportare in etichetta in maniera evidente il cereale di origine (orzo, frumento o grano).

Pertanto è sempre possibile, per il consumatore, operare una scelta informata prima di acquistare un prodotto.

Note

¹ <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2020.626712/full>

² <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-finalizes-rule-related-gluten-free-labeling-foods-containing-fermented-hydrolyzed-ingredients>

³ AAC (American Association for Clinical Chemistry) è una società scientifico-medica internazionale dedicata alla scienza di laboratorio medico e alle sue applicazioni alla cura della salute (aacc.org).

⁴ AOAC INTERNATIONAL (Association of Official Analytical Chemists) è una organizzazione no profit di terza parte indipendente. Lavora per raggiungere consenso volontario sullo sviluppo di standard nella analisi chimica (aoac.org).

*** Gli autori**

¹ Department of Bioactive and Functional Food Chemistry
Institute of Applied Biosciences
Karlsruhe Institute of Technology
KIT Germany

² Department of Pediatrics
Polytechnic University of Marche
Italy

³ Instituto de Estudios
Inmunológicos y Fisiopatológicos
IIFP UNLP CONICET Universidad
Nacional de La Plata Argentina

⁴ Norwich Medical School
Faculty of Medicine and Health
Sciences University of East Anglia
United Kingdom

⁵ St James's Hospital
University of Dublin Ireland

⁶ Institute of Biochemistry and Cell
Biology Italian National Council of
Research Italy

⁷ Leiden University Medical Center
Netherlands

⁸ Department of Gastroenterology
Oslo University Hospital
Rikshospitalet and Stiftelsen KG
Jebsen Coeliac Disease Research
Centre University of Oslo Norway

⁹ Department of Agricultural and
Forestry Sciences
University of Tuscia Italy

¹⁰ Institute for Translational
Medicine University Medical
Center of the Johannes Gutenberg
University Mainz Germany

¹¹ Plant Breeding Wageningen
University and Research
Netherlands

¹² INRAE UR BIA France

¹³ European Laboratory for the
Investigation of Food Induced
Diseases Department of Medical
Translational Sciences
University Federico II Italy

¹⁴ Biotask AG Germany

Traduzione AIC⁵ del Comunicato del Prolamin Working Group sulla determinazione del glutine in alimenti fermentati contenenti glutine parzialmente idrolizzato

*Katharina A. Scherf⁽¹⁾, Carlo Catassi⁽²⁾, Fernando G. Chirido⁽³⁾, Paul J. Ciclitira⁽⁴⁾, Conleth F. Feighery⁽⁵⁾, Carmen Gianfrani⁽⁶⁾, Frits Koning⁽⁷⁾, Knut E. Lundin⁽⁸⁾, Stefania Masci⁽⁹⁾, Detlef Schuppan⁽¹⁰⁾, Marinus J M Smulders⁽¹¹⁾, Olivier Tranquet⁽¹²⁾, Riccardo Troncone⁽¹³⁾ and Peter Koehler⁽¹⁴⁾**

Il 12 agosto 2020, la *Food and Drug Administration* (FDA) USA ha emesso una norma riguardante l'uso del termine "gluten-free" (senza glutine) sulla etichetta di alimenti contenenti ingredienti fermentati idrolizzati. La FDA ritiene che non esista un metodo analitico efficace valido scientificamente per la determinazione del contenuto di glutine in alimenti fermentati o idrolizzati. In assenza di un metodo analitico, la FDA ha deciso di

IL BOARD DEL COMITATO SCIENTIFICO DI AIC SUGGERISCE UN CONSUMO "MODERATO O SALTUARIO" DI PRODOTTI DERIVATI DA CEREALI VIETATI, COME LA BIRRA

ammettere l'impiego della dicitura "senza glutine" esclusivamente per quegli alimenti fermentati solo se ci sia evidenza che l'alimento o l'ingrediente utilizzato sia senza glutine già prima della fermentazione o idrolisi.

Per esempio, le birre da malto d'orzo da cui il glutine è rimosso durante la fermentazione alcolica tramite specifiche tecniche di filtraggio, assorbimento e/o trattamento enzimatico sono quindi escluse dalla possibilità di utilizzo della

dicitura "senza glutine".

Il Prolamin Working Group (PWG, Gruppo di Lavoro sulle Prolammine) riconosce che la norma della FDA è un atto regolatorio che potrebbe aver tenuto in considerazione numerosi aspetti differenti dalla evidenza scientifica, inclusa la valutazione del rischio. Tuttavia, il PWG ritiene che la scienza debba essere la guida più importante per gli atti normativi riguardanti la gestione del rischio.

Nell'Unione Europea, per queste birre è attualmente ammesso l'impiego della dicitura "senza glutine". Come richiesto dal Regolamento (UE) N. 1169/2011 del 25 ottobre 2011 relativo alla fornitura di informazioni sugli alimenti ai consumatori, la lista degli ingredienti deve includere "malto d'orzo" in una scritta in evidenza, perché i cereali contenenti glutine sono riportati nell'allegato II del Regolamento quali sostanze o prodotti che provocano allergie o intolleranze.

Il massimo livello di glutine ammesso per poter utilizzare la dicitura "senza glutine" è stabilito dal Regolamento (UE) N. 828/2014 del 30 luglio 2014 relativo alle prescrizioni riguardanti l'informazione dei consumatori sull'assenza di glutine o sulla sua presenza in misura ridotta negli alimenti.

Su queste basi normative, Organizzazioni non governative come la Associazione delle Società Celiachia Europee (AOECS) hanno sviluppato il Sistema Europeo di Licenza con linee guida che devono essere rispettate per permettere l'utilizzo della Spiga Barrata sulla etichetta di prodotti senza glutine.

Questa differenza di regolamentazione è un tema di grande dibattito al momento, a causa delle divergenti opinioni tra la FDA e la UE. Ad oggi, gli *enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA) sono i metodi di scelta per la quantificazione del glutine e sono ampiamente utilizzati per le analisi di routine sul glutine negli alimenti. L'anticorpo R5, l'anticorpo monoclonale più prevalentemente utilizzato nell'analisi del glutine, è stato sviluppato da Enrique Mendez, un membro del PWG, e si trova

nelle varianti del Sandwich ELISA, per il glutine intero, e in quella del competitive ELISA, per il glutine parzialmente idrolizzato. L'R5 Sandwich ELISA è stato riconosciuto dal Codex Alimentarius come metodo di Tipo 1 per la determinazione del glutine negli alimenti.

Tuttavia, la versione Sandwich non è adatta a determinare il glutine in prodotti che contengono glutine parzialmente idrolizzato, e per questo tipo di analisi sono richieste le varianti competitive ELISA. I competitive ELISA basati sia sull'R5, sul G12 o anticorpi DQ2.5-glia- α 3 sono oggi disponibili, anche se il loro utilizzo non è ancora stato completamente approvato dalle autorità del controllo ufficiale sugli alimenti. Le dichiarazioni seguenti sull'R5 ELISA possono essere valide anche per altri competitive ELISA. Sulla base degli studi scientifici disponibili, il PWG ritiene che l'ELISA R5 competitive sia adatto a determinare il contenuto di glutine degli alimenti fermentati contenenti glutine parzialmente idrolizzato da frumento, segale o orzo, come la birra.

Il PWG riconosce che questo metodo ha dei limiti perché potrebbe non riconoscere i frammenti di peptidi più piccoli e potrebbe non avere lo standard perfetto per tenere conto dell'ampia varietà di differenti procedure di fermentazione comuni nel processo alimentare. Tuttavia, questo metodo è stato validato da uno studio collaborativo internazionale sotto la guida del PWG nel 2013. Birre contaminate con glutine parzialmente idrolizzato, sciroppo di amido contaminato da glutine e pasta acida essiccata sono state utilizzate come matrici.

Lo studio collaborativo è stato completato con successo e l'Elisa R5 competitive è stato conseguentemente approvato dai panel di esperti rispettivamente come Metodo AACCI 38-55.01 e Metodo Ufficiale di Analisi AOAC (Final Action OMA 2015.05) in quanto il metodo ha dimostrato di essere accurato, preciso e specifico per il suo scopo. Uno studio aggiuntivo è stato iniziato con esperti riconosciuti

a livello internazionale per dimostrare la affidabilità del metodo ELISA R5 Competitive per la analisi di campioni di birra. Un sottocomitato della Società Americana dei Chimici della Birrificazione ha raccomandato che il metodo per la determinazione del glutine attraverso l'ELISA R5 Competitive sia incluso nei loro metodi di analisi. Il PWG pertanto ritiene che questo metodo sia al momento considerato il riferimento per la quantificazione del glutine negli alimenti fermentati.

La FDA ritiene che il metodo ELISA R5 competitive non sia adatto per l'individuazione e quantificazione del glutine in qualsiasi alimento fermentato o idrolizzato per le differenti condizioni idrolitiche negli alimenti da analizzare e nel materiale utilizzato per la calibrazione. Questa opinione è scientificamente corretta ma seguendo questo ragionamento implicherebbe che un differente materiale di calibrazione debba essere preparato per la matrice di ogni campione, per esempio, per ogni tipo di birra, anche dallo stesso produttore.

In questo modo, la standardizzazione del metodo sarebbe impossibile e i risultati non sarebbero comparabili tra differenti laboratori o produttori. Si tratterebbe di un passo indietro nella analisi del glutine. Inoltre, la stessa questione si pone anche con altre metodiche utilizzate per la analisi del glutine, come il sandwich ELISA o la cromatografia liquida in tandem con la spettrometria di massa (LC-MS/MS). In questo campo di ricerca, i materiali di calibrazione sono sempre un compromesso tra differenti possibilità. Il metodo alternativo più importante per la determinazione del glutine in alimenti fermentati è la LC-MS/MS.

Questa tecnica al momento è in grado di determinare e quantificare i frammenti di glutine (peptidi) nelle birre ma ad oggi non esiste ancora alcun metodo di routine validato per ottenere valori assoluti per il contenuto di glutine basandosi su questi frammenti. Il PWG non ha visto alcun valore in mg/kg di un peptide attivo per la malattia celiaca che possa portare

Note

⁵La traduzione è stata ufficialmente approvata dal PWG

⁶Equivalenti a 10^{-15} Moli, un quantitativo estremamente piccolo (NdT).



NELLA FOTO: Luppolo verde fresco

ad attestare con certezza se queste tracce siano significative per i pazienti celiaci o se il contenuto sia così basso da rientrare sotto il limite per gli alimenti senza glutine dei 20 mg/kg. Anche se la moderna strumentazione della Spettrometria di Massa è in grado di rilevare quantitativi femtomolari⁶ di peptidi, non è ancora disponibile una analisi di rischio appropriata dei contenuti rilevati.

Si afferma spesso che l'ELISA R5 competitive non fornisce informazioni sulla immunogenicità dei frammenti rilevati. Tuttavia, ciò è altrettanto vero per i metodi analitici alternativi per la quantificazione del glutine e, inoltre, questo non è lo scopo del metodo.

I metodi di analisi degli alimenti possono unicamente determinare il contenuto stabilito dalla normativa. L'immunogenicità può essere valutata solo attraverso studi clinici.

Il PWG ritiene che sia necessario avere più studi scientifici per:

- meglio comprendere la rilevazione attraverso Spettrometria di Massa del glutine residuo nelle birre ed in altri alimenti fermentati
- e anche per assicurarsi che l'ELISA R5 competitive rilevi ogni peptide che dovrebbe rilevare.

Inoltre, la rilevazione e quantificazione dei frammenti di glutine attraverso Spettrometria di Massa non è abbordabile per i produttori alimentari, in particolare per piccole aziende, perché è troppo costosa e troppo impegnativa in termini di tempo e competenze dell'operatore. Quindi, è difficile raccomandarla come metodo di test routinario anche tenendo in considerazione che un appropriato metodo per la quantificazione assoluta del glutine attraverso la Spettrometria di Massa non è al momento disponibile. ♦