



Gruppo di lavoro:

Sabina Sieri (coordinatore), Claudia Agnoli, Luciana Baroni, Iacopo Bertini, Salvatore Ciappellano, Alessandra Fabbrì, Mattia Papa, Nicoletta Pellegrini, Rosella Sbarbati, M. Laura Scarino, Vincenzino Siani

## Box riassuntivo

- Poiché la digeribilità delle proteine vegetali è inferiore a quella delle proteine animali, potrebbe essere opportuno per i vegetariani assumere un quantitativo di proteine leggermente superiore rispetto a quanto suggerito per la popolazione generale.
- Tutte le persone che seguono una dieta vegetariana dovrebbero integrare la loro dieta con una fonte affidabile di vitamina B12 (alimenti fortificati o integratori).
- I vegetariani dovrebbero porre particolare attenzione al consumo di prodotti alimentari che siano buone fonti di calcio (verdure a basso contenuto di ossalati e fitati, alimenti a base di soia, bevande vegetali fortificate, acque ricche di calcio e alcuni tipi di frutta secca e semi oleaginosi).
- I vegetariani dovrebbero aumentare l'assunzione di ferro rispetto agli onnivori, seguendo una dieta variata che includa alimenti vegetali con elevato contenuto di ferro.
- I vegetariani dovrebbero aumentare l'assunzione di zinco rispetto a quanto raccomandato per la popolazione generale, specialmente quando il rapporto molare fitati/zinco della dieta è elevato.
- I vegetariani possono migliorare il loro stato di nutrizione riguardo gli acidi grassi omega-3 assumendo regolarmente buone fonti di acido alfa linolenico (es. noci, semi di lino e di chia, oli da essi derivati) e riducendo le fonti di acido linoleico (ad es. oli vegetali quali olio di mais, olio di girasole).

## Riassunto

La scelta di seguire una dieta vegetariana è in aumento in Italia e nel resto del mondo in quanto le agenzie governative e le organizzazioni di salute e nutrizione enfatizzano sempre di più come il consumo regolare di alimenti di origine vegetale apporti benefici alla salute e aiuti a prevenire lo sviluppo di alcune malattie. Dagli studi revisionati in questo “position paper” emerge come una dieta vegetariana che includa un’ampia gamma di prodotti vegetali fornisca un adeguato apporto di nutrienti in tutte le fasi del ciclo vitale. È inoltre importante l’attenzione nei confronti di alcuni nutrienti chiave, che potrebbero essere non sempre presenti in quantità adeguate in alcuni tipi di diete vegetariane.

In particolare, la digeribilità delle proteine vegetali è inferiore a quella delle proteine animali, rendendo quindi probabilmente appropriato per i vegetariani introdurre un quantitativo di proteine superiore del 5-10% rispetto a quello raccomandato per la popolazione generale. I vegetariani dovrebbero inoltre integrare la loro dieta con una fonte affidabile di vitamina B12 (alimenti fortificati o integratori). Si raccomanda inoltre il consumo abituale di alimenti che costituiscano una buona fonte di calcio, ferro e zinco – in particolare verdure con un basso contenuto di ossalati e fitati (es. Brassicacee), bevande vegetali fortificate, frutta oleosa, semi e acque minerali ricche di calcio. La biodisponibilità di ferro, zinco e calcio può essere migliorata tramite ammollo, germinazione e lievitazione a pasta acida delle farine, che abbassano il contenuto di fitati nei legumi e nei cereali. Infine, i vegetariani possono assicurarsi un adeguato stato nutrizionale degli acidi grassi omega-3 grazie al consumo abituale di buone fonti di acido  $\alpha$ -linolenico (noci, semi di lino, semi di chia e oli da essi derivati) e la limitazione del consumo di acido linoleico (es. olio di mais e di girasole).

In risposta al crescente interesse nei confronti dell'alimentazione vegetariana in Italia, nel 2012 la Società Italiana di Nutrizione Umana (SINU) ha dato vita a un gruppo di lavoro con il compito di valutare sistematicamente la letteratura scientifica peer-reviewed sulle diete vegetariane. Lo scopo finale del lavoro di revisione era quello di stilare dei consigli scientificamente rigorosi per la popolazione italiana su come massimizzare i benefici e minimizzare i rischi derivanti dal seguire i diversi tipi di dieta vegetariana. Questo "position paper" riassume le evidenze relative alla biodisponibilità di proteine, vitamina B12, ferro, zinco, calcio, vitamina D e acidi grassi omega-3 nelle diete vegetariane, e allo stato nutrizionale dei vegetariani in generale e nelle diverse fasce d'età. Questi sono nutrienti chiave per i vegetariani in quanto potrebbero essere non sempre presenti in quantità adeguate in alcuni tipi di dieta vegetariana. Basandosi sulle evidenze finora emerse dalla letteratura scientifica, il manoscritto presenta quindi delle raccomandazioni rivolte a coloro che intendono seguire una dieta vegetariana.

### **Diversi tipi di dieta vegetariana**

Una dieta vegetariana esclude il consumo di tutti i tipi di carne (suino, manzo, montone, agnello, pollame, selvaggina), prodotti a base di carne (salsicce, insaccati, patè, ecc.), pesce (incluso il sushi), molluschi e crostacei. In base all'inclusione o meno di latticini, uova e miele, possiamo distinguere due tipi fondamentali di dieta vegetariana:

1. **Latto-ovo-vegetarianesimo (LOV).** Esclude la carne ma include latticini, uova e miele, insieme a un'ampia gamma di alimenti di origine vegetale. Le sottocategorie sono il latto-vegetarianesimo (LV), che esclude le uova, e l'ovo-vegetarianesimo (OV), che esclude i latticini.
2. **Veganesimo (VEG).** Esclude la carne, i latticini, le uova e il miele ed è basato su un'ampia gamma di alimenti di origine vegetale.

I profili nutrizionali delle diete LOV e VEG variano molto in relazione a tipo, quantità e grado di lavorazione degli alimenti vegetali consumati; per le diete LOV la variabilità è maggiore, dato che includono anche prodotti di origine animale. Il consumo di tutti i cibi appartenenti ai vari gruppi alimentari previsti dai due pattern dietetici, senza limitazioni di categorie di alimenti né di modalità di preparazione e cottura, unitamente all'attenzione nei confronti dei nutrienti critici, è la principale caratteristica di una dieta vegetariana ben pianificata.

Esistono infatti dei tipi di diete a base vegetale che limitano i tipi di alimenti consumati e che devono essere chiaramente distinte dalle diete LOV e VEG. Tra di esse troviamo:

- **Dieta crudista:** costituita esclusivamente da alimenti vegetali consumati prevalentemente crudi, quali cereali e legumi germogliati, frutta fresca e secca e semi, ma anche uova e latte.
- **Dieta fruttariana:** costituita esclusivamente da frutta fresca e secca, semi e alcune verdure.
- **Dieta macrobiotica:** la versione strettamente vegetariana di questa dieta comprende cereali, legumi, frutta, verdure, alghe e prodotti a base di soia; i latticini, le uova, alcune verdure e alcuni frutti vengono esclusi. Alcuni macrobiotici consumano anche il pesce.

Gli articoli revisionati in questo manoscritto riguardano principalmente le diete LOV e VEG seguite nei Paesi occidentali e asiatici; di conseguenza, le raccomandazioni scaturite riguardano principalmente questi tipi di diete, generalmente definite come "vegetariane".

L'adeguatezza nutrizionale delle diete crudiste, fruttariane e macrobiotiche è stata analizzata da un numero esiguo di studi. Le evidenze relative a queste diete, ove disponibili, vengono presentate in sezioni separate. I benefici per la salute riportati relativamente a queste diete non sono supportati dalle evidenze scientifiche finora disponibili e in molti casi queste diete potrebbero essere nutrizionalmente non adeguate.

# Proteine

## ***Biodisponibilità***

La qualità nutrizionale di una proteina viene definita dalla sua capacità di soddisfare i fabbisogni metabolici individuali in termini di amminoacidi essenziali e azoto, e dipende dalla sua composizione in amminoacidi essenziali e dalla loro biodisponibilità.

La biodisponibilità degli amminoacidi dipende da tre caratteristiche degli alimenti da cui derivano, che possono influenzare la percentuale di amminoacido che viene utilizzata: la digeribilità, l'integrità chimica e la presenza di sostanze che interferiscono con l'assorbimento (1).

Per quanto riguarda la digeribilità, le proteine animali (contenute in carne, latte, uova, ecc.) e le proteine vegetali purificate o concentrate (es. proteine della soia o glutine) sono solitamente altamente digeribili (>95%). Alcuni alimenti vegetali integri, come i cereali integrali e i legumi, sono caratterizzati da una minore digeribilità (circa 80-90%). Altre proteine vegetali hanno una digeribilità inferiore (50-80%) a causa della presenza della parete cellulare e di fattori antinutrizionali. La digeribilità proteica è inoltre influenzata dai processi di lavorazione e dal trattamento termico a cui viene sottoposto l'alimento.

Alcuni amminoacidi possono presentarsi in una forma chimicamente non disponibile. La reazione di Maillard, ad esempio, porta alla formazione di sostanze che causano una riduzione nella disponibilità di lisina. Altri amminoacidi, in special modo quelli solforati, il triptofano e la treonina, possono andare incontro a processi di ossidazione, con conseguente diminuzione della biodisponibilità (1).

Molti alimenti contengono sostanze bioattive (proteiche o non) che sono in grado di modificare la biodisponibilità amminoacidica influenzandone la digeribilità o l'utilizzo dopo l'assorbimento (2). Gli alimenti di origine vegetale possono infatti contenere livelli elevati di fattori antinutrizionali, naturalmente presenti (es. tannini, fitati, inibitori degli enzimi digestivi, glucosinolati, isotiocianati), che si formano durante la lavorazione (es. D-amminoacidi, lisoalanina) o come risultato di modificazioni genetiche (es. lectine). Non è comunque semplice valutare l'impatto di questi fattori antinutrizionali sulla biodisponibilità proteica.

Diversi alimenti di origine vegetale, come i legumi, i cereali, le patate e i pomodori, contengono sostanze che inibiscono gli enzimi digestivi (3). I fagioli di soia sono l'alimento con la percentuale più elevata di inibitori della tripsina, mentre i piselli e i prodotti della lavorazione della soia ne contengono livelli molto più bassi (2). Poiché si tratta solitamente di proteine, gli inibitori enzimatici possono essere disattivati con processi a caldo, come l'estrusione (2), o rimossi tramite altri processi di lavorazione (3).

I tannini sono composti polifenolici idrosolubili naturalmente presenti negli alimenti, capaci di complessare e precipitare le proteine in soluzioni acquose riducendone la digeribilità. Le principali fonti alimentari sono cereali, quali il sorgo e il miglio, e diverse varietà di piselli e fagioli (2).

L'acido fitico, conosciuto anche come inositolo si trova principalmente nei semi, cereali e frutta secca oleosa, ma è presente nelle piante anche sotto forma di sale di cationi mono o divalenti (Mg, Ca, Na e K). I fitati costituiscono la principale fonte di riserva del fosforo in numerosi tessuti vegetali; ne sono state riscontrate elevate concentrazioni nel germe di grano, nella crusca del grano e nel pericarpo del riso. Alcuni processi fisico-chimici possono rimuovere o concentrare queste componenti e cambiare drasticamente il contenuto in fitati del prodotto finale (2). I fitati sono in grado di ridurre l'attività della carbosipeptidasi e dell'ammino-peptidasi chelandone i cofattori, interagendo con gli enzimi o con il loro substrato (2). La germinazione dei semi dei cereali comporta l'attivazione di alcuni enzimi che riducono i livelli di polifenoli e acido fitico nei germogli, aumentandone quindi la digeribilità proteica.

La fermentazione può rendere le proteine dei legumi e dei cereali più digeribili, aumentandone quindi la

qualità nutrizionale. I microrganismi utilizzati nella fermentazione sintetizzano enzimi che idrolizzano alcuni costituenti degli alimenti, contribuendo in questo modo allo sviluppo di un prodotto con diverse e specifiche caratteristiche organolettiche e nutrizionali. Le reazioni idrolitiche catalizzate dagli enzimi possono anche ridurre o eliminare fattori antinutrizionali, contribuendo ulteriormente a migliorare la qualità nutrizionale degli alimenti fermentati (4-6).

### ***Valutazione dello stato nutrizionale***

Uno scarso apporto proteico non comporta in tempi brevi manifestazioni cliniche evidenti; tale carenza può essere rilevata con il dosaggio di alcuni marcatori sierici (albumina e transferrina, transtiretina e proteina legante il retinolo).

Il fabbisogno proteico è attualmente definito sia in termini di quantità (grammi) di proteine, o di amminoacidi che le costituiscono o considerando entrambi i fattori, e in tutti i casi viene valutato il fabbisogno necessario per mantenere il bilancio azotato in pareggio in una persona sana. Una meta-analisi del 2003, che includeva studi sul bilancio azotato, ha evidenziato come il fabbisogno proteico non fosse influenzato dalla fonte proteica (animale vs vegetale) (7). Tuttavia, mentre le proteine della soia sono in grado di soddisfare i fabbisogni proteici con la stessa efficienza delle proteine animali, le proteine da altre fonti vegetali (principalmente legumi e cereali) non sono assorbite in modo altrettanto efficiente. Laddove la lisina tende ad essere l'aminoacido limitante – come nelle diete a base di cereali (soprattutto frumento) – è sufficiente l'introduzione di una quantità modesta di proteine vegetali da altre fonti, come quelle dei legumi o dei semi oleaginosi per ottenere quantità sufficienti di lisina e altri amminoacidi essenziali. I fabbisogni proteici vengono facilmente soddisfatti quando la dieta include un'ampia varietà di alimenti vegetali e presenta un adeguato apporto energetico (4-6).

### ***Stato nutrizionale dei vegetariani nelle diverse fasi della vita***

**Gravidanza e allattamento.** Un apporto proteico non adeguato della donna in gravidanza comporta un minor peso alla nascita (8). Dai pochi dati disponibili, il peso alla nascita dei figli di madri che seguono una dieta VEG o LOV non risulta significativamente diverso rispetto a quello dei neonati di madri onnivore (9, 10). Al contrario, il peso alla nascita dei figli di madri che seguono una dieta macrobiotica è significativamente inferiore all'atteso ed è stato associato ad un minore incremento ponderale delle madri durante la gestazione (10). Il latte delle madri vegetariane è nutrizionalmente adeguato e i bambini allattati al seno da madri vegetariane ben nutrite crescono normalmente (11, 12). Il latte materno delle donne macrobiotiche ha invece un contenuto proteico inferiore a quello delle madri onnivore (13).

I neonati delle vegetariane crescono normalmente durante i primi sei mesi (14, 15), e le loro curve di crescita si situano all'estremo inferiore dei limiti di normalità – verosimilmente a causa della maggiore propensione delle madri vegetariane ad allattare al seno più a lungo (16, 17).

Gli studi effettuati sui neonati nutriti con formule a base di soia, integrate o meno con metionina, non hanno rilevato differenze significative nella crescita rispetto ai neonati che hanno ricevuto formule a base di latte vaccino (18). Anche i valori dei marcatori plasmatici relativi al metabolismo proteico, in particolare l'albumina, sono risultati simili (18, 19). In uno studio del 2001 (20) non sono state riscontrate differenze nel peso e nella statura tra giovani adulti nutriti in età infantile con formule a base di soia oppure con latte vaccino per diversi mesi.

**Bambini in età prescolare (6 mesi-3 anni).** Dai pochi dati disponibili per questa fascia d'età, sembra che coloro che seguono una dieta LOV abbiano un tasso di crescita simile ai bambini OMN (11). La crescita dei bambini VEG non macrobiotici è nell'intervallo di normalità (15, 16, 21), anche se, tendenzialmente,

sembrano avere una statura inizialmente più bassa e ad essere più magri rispetto ai bambini OMN (15, 16). Gli studi sui bambini macrobiotici, al contrario, hanno evidenziato un tasso di crescita significativamente inferiore rispetto a quello degli altri vegetariani (22, 23).

*Bambini (4-10 anni).* I bambini LOV mostrano una crescita simile a quella dei bambini OMN (24-26). I bambini VEG non macrobiotici tendono a rientrare nei limiti standard di crescita (24, 27), mentre I bambini macrobiotici crescono più lentamente (26). L'assunzione proteica media dei bambini vegetariani è in linea con le raccomandazioni (21, 28-30), sebbene inferiore a quella dei bambini OMN (17, 21, 28, 30).

Uno studio ha trovato livelli sierici dell'albumina al di sopra dell'intervallo di normalità sia nei bambini vegetariani che in quelli OMN (21). Poiché le proteine vegetali sono meno digeribili e contengono meno amminoacidi essenziali di quelle animali, potrebbe rendersi necessario aumentare l'introduzione proteica nei bambini VEG. Messina e Mangels (31) suggeriscono di aumentare l'apporto proteico del 30-35% nei bambini di età inferiore ai 2 anni e del 20-30% in quelli di 2-6 anni.

*Adolescenti (11-18 anni).* Gli studi disponibili mostrano che la crescita dei bambini e degli adolescenti LOV è paragonabile a quella degli OMN di pari età (24, 32-34). Gli adolescenti macrobiotici mostrano invece un tasso di crescita inferiore rispetto ai livelli di riferimento (24, 29, 34-37). Per quanto riguarda l'apporto proteico, in alcuni studi è risultato inferiore nei VEG (38) e LOV (33, 39) rispetto agli onnivori, mentre in altri studi la quantità di proteine assunta era simile (29, 32, 34, 40).

Come i bambini VEG, gli adolescenti VEG necessitano di una quantità di proteine leggermente superiore rispetto ad adolescenti LOV e OMN a causa della minor digeribilità e presenza di amminoacidi essenziali delle proteine vegetali. Messina e Mangels (31) ritengono che una percentuale di calorie da proteine del 10-13% per un adolescente sedentario e del 7-10% per un adolescente attivo sia adeguata.

*Adulti.* Diversi studi hanno esaminato l'adeguatezza delle assunzioni proteiche negli adulti vegetariani (41-50). L'apporto proteico in adulti VEG e LOV è generalmente più basso di quello degli OMN, sebbene risulti adeguato al fabbisogno. In due studi su vegetariani sani i livelli di albumina nel siero sono risultati normali, indicando uno stato nutrizionale proteico nella norma (42, 45).

Kniskern e Johnston (46) hanno esaminato i consumi alimentari per 4 giorni consecutivi di un campione di convenienza di giovani donne vegetariane, riscontrando che le proteine animali contribuivano solo per il 21% all'assunzione proteica, valore al di sotto dei livelli di assunzione di riferimento (DRI) per le proteine animali (45-50%) considerati adeguati. Gli autori hanno pertanto suggerito che il DRI per queste donne sia aumentato da 0.8 a 1.0 g/kg peso corporeo/die, in modo da tener conto della ridotta biodisponibilità delle proteine vegetali rispetto a quelle animali.

*Anziani.* Sono pochi gli studi che hanno valutato lo stato nutrizionale di anziani vegetariani. L'apporto proteico era più basso nei vegetariani rispetto agli OMN (51, 52), ma superiore alle raccomandazioni. Negli uomini vegetariani, l'apporto di proteine era inferiore rispetto agli OMN sebbene sufficiente per soddisfare i fabbisogni (51).

Due studi condotti in Cina (53, 54) hanno confrontato le assunzioni proteiche di donne anziane vegetariane e OMN. Da entrambi gli studi è emerso che la percentuale di energia proveniente da proteine nelle diete seguite dalle donne vegetariane era nettamente inferiore rispetto a quella delle donne OMN e spesso al di sotto del DRI. Non sembrano invece esserci differenze significative tra vegetariani e OMN nei marcatori sierici dello stato nutrizionale proteico (51, 53, 55).

*Atleti.* Non esistono studi a lungo termine che hanno valutato le assunzioni proteiche di atleti vegetariani e OMN in relazione alle loro performance. La revisione di Fogelholm (56) ha valutato l'impatto del consumo di carne e latticini sulle performance sportive, concludendo (senza basarsi su risultati di studi specifici) che le assunzioni proteiche in una dieta LOV dovrebbero essere adeguate per un atleta, mentre una dieta VEG,

per un atleta che abbia un elevato dispendio energetico, potrebbe risultare carente nell'apporto energetico e proteico. Altri position paper e revisioni della letteratura (57-59) hanno stilato raccomandazioni per gli atleti vegetariani basandosi sui fabbisogni proteici degli atleti OMN e correggendoli per il coefficiente di digeribilità delle proteine vegetali. Il fabbisogno proteico giornaliero per atleti che praticino sport aerobici risulta 1,2-1,4 g/kg peso corporeo/die, mentre per sport di forza si suggerisce un livello di 1,6-1,7 g/kg peso corporeo/die. In ragione della minor digeribilità delle proteine vegetali, si ritiene opportuno, per gli atleti vegetariani, incrementare del 10% (rispettivamente 1.3 e 1.8 g/kg p.c./die per sport aerobici e di forza) l'apporto proteico rispetto a quello raccomandato per la popolazione OMN.

### ***Raccomandazioni***

Poiché la digeribilità delle proteine vegetali è inferiore a quella delle proteine animali, potrebbe essere opportuno per i vegetariani consumare un quantitativo di proteine leggermente superiore rispetto a quanto suggerito per la popolazione generale. Questo aumento è facilmente raggiungibile – anche nelle persone in condizioni di elevato fabbisogno (anziani, donne in gravidanza e allattamento e nei bambini in crescita) – con un consumo quotidiano e variato di alimenti appartenenti a tutti i gruppi vegetali.

## Vitamina B12

### ***Biodisponibilità***

La vitamina B12 è presente negli alimenti di origine animale in piccole quantità. Alcune alghe contengono vitamina B12, ma la biodisponibilità varia da specie a specie e può essere molto bassa (60). Alcune alghe contengono inoltre cospicue quantità di analoghi della vitamina B12 biologicamente inattivi, i quali possono interferire con l'assorbimento delle forme attive della vitamina (60). Sebbene alcuni sottotipi di vegetariani che non consumano prodotti animali (es. i crudisti e una setta italiana i cui membri si autodefiniscono "igienisti naturali") sostengono il consumo di alghe come alternativa alla integrazione con vitamina B12, le alghe non possono essere considerate una fonte affidabile di vitamina B12 per l'uomo.

Sebbene uno studio indonesiano abbia rinvenuto vitamina B12 nel tempeh (prodotto fermentato a base di soia), questa potrebbe derivare dalla contaminazione batterica durante il processo di produzione (61). Fino a quando non vi saranno evidenze consistenti a dimostrare che il tempeh è in grado di migliorare lo stato nutrizionale della vitamina B12, esso non dovrebbe essere considerato una fonte affidabile di questa vitamina.

La biodisponibilità della vitamina B12 è condizionata da diversi fattori:

1. Il fattore intrinseco, una glicoproteina prodotta dalle cellule parietali dello stomaco, è necessario per l'assorbimento della vitamina B12 presente nella dieta. La carenza di fattore intrinseco, ad esempio a causa di una patologia autoimmune a carico delle cellule che lo producono, può portare a una grave carenza di vitamina B12.
2. In condizioni fisiologiche, l'assorbimento fattore intrinseco-dipendente si satura quando con il pasto si assumono 1.5-2.5 µg di vitamina B12. Superate queste quantità, la biodisponibilità di vitamina B12 assunta con gli alimenti diminuisce notevolmente.
3. Altre condizioni che interferiscono con l'assorbimento della vitamina (es. acloridia o ipocloridria, gastrite atrofica, ileite terminale) ne riducono la biodisponibilità.
4. La biodisponibilità della vitamina B12 è ridotta dall'assunzione di metformina (62-65) e inibitori di pompa protonica (66-70) attraverso meccanismi che interferiscono con il suo assorbimento.
5. La biodisponibilità della vitamina B12 varia anche a seconda dell'alimento di origine animale (71), anche quando viene assunta in quantità inferiore al livello di saturazione del sistema di assorbimento fattore intrinseco-dipendente. Per questo motivo le assunzioni alimentari di riferimento sono calcolate sulla base della stima che individui adulti sani, con normale funzione gastrointestinale, siano in grado di assorbire il 50% della vitamina B12 presente nella dieta. Secondo la European Food Safety Authority, solo il 40% circa della vitamina B12 introdotta con la dieta viene assorbita in persone sane (72).
6. Diversamente dalla forma contenuta negli alimenti, che deve essere scissa dalle sue proteine di legame per potersi legare al fattore intrinseco, le forme cristalline di vitamina B12 contenute negli integratori supplementi e negli alimenti fortificati sono libere e possono pertanto legarsi direttamente alla proteina R salivare e successivamente al fattore intrinseco per essere assorbite (73). Solitamente, quindi, la vitamina B12 negli integratori risulta molto efficace per correggere situazioni carenziali (74-76).

La biodisponibilità della vitamina B12 in una dieta LOV dipende dalla quantità e dalla tipologia di alimenti animali consumati (latticini, uova), dal consumo di alimenti fortificati (es. cereali da colazione) e di integratori. Per i VEG l'unica fonte affidabile sono gli alimenti fortificati e gli integratori. In tutti gli individui, la biodisponibilità dipende dalla quantità della singola dose, frequenza di assunzione e formulazione dell'integratore (77).

### **Valutazione dello stato nutrizionale**

La carenza di vitamina B12 si sviluppa lentamente in quanto le riserve epatiche garantiscono dei livelli adeguati per diversi anni. Se i depositi sono limitati o i fabbisogni sono elevati (es. nei bambini allattati al seno di madri VEG che non assumono integratori), i sintomi clinici possono comparire più precocemente. Poiché l'assunzione di folati nei vegetariani è elevata, le alterazioni ematologiche tipiche della carenza di vitamina B12 potrebbero non manifestarsi; va comunque precisato che i folati non sono in grado, per contro, di supplire agli effetti della carenza di vitamina B12 sul sistema nervoso. Poiché il valore plasmatico della vitamina B12 totale include anche la sua forma metabolicamente inattiva complessata con l'aptocorrina (78), si raccomanda di utilizzare l'olotranscobalamina II e l'acido metilmalonico per valutare lo stato della vitamina B12 (79). Tuttavia, dal momento che questi marcatori non sono ancora dosabili di routine, e poiché le diete vegetariane abbondano di folati e vitamina B6, l'iperomocistinememia rappresenta un marcatore utile per la valutazione precoce della carenza di vitamina B12. Livelli plasmatici di omocisteina <12 mmol/L sono considerati normali (80).

Il monitoraggio ottimale dello stato della vitamina B12 dei vegetariani dovrebbe comprendere omocisteina, acido metilmalonico e olotranscobalamina II. La carenza di vitamina B12 si presenta solitamente in quattro fasi. Negli stadi I e II, caratterizzati da bassi livelli plasmatici di olotranscobalamina II, i depositi plasmatici e cellulari della vitamina si esauriscono. Lo stadio III è caratterizzato da aumentati livelli di omocisteina e acido metilmalonico e da bassi livelli di olotranscobalamina II. Lo stadio IV, infine, è caratterizzato dalla comparsa di sintomi clinici a carico di vari apparati, tra cui deficit neurologici e anemia con eritrociti dalla forma allargata e ovale (macroцитosi) (81). Elevati livelli di acido metilmalonico sono stati riportati in persone con valori di vitamina B12 nel siero considerati normali (>156pmol/L), ma inferiori a 360 pmol/L (488 pg/mL) (80). Per questo motivo è stato proposto di aumentare i livelli di normalità per la vitamina B12 nel siero a 360 pmol/L (81), utilizzando questo parametro qualora non fossero disponibili i livelli di olotranscobalamina II.

### **Stato nutrizionale dei vegetariani nelle diverse fasi della vita**

In letteratura vi sono solo pochi report di casi di carenza di vitamina B12 al IV stadio nei vegetariani, mentre sono state ampiamente descritte situazioni di carenza di vitamina B12 in fase preclinica. Solo gli studi più recenti hanno preso in considerazione diversi marcatori dello stato della vitamina B12 (omocisteina, olotranscobalamina II, acido metilmalonico nel siero e nelle urine). La valutazione della prevalenza è discrepante tra gli studi, a causa dei differenti valori di cut-off utilizzati per la definizione di stato carenziale e delle differenze metodologiche (alcuni studi hanno analizzato LOV e VEG separatamente; altri li hanno raggruppati come "vegetariani"). Di conseguenza, il confronto tra studi non è solitamente possibile.

*Gravidanza e allattamento.* Uno studio ha riportato livelli di vitamina B12 in un campione di donne incinte LOV significativamente più bassi di quelli del gruppo di controllo OMN; nel 25% delle donne LOV sono stati inoltre riscontrati elevati livelli di omocisteina plasmatica in concomitanza con bassi livelli di vitamina B12 in almeno un trimestre (82).

*Bambini in età prescolare (6 mesi-3 anni).* In una revisione, sono stati descritti circa un centinaio di report di casi di carenza di vitamina B12 in bambini provenienti da diversi Paesi; di questi, i due terzi erano nati da madri vegetariane e un quarto da madri affette da anemia perniziosa (83). Lo stato della vitamina B12 è stato valutato solo in due coorti di bambini macrobiotici. In una coorte olandese, i bambini macrobiotici avevano livelli significativamente inferiori di vitamina B12 rispetto ai controlli (22, 84). In una coorte norvegese, l'85.4% presentava elevati livelli di acido metilmalonico nel siero (>0.43 mmol/L) (85).

*Bambini e adolescenti (4-18 anni).* Nei soggetti macrobiotici in questa fascia di età, gli studi disponibili hanno evidenziato uno stato della vitamina B12 deficitario (86-88). La maggioranza degli studi condotti sui bambini vegetariani non macrobiotici (LOV + VEG, LOV), al contrario, ha descritto livelli entro l'intervallo di normalità (29, 30, 89-91). Un piccolo studio condotto su 6 LOV indiani emigrati ad Auckland, riporta una carenza asintomatica nel 50% di essi (92).

*Adulti e anziani.* Nel mondo sono stati condotti vari studi sullo stato nutrizionale della vitamina B12 negli adulti vegetariani; molti di essi hanno incluso anche anziani.

Una rassegna sistematica con metanalisi condotta su 17 studi ha confrontato i livelli di omocisteina e vitamina B12 in vegetariani (3.230 partecipanti LOV/LV e VEG) e OMN (93), rilevando che i VEG avevano i più alti livelli di omocisteina e più bassi di vitamina B12, mentre i livelli nei LOV erano intermedi tra quelli di VEG e OMN. I livelli plasmatici di omocisteina e di vitamina B12 erano simili a quelli degli OMN solo in due di questi studi (91, 94).

L'unico studio condotto su adulti macrobiotici (che consumavano occasionalmente alimenti animali) ha riportato che il 51% di essi aveva bassi livelli di vitamina B12 nel siero e il 30% presentava elevati livelli di acido metilmalonico nelle urine (87). Due studi hanno esaminato lo stato della vitamina B12 in VEG che praticavano una dieta prevalentemente (95) o interamente (96) crudista, riscontrando elevati livelli di acido metilmalonico nelle urine ( $\geq 4.0 \mu\text{g}/\text{mg}$  creatinina) nel 47% di essi (95) e bassi livelli sierici di vitamina B12 ( $<200 \text{ pmol}/\text{L}$ ) nel 57% (96). Uno studio svolto su crudisti ha rilevato alti livelli di omocisteina dovuti alla carenza di vitamina B12 in tutti i partecipanti, anche in coloro che consumavano prodotti animali, ma i crudisti LOV e i VEG avevano livelli più bassi di vitamina B12 nel siero e più alti di omocisteina nel plasma rispetto ai crudisti OMN (97).

Sedici studi sui VEG hanno trovato uno stato della vitamina B12 compromesso: bassi livelli di vitamina B12 nel siero (98-109), elevati livelli di acido metilmalonico nel siero (80, 103, 107, 109-112), elevati livelli di omocisteina (105-113) e bassi livelli di olotranscobalamina II (103, 109-112). Due di questi studi includevano anche VEG che assumevano integratori (99, 109). Un altro studio che includeva VEG utilizzatori di integratori di vitamina B12 non ha riscontrato differenze significative nei livelli sierici di vitamina B12 e acido metilmalonico tra VEG e OMN, nonostante 10 dei 25 VEG avessero un deficit di B12 indicato dalla presenza di macrocitosi, da livelli di vitamina B12  $<150 \text{ pmol}/\text{L}$  o di acido metilmalonico  $>376 \text{ nmol}/\text{L}$  (94). In uno studio prospettico 20 OMN, seguiti per 5 anni, hanno seguito una dieta VEG, i livelli di vitamina B12 si sono ridotti solo in quelli che non assumevano integratori (114).

In alcuni studi condotti su vegetariani (LOV, LV, LOV + VEG) è emerso che i livelli plasmatici di vitamina B12 totale erano nell'intervallo di normalità o non differivano da quelli degli OMN (80, 107, 113, 115).

In 23 studi su adulti LOV è stato riscontrato uno stato compromesso della vitamina B12 – in termini di bassi livelli di B12 nel siero (44, 53, 99, 102, 104-106, 109-112, 116-123), elevati livelli di acido metilmalonico (80, 107, 109-112), e di omocisteina (44, 99, 105, 106, 109-112, 117-119, 123) o bassi livelli di olotranscobalamina II (109-112). Uno studio ha riportato nei vegetariani livelli normali di omocisteina, sebbene superiori rispetto a quelli degli OMN (124). Un altro studio ha trovato nei vegetariani livelli di vitamina B12 nel siero che non si discostavano in modo significativo da quelli degli OMN (113). Infine, uno studio che ha esaminato i livelli sierici di vitamina B12, acido metilmalonico, omocisteina e olotranscobalamina II ha riscontrato uno stato della vitamina B12 alterato nei LOV rispetto agli OMN, ma le differenze non erano significative nel sottogruppo di LOV che assumeva integratori (109).

## **Raccomandazioni**

Lo stato della vitamina B12 in tutte le persone a rischio di carenza (anziani, individui con anemia perniciosa, patologie o esiti di resezione gastrointestinale e vegetariani) dovrebbe essere monitorato regolarmente. Tutte le persone che seguono una dieta vegetariana dovrebbero integrare la loro dieta con una fonte affidabile di vitamina B12 (alimenti fortificati o integratori). Per ottimizzarne l'assorbimento, si raccomanda di masticare la compressa prima di deglutirla o di scegliere una formulazione sublinguale. Per i bambini è più adatta la formulazione in gocce. Alla luce di quei dati (125, 126) che hanno indicato come l'assorbimento di vitamina B12 sia spesso inferiore al 50% (78), l'EFSA stima un assorbimento del 40% (72) e considera un'assunzione adeguata di 4 µg/die o più. Pertanto, per mantenere nella norma i livelli di vitamina B12 nei vegetariani, l'assunzione di B12 dovrebbe rispettare le raccomandazioni indicate nella Tabella 1. Qualora si riscontrasse una carenza di vitamina B12, si raccomanda una tempestiva integrazione con una formulazione cristallina, a dosi più elevate, prima di seguire la posologia di mantenimento.

## Calcio

### ***Biodisponibilità***

Sebbene numerosi alimenti vegetali, in particolare le verdure a foglia, i legumi e la frutta oleosa, contengano buone quantità di calcio, la biodisponibilità di questo minerale è inversamente proporzionale alla quantità di ossalati e fitati presenti (127); queste sostanze, infatti, formano complessi insolubili con il calcio, diminuendone notevolmente l'assorbimento (128). La verdura a basso contenuto di ossalati – principalmente verdure a foglia, eccetto gli spinaci, le biette e le foglie di rapa – sono buone fonti di calcio. La fibra alimentare non sembra influire sull'assorbimento di calcio, in quanto uno studio ha rilevato un maggiore assorbimento in diverse varietà di cavoli rispetto a quello del latte vaccino (129). Nella Tabella 2 viene elencata la biodisponibilità del calcio a partire da varie fonti vegetali.

Per quanto riguarda la solubilità, i sali di calcio usati per fortificare gli alimenti hanno una biodisponibilità paragonabile a quella del calcio presente nel latte vaccino (130), ad eccezione dei sali di citromalato, in cui il calcio ha un assorbimento leggermente superiore (127). Il fosfato tricalcico, utilizzato per la fortificazione del latte di soia, presenta una biodisponibilità di circa il 75% rispetto a quello contenuto nel latte vaccino (131). Il cloruro di calcio e il solfato di calcio, utilizzati per produrre il tofu, hanno una biodisponibilità paragonabile a quella del latte vaccino (132). La biodisponibilità del calcio presente nelle acque minerali è pari o superiore a quella del latte (133). L'assorbimento del calcio dall'acqua è maggiore quando il consumo di acqua è concomitante a quello di altri alimenti (134).

La dieta occidentale moderna, caratterizzata da un'elevata escrezione acida nelle urine, aumenta l'escrezione di calcio riducendone il riassorbimento renale. In particolare, un'elevata introduzione di proteine, in special modo proteine ricche in amminoacidi solforati, incrementerebbe l'escrezione urinaria di calcio (127, 135); è comunque possibile che l'assorbimento intestinale del calcio aumenti in condizioni di elevate escrezione urinaria. Non è quindi chiaro se l'aumentata escrezione del calcio causi osteoporosi, come suggerito dalla teoria dell'acidificazione, in particolare quando l'assunzione di calcio con la dieta risulta adeguata (136). Poiché il sodio e il calcio condividono lo stesso sistema di trasporto nel tubulo renale prossimale, un'elevata introduzione di sodio favorisce le perdite urinarie di calcio: ogni 2300 mg di sodio escreto i reni espellono 40-60 mg di calcio (127). Se questa aumentata perdita urinaria di calcio si traduca in un effetto negativo sulla salute dell'osso non è tuttora chiaro.

### ***Biodisponibilità della vitamina D***

La vitamina D comprende un gruppo di composti liposolubili che includono l'ergocalciferolo (vitamina D<sub>2</sub>) e il colecalciferolo (vitamina D<sub>3</sub>), il cui ruolo principale è mantenere nella normalità i livelli ematici di calcio e fosforo. La fonte principale della vitamina D in numerose popolazioni è l'esposizione alla luce solare: le radiazioni UVB (290-320 nm) che penetrano la pelle convertono il 7-diidrocolesterolo presente nel derma in provitamina D<sub>3</sub>. Questa reazione, nel periodo invernale alle latitudini elevate, non avviene in maniera efficiente in quanto le radiazioni sono di bassa intensità. La provitamina D<sub>3</sub> viene convertita spontaneamente in vitamina D<sub>3</sub> (colecalciferolo), la quale viene a sua volta convertita in calcitriolo (la forma metabolicamente attiva), nel fegato e successivamente nei reni.

Sebbene pochi alimenti contengano vitamina D (D<sub>3</sub> e D<sub>2</sub>), essa può essere introdotta con gli alimenti fortificati e gli integratori. La vitamina D<sub>3</sub>, che costituisce la principale forma alimentare, si trova soprattutto negli alimenti animali, in particolare nei pesci grassi e nell'olio di pesce. La vitamina D introdotta con la dieta viene assorbita nell'intestino, in particolare nel digiuno e nell'ileo (137). La fibra alimentare e i fitati potrebbero ridurre l'assorbimento intestinale o favorirne l'escrezione (138), tuttavia i

dati disponibili sono insufficienti per concludere che la fibra e i fitati abbiano un effetto negativo sulla biodisponibilità della vitamina D (139).

Alcuni studi hanno suggerito che la vitamina D<sub>2</sub> presente negli alimenti fortificati sia meno efficace della vitamina D<sub>3</sub> nel mantenimento dei livelli di 25-idrossivitamina D (140-142). La 25-idrossivitamina D, pur non essendo metabolicamente attiva, è il principale marcatore ematico dello stato della vitamina. Altri studi hanno invece mostrato come l'integrazione con vitamina D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> sia ugualmente efficace nell'innalzare i livelli di 25-idrossivitamina D – data dalla somma di 25-idrossivitamina D<sub>2</sub> e 25-idrossivitamina D<sub>3</sub> – e nel mantenere i livelli della forma metabolicamente attiva 1,25-diidrossivitamina D (somma di 1,25-diidrossivitamina D<sub>2</sub> e 1,25-diidrossivitamina D<sub>3</sub>) (143, 144).

### ***Valutazione dello stato nutrizionale***

Nei vegetariani lo stato del calcio è stato valutato con diversi metodi: assunzioni alimentari di calcio, livelli di calcio nel siero, calcio ionizzato nel siero, densità minerale ossea (Bone Mineral Density, BMD) e contenuto minerale osseo (Bone Mineral Content, BMC). In condizioni fisiologiche, la calcemia viene mantenuta entro un intervallo limitato (2.25–2.60 mmol/L di calcio totale o 1.1-1.4 mmol/L di calcio ionizzato), indipendentemente dalla quantità di calcio assunta con la dieta e attingendo, se necessario, alle riserve ossee. BMD e BMC sono influenzati dai cambiamenti nelle assunzioni alimentari di calcio nel lungo periodo (>1 anno) (145) e non sono utilizzati per valutare lo stato del calcio *attuale*.

Lo stato della vitamina D dipende dall'esposizione alla luce solare e dalle assunzioni alimentari nei vegetariani, è stato valutato misurando le assunzioni alimentari, la durata dell'esposizione solare, la pigmentazione cutanea, i livelli ematici di vitamina D (solitamente come 25-idrossivitamina D e raramente come 1,25-diidrossivitamina D) e di ormone paratiroideo (PTH). La 25-idrossivitamina D è la principale fonte circolante della vitamina D, con un'emivita di 2-3 settimane risultando il migliore indicatore dello stato della vitamina.

L'emivita della 1,25-diidrossivitamina D nel sangue è di circa 4 ore, con livelli ematici strettamente influenzati da PTH, calcio e fosforo ematici; non costituendo quindi un indicatore utile dello stato della vitamina. Alcuni studi trasversali hanno valutato il rapporto tra stato della vitamina B<sub>12</sub> e marcatori del turnover osseo (fosfatasi alcalina ossea, osteocalcina, peptide N-terminale del pro collagene di tipo I e telopeptidi C-terminali del collagene di tipo I) in quanto la vitamina B<sub>12</sub> potrebbe influenzare la salute dell'osso attraverso gli effetti dell'omocisteina sul riassorbimento dell'osso (146).

### ***Stato nutrizionale dei vegetariani nelle diverse fasi della vita***

***Gravidanza e allattamento.*** Uno studio condotto su donne macrobiotiche in allattamento ha riscontrato un'assunzione di calcio inferiore e livelli ematici di 1,25-diidrossivitamina D significativamente più alti rispetto ai controlli OMN, mentre i livelli ematici di PTH erano simili. Gli elevati livelli di 1,25-diidrossivitamina D nelle donne macrobiotiche suggeriscono l'esistenza di una risposta ormonale alla bassa assunzione alimentare di calcio e all'allattamento, che potrebbe aumentare l'efficienza dell'assorbimento del calcio. La 25-idrossivitamina D nel siero era più bassa nelle donne vegetariane rispetto a quelle non vegetariane. Nel confronto tra i gruppi, sono emerse differenze significative in inverno e primavera, ma non in estate e autunno, sottolineando quindi l'importanza dell'esposizione solare nel mantenimento dello stato della vitamina D (147, 148).

***Bambini in età prescolare (6 mesi-3 anni).*** L'unico studio condotto su questa fascia d'età ha seguito dalla nascita una coorte di bambini macrobiotici (36, 149). A 10-20 mesi l'assunzione di calcio e il livello di vitamina D nel sangue erano significativamente più bassi nei bambini macrobiotici rispetto ai controlli

OMN. Nel corso della stessa valutazione (agosto-novembre), era presente una condizione di rachitismo subclinico o clinico nel 17% e nel 28%, rispettivamente, dei bambini macrobiotici, mentre non era presente negli OMN. Nella valutazione di follow-up eseguita su un sottocampione di 25 bambini macrobiotici (marzo-aprile), nel 55% di essi sono stati riscontrati sintomi clinici di rachitismo (36, 149).

*Bambini e adolescenti (4-18 anni).*

*Vegetariani macrobiotici:* In un'ampia coorte di adolescenti macrobiotici esaminati in diversi momenti a partire dal 1985 (150), il consumo di calcio e i parametri BMC/BMD, ma non i livelli di 1,25-diidrossivitamina D, erano significativamente più bassi rispetto ai controlli OMN (86, 150). I bassi valori di BMC e BMD non erano in relazione all'assunzione di calcio (150). In una successiva valutazione della stessa coorte, nella maggior parte di coloro che erano passati a una dieta vegetariana o OMN, i bassi valori di BMD e BMC sono risultati associati ad una carenza di vitamina B12 (bassi livelli sierici di B12 o elevati livelli di acido metilmalonico) (86).

*Vegetariani non macrobiotici:* Dei numerosi studi disponibili (21, 28-30, 151, 152), solo uno, condotto su bambini vegetariani cinesi (29), ha riscontrato assunzioni di calcio e BMD simili a quelli dei bambini OMN. Gli altri studi hanno riscontrato assunzioni di calcio (21, 30) e di vitamina D (28, 151) e livelli ematici di vitamina D (28) inferiori nei vegetariani rispetto agli OMN; in un solo studio non sono emerse differenze significative (30).

*Adulti.* Nel mondo sono stati condotti vari studi sullo stato nutrizionale del calcio e della vitamina D negli adulti vegetariani.

*Macrobiotici e crudisti:* Uno studio che ha confrontato 17 adulti macrobiotici con VEG e LOV ha riscontrato un'assunzione di calcio significativamente inferiore nelle donne macrobiotiche rispetto alle altre (48). Uno studio che ha confrontato 18 crudisti con soggetti che seguivano diete tipicamente americane ha riscontrato nei primi BMC e BMD inferiori, ma livelli più elevati di vitamina D, mentre non vi erano differenze significative nei marcatori del turnover osseo (telo peptide-C del collagene di tipo I e fosfatasi alcalina ossea) (153).

*Vegani:* Tutti gli studi hanno riscontrato assunzioni di calcio inferiori nei VEG rispetto ai controlli (154-164). Uno studio che ha confrontato carnivori, pescivori, LOV e VEG, ha riscontrato un tasso di fratture più elevato nei VEG, apparentemente legato all'assunzione di calcio marcatamente inferiore (155). In uno studio condotto su suore buddiste VEG sono emersi consumi di calcio e livelli di vitamina D nel siero più bassi rispetto ai controlli non VEG, ma nessuna differenza in BMD, incidenza di fratture o frequenza di osteoporosi (158, 159). Un altro studio non ha riscontrato differenze nella BMD (misurata nella regione lombare e nel collo del femore) tra VEG, LOV e OMN (165).

*Vegetariani (LOV, LV, LOV + VEG):* La maggior parte degli studi non ha riscontrato differenze nelle assunzioni di calcio rispetto agli OMN (21, 48, 154, 155, 157, 160, 165-168). Vi sono però due studi in cui l'assunzione di calcio è risultata più elevata nei vegetariani (169, 170), mentre in un altro studio è risultata più bassa (156), ma non correlata con la BMD. Non sono state rilevate differenze nel rischio di frattura tra vegetariani e onnivori in uno studio con un follow-up di 5.2 anni (155). Altri studi non hanno riportato differenze nella BMD tra vegetariani e OMN (119, 165, 167, 168). Tuttavia, uno studio condotto su donne vegetariane thailandesi ha riscontrato, nelle VEG di lunga durata, un aumentato rischio di fratture alla spina lombare e di osteopenia al collo del femore rispetto alle vegetariane di lunga durata. Queste differenze sono state attribuite ad una minor assunzione proteica nelle VEG; le assunzioni di calcio non differivano (156).

Uno studio prospettico canadese della durata di un anno, condotto su donne vegetariane in premenopausa, riporta una stabilità nel tempo della BMD, sebbene essa fosse inferiore a quella delle OMN

e, al reclutamento, correlata con le assunzioni di vitamina B12 (171, 172). Uno studio condotto su 112 tedeschi (35 OMN, 23 VEG e 54 LV/LOV) e 73 immigrati indiani (54 OMN e 19 LV/LOV) ha riscontrato un aumentato turnover dell'osso (misurato tramite fosfatasi alcalina, osteocalcina, pro-peptide N-terminale del pro-collagene di tipo I e telopeptidi C-terminali del collagene di tipo I) nei vegetariani (LOV+VEG) (112). L'analisi di regressione multipla ha mostrato un'associazione significativa tra turnover dell'osso e stato della vitamina B12 indipendente dallo stato della vitamina D (112). Infine, in uno studio condotto su donne indiane e iraniane in menopausa, la dieta vegetariana costituiva un fattore di rischio per l'osteoporosi solo nelle donne indiane, ma perdeva significatività dopo aver aggiustato per i valori per peso e statura (173). Uno studio che ha analizzato 428 individui suddivisi per pattern dietetico (150 vegetariani, 66 semivegetariani, 212 non-vegetariani) ed etnia (bianchi e neri), ha rilevato come lo stato nutrizionale della vitamina D fosse dipendente prevalentemente dall'etnia e dall'uso di integratori, ma non dal tipo di dieta (174).

Da quanto emerso dagli studi pubblicati, si può quindi concludere che negli adulti vegetariani il vegetarianismo di lunga durata, le basse assunzioni proteiche (156) e uno stato compromesso della vitamina B12 (112, 119, 172) rappresentino fattori di rischio per la salute dell'osso. Le evidenze relative all'associazione tra stato della vitamina D e salute dell'osso in adulti VEG e LOV sono invece equivoche, probabilmente a causa dell'effetto esercitato da fattori come l'etnia e la stagionalità (112, 119, 154, 157, 159, 161, 163-165, 167, 170, 174). Uno studio, in particolare, ha riscontrato uno stato compromesso della vitamina D solo in individui VEG e LOV il cui sangue era stato prelevato in inverno (159, 162).

*Anziani.* Nella maggior parte degli studi, i soggetti anziani sono stati inclusi nel gruppo degli adulti. Vi sono due studi condotti esclusivamente su donne anziane (54, 175). Il primo è stato condotto su donne cinesi VEG, LV e OMN: in coloro che erano vegetariane da più di 30 anni (n=36 VEG+40 LV), l'assunzione di calcio era significativamente inferiore rispetto a quella delle OMN, così come lo era nelle VEG rispetto alle LV. La BMD a livello del collo femorale, ma non del rachide, era inferiore nelle vegetariane rispetto alle OMN (54). Il secondo era invece uno studio prospettico che ha seguito per 5 anni un gruppo di donne anziane caucasiche (49 LOV e 140 OMN), riscontrando che la diminuzione della BMD era simile in entrambi i gruppi e indipendente dalle assunzioni di calcio (175).

### **Studi d'intervento**

Alcuni autori hanno analizzato le modificazioni dello stato nutrizionale durante studi di intervento con diete a base vegetale in soggetti sani (Complete Health Improvement Project) (176) o con diete VEG a basso contenuto di grassi (circa 10% energia totale) in pazienti diabetici (177) e in pazienti con tumore della prostata (178).

Nel corso del periodo d'intervento, è stata osservata una riduzione dell'assunzione di calcio e dell'assunzione e dei livelli ematici di vitamina D (176). Uno studio a breve termine ha valutato il bilancio del calcio in donne che avevano seguito una dieta VEG per 10 giorni seguita da una dieta LV nei successivi 10 giorni. Il bilancio del calcio era rimasto positivo indipendentemente dalle assunzioni, dimostrando che la minore introduzione di calcio con una dieta VEG è compensata da una minore escrezione di calcio con le feci. Le due diete non sono risultate in grado di influenzare il bilancio del calcio, l'assorbimento apparente e il riassorbimento di calcio dall'osso (179).

### **Raccomandazioni**

I vegetariani dovrebbero essere sicuri di adottare una dieta che rispetti le assunzioni di riferimento per il calcio previste dai LARN IV revisione (2014) (78). In particolare i VEG dovrebbero porre una particolare

attenzione all'assunzione di prodotti alimentari che siano buone fonti di calcio (verdure a basso contenuto di ossalati e fitati, alimenti a base di soia, bevande vegetali fortificate, acque ricche di calcio e alcuni tipi di frutta secca e semi oleaginosi). L'eventuale integrazione con vitamina D deve essere considerata con attenzione in tutti i casi in cui si sospetti un'insufficiente sintesi endogena. Le evidenze di un'associazione tra una compromissione dello stato della vitamina D e bassi valori di BMC/BMD – e di conseguenza un aumentato rischio di frattura – sono inconsistenti; per ridurre questo rischio, i vegetariani di lunga durata devono assicurarsi un'adeguata assunzione di proteine e vitamina B12.

# Ferro

## Biodisponibilità

La biodisponibilità del ferro nelle diete LOV, VEG e OMN varia notevolmente. La fonte principale del ferro nella dieta OMN italiana sono i cereali e i loro derivati (31.3%), seguiti da carne e derivati (16.9%), verdure fresche e lavorate (13.5%), frutta (7.3%), legumi (3.2%), patate e altri tuberi (3%) (180). Nel modello OMN italiano, quindi, quasi il 60% del ferro è assunto da prodotti di origine vegetale.

Anche se le diete italiane LOV e VEG hanno spesso un contenuto di ferro simile o leggermente superiore a quello della dieta OMN, la biodisponibilità di questo metallo in una dieta LOV e VEG è più bassa rispetto a quella riscontrata in diete OMN (181, 182), con solo il 5-12% del ferro assorbito nelle diete LOV e VEG rispetto al 14-18% nelle diete OMN (183). I fattori nutrizionali che inibiscono o facilitano l'assorbimento intestinale del ferro sono importanti nel determinarne lo stato nutrizionale (184).

Le principali ragioni della scarsa biodisponibilità del ferro nelle diete VEG e LOV rispetto a quelle OMN risiedono nel fatto che la forma più facilmente assorbibile, il ferro eme, è presente solo nella carne e nel pesce, mentre gli alimenti vegetali contengono diverse sostanze che inibiscono l'assorbimento del ferro non eme (ma non del ferro eme). Il ferro non eme costituisce il 100% del ferro nelle diete LOV e VEG e l'85-90% nelle diete OMN (179). Circa il 15-35% del ferro eme viene assorbito nell'intestino (185).

Il ferro contenuto in latte, latticini, uova e alimenti vegetali è nella forma non eme ( $Fe^{2+}$  o  $Fe^{3+}$ ). Anche il 60% circa del ferro contenuto nella carne e nel pesce è nella forma non eme (186).  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  sono chelati da piccole molecole organiche o sono legati da proteine, come la lattoferrina nel latte e la ferritina in carne, pesce e legumi (187). L'assorbimento di questa forma di ferro ha una grande variabilità (0.7-34%) (188, 189), dovuta all'influenza dei fattori nutrizionali che possono alterare la solubilità e lo stato ossidativo del metallo. Il  $Fe^{+3}$  non può essere assorbito dagli enterociti, ma deve essere prima ridotto a  $Fe^{2+}$  da una reduttasi di membrana o da molecole presenti nella dieta, come per esempio l'acido ascorbico, per essere poi trasportato da un recettore intestinale dedicato ai cationi divalenti DMT1 (190). L'acido ascorbico intracellulare può fornire elettroni alla feroreduttasi di membrana, facilitando la riduzione del  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  (191).

La maggior parte del ferro presente nei fagioli di soia è legato alla ferritina e viene assorbito per il 22-34% – una biodisponibilità paragonabile a quella del ferro eme (15-35%) (187, 189, 192). La ferritina della soia è un'importante fonte di ferro biodisponibile per i vegetariani, per questo il consumo di soia viene raccomandato ai vegetariani con uno stato del ferro compromesso.

L'acido ascorbico, che chela e riduce il  $Fe^{3+}$ , è il principale fattore facilitante l'assorbimento del ferro non eme. Di conseguenza, la biodisponibilità del ferro in una dieta vegetariana può essere aumentata consumando alimenti contenenti acido ascorbico (agrumi, fragole, kiwi, ecc.) nei pasti in cui vengono consumati alimenti ricchi in ferro. Altri fattori facilitanti l'assorbimento del ferro non eme comprendono acidi organici presenti nella frutta e nella verdura (acido citrico, malico, lattico e tartarico), i caroteni e il retinolo (185, 188, 193).

L'ammollo dei legumi e dei cereali attiva le fitasi endogene che riducono il numero di fosfati legati all'inositolo esafosfato (noto anche come fitato), diminuendo progressivamente la sua capacità di sequestrare il ferro.

Poiché il ferro può avere effetti deleteri sull'organismo sia in quantità troppo elevate che in quantità troppo piccole, il bilancio del ferro è regolato in modo preciso attraverso modifiche nella quantità di ferro non eme assorbita dall'intestino (185). Dati limitati indicano che l'assorbimento del ferro non eme può aumentare a

lungo termine in risposta a una bassa biodisponibilità (194), spiegando il motivo per cui la prevalenza di carenza di ferro sia simile in LOV, VEG e OMN (181).

Si raccomanda a VEG e LOV di assumere l'80% di ferro in più rispetto agli OMN (187, 195), in quanto si stima che, rispetto ad una dieta OMN, con una biodisponibilità teorica del ferro pari al 18%, in una dieta VEG o LOV sarebbe del 10%. Arrivare a questi introiti potrebbe tuttavia essere difficile, soprattutto per donne in età fertile che assumano diete con pochi alimenti ricchi di ferro. È comunque consigliabile per i VEG e i LOV adottare le strategie descritte in precedenza per aumentare la biodisponibilità del ferro non eme o consumare alimenti fortificati in ferro (es. cereali da colazione). Gli integratori di ferro dovrebbero essere utilizzati solo in seguito a specifiche valutazioni cliniche che ne determinino la necessità.

### ***Valutazione dello stato nutrizionale***

I principali esami sul plasma o sul siero utilizzati per valutare lo stato nutrizionale del ferro sono l'emoglobina (utilizzata per individuare l'anemia), la saturazione della transferrina (per misurare il ferro circolante), il recettore solubile della transferrina (un marcatore più stabile dei livelli di ferro in caso di infiammazione) e la ferritina (indicatore dei depositi di ferro) (78). Poiché la ferritina è anche un marcatore dell'infiammazione, è consigliabile misurare congiuntamente anche la proteina C reattiva.

### ***Stato nutrizionale dei vegetariani nelle diverse fasi della vita***

*Donne in allattamento e bambini piccoli (6 mesi – 3 anni).* Il latte delle donne LOV e VEG ha una composizione simile a quello delle donne non vegetariane (11) e non è carente in minerali o vitamine quando la dieta LOV/VEG della madre è bilanciata (196). Durante lo svezzamento, lo stato del ferro dei figli di donne vegetariane deve essere monitorato, devono essere consumati alimenti ricchi in ferro insieme a cibi contenenti acido ascorbico o altri acidi deboli della frutta, in modo da aumentare l'assorbimento del ferro (196). I valori di assunzione raccomandati per la popolazione (PRI) per il ferro sono di 11 mg/die per i lattanti di 6-12 mesi e di 8 mg/die per i bambini di 1-3 anni (78). La ferritina vegetale contenuta nei fagioli di soia (e probabilmente anche negli altri legumi) non viene sequestrata dai fitati e ha un assorbimento paragonabile a quello del ferro eme (192, 197). Questi alimenti possono quindi sostituire la carne rossa nello svezzamento di bambini vegetariani e OMN. L'incidenza di anemia da carenza di ferro durante lo svezzamento non è più alta nei bambini VEG/LOV rispetto agli OMN, inoltre i livelli di ferritina nel siero e la crescita dei bambini VEG/LOV sono solitamente nell'intervallo di normalità (192).

*Bambini (4-10 anni).* Anche se i bambini LOV e VEG assumono meno ferro con la dieta rispetto ai bambini OMN, i livelli di ferro nel siero sono simili (185) e rientrano nell'intervallo di normalità (90). I bambini VEG in età prescolare e scolare hanno un'assunzione di ferro adeguata e non sono stati documentati casi di anemia (16, 198). Tuttavia, secondo l'Institute of Medicine (199) i bambini LOV e VEG richiederebbero un'assunzione di ferro 1,8 volte superiore rispetto a quella dei bambini OMN, per far fronte alle loro esigenze nutrizionali. I bambini macrobiotici, invece, presentano spesso uno stato del ferro compromesso (185).

*Adolescenti (11-18 anni).* La crescita di adolescenti LOV e VEG risulta simile a quella di adolescenti non vegetariani (11). In adolescenti slovacchi LOV, VEG e OMN di 11-14 anni sono stati riscontrati livelli sierici di ferro entro l'intervallo di normalità, anche se più bassi in LOV/VEG rispetto agli OMN (200). Tuttavia, per far fronte ai fabbisogni di ferro necessari in questo periodo di crescita rapida, gli adolescenti LOV e VEG dovrebbero prendere in considerazione la possibilità di assumere integratori di ferro (201). Uno studio svedese ha confrontato l'assunzione di ferro in adolescenti (16-20 anni) che avevano seguito una dieta VEG per almeno 6 mesi con quella di adolescenti OMN (151). Le assunzioni di ferro nei maschi VEG e OMN sono

risultate simili mentre nelle femmine VEG erano più alte di quelle OMN e del PRI. L'assunzione media di ferro in VEG e OMN, maschi e femmine, era in ogni caso nell'intervallo di normalità. Riguardo ai marcatori sierici, lo studio ha evidenziato solo nelle femmine, indipendentemente dal tipo di dieta VEG o OMN, uno stato nutrizionale del ferro più basso rispetto ai valori normali, mentre tutti i soggetti maschi presentavano valori normali: ciò sembra legato alla perdita di ferro con il sangue mestruale piuttosto che attribuibile alla dieta vegetariana (151).

*Adulti.* Negli adulti, anche dopo molti anni di dieta LOV e VEG, i livelli sierici del ferro non sono significativamente differenti da quelli degli OMN (185). Nei maschi LOV e VEG le assunzioni di ferro sono risultate superiori a quelle degli OMN e più elevate del PRI (202), tuttavia i livelli sierici di ferritina ed emoglobina sono significativamente inferiori (94, 169, 170, 203). Anche le donne LOV e VEG hanno un'assunzione di ferro simile a quello delle OMN (204) e persino dopo molti anni di dieta vegetariana il loro stato del ferro risulta adeguato (169, 204, 205). Sebbene alcuni studi abbiano riportato che solo dopo un anno di dieta VEG, circa il 40% di donne in premenopausa può incorrere nel rischio di anemia ferropriva (94, 108), Haddad et al. (94) hanno riscontrato in donne VEG e OMN in premenopausa lo stesso rischio di sviluppare anemia ferropriva. Studi condotti su giovani donne hanno inoltre mostrato come l'anemia ferropriva sia diffusa in modo simile in LOV/VEG che avevano seguito una dieta vegetariana per almeno 2 anni e OMN (203, 206). Sembra quindi che l'anemia ferropriva possa essere dovuta alla perdita di ferro mestruale piuttosto che all'assunzione di ferro con la dieta LOV e VEG. Poiché nelle donne in menopausa elevati livelli di ferritina nel sangue costituiscono un fattore di rischio cardiovascolare (207), le diete LOV e VEG potrebbero risultare protettive per questo tipo di malattie.

Vi sono evidenze secondo cui lo stato del ferro e della vitamina B12 potrebbero risultare compromessi in LOV, LV e in chi consuma carne occasionalmente; in questi casi la macrocitosi dovuta alla carenza di vitamina B12 potrebbe essere mascherata da uno stato del ferro compromesso (107).

*Anziani.* Studi che hanno valutato l'adeguatezza nutrizionale delle diete LOV e VEG negli anziani (169, 208) hanno riscontrato livelli di assunzione dei minerali, incluso il ferro, e dei marcatori ematici del ferro entro l'intervallo di normalità (168, 169, 170) e non hanno riscontrato differenze significative rispetto ai controlli OMN. Negli uomini anziani (59-78 anni) sottoposti a 12 settimane di allenamento di resistenza per il mantenimento della massa muscolare, i parametri sierici relativi allo stato del ferro sono rimasti nei limiti di normalità per tutto il periodo di allenamento, indipendentemente dal fatto che i soggetti seguissero una dieta vegetariana o contenente carne bovina (208). Questi risultati suggeriscono che una dieta vegetariana è adatta anche per gli anziani (169, 208).

*Atleti.* Le evidenze disponibili mostrano come una dieta vegetariana non abbia effetti positivi o negativi sulla fitness (209), la resistenza aerobica durante la corsa (210, 211), la funzione polmonare, la capacità aerobica e anaerobica, la circonferenza del braccio e della gamba, hand grip test, l'emoglobina e le proteine totali nel siero (212). Una dieta vegetariana variata e ben bilanciata è compatibile con una prestazione atletica di successo (209). Tuttavia, poiché per mantenere un'adeguata scorta di glicogeno nei muscoli è necessario consumare un'elevata quantità di alimenti vegetali contenenti carboidrati, l'elevata quantità di acido fitico contenuto nella dieta potrebbe ridurre la biodisponibilità del ferro e dello zinco (209, 213). Nelle atlete semi-vegetariane di sesso femminile dedite alla corsa (211) e negli atleti LOV di entrambi i sessi (214, 215) sono stati riscontrati livelli sierici di ferritina più bassi rispetto ai controlli OMN, ma ciò non ha influenzato la loro resistenza nella corsa su lunghe distanze.

## **Raccomandazioni**

Raccomandiamo a tutti i vegetariani di aumentare la loro assunzione di ferro a un valore superiore al PRI suggerito per gli OMN, seguendo una dieta vegetariana variata che includa alimenti vegetali con elevato contenuto di ferro. Per aumentare la biodisponibilità del ferro non-eme si possono utilizzare le seguenti strategie:

1. consumare alimenti ricchi in acido ascorbico insieme ad alimenti ricchi in ferro;
2. preparare gli alimenti con modalità (macinazione, ammollo e germinazione di cereali e legumi, lievitazione acida del pane) che diminuiscano il contenuto di un potente chelante del ferro, l'acido fitico, tramite l'attivazione di fitasi endogene;
3. consumare alimenti fortificati (es. cereali da colazione).

Si raccomanda l'integrazione solo se la valutazione clinica dello stato del ferro rileva valori fuori dall'intervallo di normalità.

# Zinco

## **Biodisponibilità**

Secondo i dati del US Department of Agriculture (riportati da Hunt (216)) più della metà del contenuto di zinco (56%) nelle diete OMN proviene da prodotti di origine animale. Un dato simile risulta anche nella dieta italiana OMN, dove il 54,9% dello zinco proviene da prodotti di origine animale (24,8% carne e derivati, 21% prodotti lattiero-caseari, 6,9% prodotti della pesca, 2,2% uova) e il 40,7% da alimenti vegetali (21,5% cereali e derivati, 9,8% verdure, 5,5% patate e altri tuberi, 2,8% frutta fresca e secca, 1,1% legumi). Il restante contributo è dato principalmente dalle seguenti categorie di alimenti: oli e grassi, dolci, acqua e altre bevande non alcoliche (180).

In una dieta LOV o VEG, i cereali integrali, i legumi, la frutta secca e i semi oleosi costituiscono buone fonti di zinco (217). Tuttavia, questi alimenti contengono anche un'elevata quantità di fitati, che sono potenti chelanti dello zinco e ne limitano fortemente l'assorbimento intestinale; anche la fibra e gli ossalati diminuiscono l'assorbimento dello zinco (218, 219). Prendendo in considerazione il ruolo giocato dai fitati nell'assorbimento dello zinco, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO 1996, riportato in Hunt (216)) ha classificato le diete in base alla biodisponibilità giudicandole:

- ad alta disponibilità: 50-55% di assorbimento e rapporto molare fitati/zinco minore di 5 (con poca fibra proveniente da cereali e uso prevalente di prodotti raffinati);
- a moderata disponibilità: 30-35% di assorbimento e rapporto molare fitati/zinco tra 5 e 15 (diete OMN e vegetariane non basate principalmente su cereali integrali);
- a bassa disponibilità: 15% di assorbimento e rapporto molare fitati/zinco maggiore di 15 (ricche in cereali integrali, basse quantità di proteine animali, alto contenuto di alimenti ricchi di fitati e soia come fonte principale di proteine).

Questa classificazione è in accordo con i dati in letteratura secondo cui l'assorbimento di zinco dalle diete VEG/LOV varia tra il 15 e il 26%, mentre per una dieta OMN dal 33 al 35% (218, 220). Il consumo di piccole quantità di proteine animali aumenta considerevolmente l'assorbimento dello zinco (221), forse perché il rilascio di amminoacidi durante la digestione mantiene lo zinco in soluzione, prevenendone la chelazione (219). Anche gli amminoacidi solforati, i peptidi contenenti cisteina, gli idrossiacidi (presenti nella frutta) e altri acidi organici contenuti negli alimenti fermentati aumentano l'assorbimento dello zinco (221, 222). Come per il ferro, tutte le procedure che attivano le fitasi endogene presenti nei cereali e nei legumi, come la macinazione, la germinazione, l'ammollo e la fermentazione a pasta acida, aumentano la biodisponibilità dello zinco contenuto in questi alimenti (181, 223).

Poiché le diete VEG sono ricche in fitati, è importante che i VEG assumano regolarmente alimenti ricchi in zinco come i cereali integrali, i legumi e i prodotti a base di soia, in modo da garantirsi un'assunzione adeguata (217). Si consiglia ai LOV e ai VEG con bassi livelli sierici di zinco, anche se nell'intervallo di normalità, di assumere cibi fortificati o maggiori quantità di alimenti che ne sono naturalmente ricchi (224). L'omeostasi dello zinco viene mantenuta principalmente tramite la variazione dell'assorbimento intestinale dello zinco introdotto con la dieta e la regolazione dell'escrezione e del riassorbimento dello zinco endogeno (225-227). Lo zinco viene assorbito principalmente nell'intestino tenue tramite trasportatori presenti nelle membrane cellulari apicali e basolaterali degli enterociti (228). La secrezione dello zinco nel lume intestinale (attraverso i fluidi pancreatici e biliari e attraverso l'eliminazione delle cellule intestinali senescenti dall'apice dei villi) avviene principalmente durante i pasti (229). La maggior parte dello zinco secreto viene riassorbita. In caso di diete povere di zinco, l'assorbimento viene regolato positivamente in 2-6 mesi (230) e le perdite possono ridursi fino all'80%. Il muscolo e l'osso contengono circa l'85% dello zinco

presente nel corpo umano e negli stati carenziali il metallo viene mobilizzato principalmente dalle ossa, dal fegato e, negli uomini, dai testicoli (231). Normalmente l'assorbimento di zinco con la dieta è di 7-15 mg/die; tuttavia, può variare fra 1,4 mg/die e 20 mg/die per mantenere l'equilibrio fisiologico.

### **Valutazione dello stato nutrizionale**

Lo zinco è essenziale per l'attività di oltre 200 enzimi coinvolti in molteplici aspetti del metabolismo (231-233). Proprio per questa molteplicità di funzioni biochimiche, la carenza di zinco può manifestarsi con una vasta gamma di sintomi fisiologici, il cui verificarsi dipende anche dalla gravità dello stato carenziale; per lo stesso motivo risulta difficile identificare marcatori affidabili dello stato nutrizionale dello zinco (231, 233). Nel passato le diete vegetariane sono state descritte come carenti di zinco (234, 235). Studi recenti (182, 201) hanno mostrato come diete vegetariane equilibrate forniscano un'adeguata quantità di zinco, nonostante le diete LOV e VEG abbiano un elevato rapporto fitati:zinco che potrebbe ridurre sensibilmente l'assorbimento (225).

I marcatori biologici di zinco attualmente ritenuti più idonei a livello individuale per valutarne lo stato nutrizionale sono i livelli plasmatici (232), i livelli sierici (229) e l'escrezione urinaria. Gli indicatori di popolazione raccomandati per determinare lo stato dello zinco e valutare eventuali interventi per combatterne la carenza (233, 236) sono: la prevalenza dell'assunzione di zinco al di sotto del fabbisogno medio, la percentuale della popolazione con bassa concentrazione di zinco sierico e la percentuale di bambini di età inferiore ai 5 anni con parametri di crescita che mostrano valori più bassi rispetto a quelli medi previsti (233).

### **Stato nutrizionale dei vegetariani nelle diverse fasi della vita**

*Donne in allattamento e bambini piccoli (6 mesi - 3 anni).* Se le madri LOV/VEG che allattano al seno hanno un'adeguata assunzione di zinco, lo stato dello zinco dei loro bambini non differisce da quello dei bambini allattati da madri OMN (196). Quando l'allattamento al seno non è possibile o è insufficiente (237), possono essere usate formule a base di latte vaccino per i lattanti LOV e formule a base di soia e riso per i lattanti VEG per fornire adeguate quantità di zinco (19, 238). La prematurità, il basso peso alla nascita e alcune malattie potrebbero renderne necessaria l'integrazione (239).

*Bambini (4-10 anni).* L'assunzione di zinco di bambini in età prescolare che seguivano una dieta LOV (30, 218) o VEG (240) è risultata simile a quella dei loro coetanei OMN. Uno stato dello zinco non ottimale, caratterizzato da basse concentrazioni sieriche, è stato osservato in bambini che seguivano diete povere di alimenti carnei e ricche di calcio, i quali presentavano anche insufficiente crescita lineare e perdita di sensibilità del gusto (241, 242).

*Adolescenti (11-18 anni).* Gli adolescenti hanno un elevato fabbisogno di zinco: per cui LOV e VEG potrebbero avere uno stato dello zinco critico (209, 243), come evidenziato in femmine adolescenti canadesi LOV con un'assunzione media di zinco di 7 mg/die, inferiore all'assunzione raccomandata (9 mg/die) (244). La carenza grave di zinco per i bambini e gli adolescenti può portare disturbi dello sviluppo sessuale, della crescita generale e ossea e del comportamento (245).

*Adulti.* L'assunzione media di zinco in donne adulte canadesi Avventiste del Settimo Giorno, che seguivano una dieta LOV (244) o VEG da molti anni (204) è risultata simile a quella dei controlli OMN e leggermente superiore a quella raccomandata (9 mg/die) (244); la concentrazione media di zinco sierico era nell'intervallo di normalità. In adulti olandesi che seguivano una dieta LOV da almeno un anno, l'assunzione di zinco è risultata superiore a quella dei controlli OMN (169). Questi risultati mostrano come le persone che seguono da tempo una dieta LOV o VEG abbiano un adeguato stato nutrizionale dello zinco e si

adattino meglio ad una bassa biodisponibilità dello zinco rispetto a chi segue da poco una dieta vegetariana (218). L'adattamento potrebbe verificarsi tramite un aumento dell'assorbimento (209). In uomini giapponesi LOV e semi-LOV di mezza età è stata riscontrata un'assunzione di zinco inferiore a quella raccomandata dal Japanese National Health and Nutrition Survey, anche se entro i valori di riferimento (170). Uomini e donne brasiliani di Sao Paolo, vegetariani da almeno 5 anni, hanno mostrato bassi livelli di zinco negli eritrociti (246). In un piccolo gruppo di adulti svedesi passati da una dieta OMN ad una dieta LV per 12 mesi, le assunzioni di zinco sono rimaste costanti ma i livelli plasmatici sono diminuiti dopo 3 mesi, sebbene fossero nell'intervallo di normalità (247). Non si sono verificate ulteriori diminuzioni nei livelli plasmatici nei seguenti 6-12 mesi e l'escrezione, nelle urine e nelle feci, era diminuita (247). Donne in gravidanza LOV e OMN hanno mostrato livelli di assunzione di zinco simili (248) anche se al di sotto dei livelli di assunzione raccomandati. Lo zinco plasmatico è risultato più basso nelle donne gravide, sia LOV che OMN, rispetto alle non gravide. Sembra quindi che le differenze relative allo stato dello zinco siano collegabili più allo stato di gravidanza che alla diversa tipologia di dieta seguita (248). Si è osservato tuttavia che i soggetti che seguono una dieta VEG hanno assunzioni di zinco (224) e livelli plasmatici (94) inferiori rispetto a chi segue una dieta LOV.

*Anziani.* Uno studio ha confrontato una dieta LOV con una dieta OMN in anziani residenti in case di riposo (51). L'assunzione media giornaliera di zinco è risultata simile ed entro l'intervallo di normalità in entrambi i gruppi. I livelli sierici di zinco erano però inferiori a quelli di riferimento in entrambi i gruppi, suggerendo che i valori di assunzione raccomandati per lo zinco siano sottostimati per gli anziani. Poiché i due gruppi LOV e OMN risultano comparabili riguardo lo stato nutrizionale e di salute, è lecito concludere che una dieta LOV equilibrata può rappresentare una scelta responsabile anche per la terza età (11).

*Atleti.* Nonostante le diete vegetariane abbiano una biodisponibilità inferiore di alcuni minerali, tra cui lo zinco, la maggioranza degli studi non ha rilevato differenze nello stato nutrizionale di questi minerali tra atleti e non atleti (209). È stato però suggerito (249) che un'integrazione di zinco potrebbe essere vantaggiosa per gli atleti in quanto l'escrezione urinaria di zinco aumenta con l'allenamento intenso (250). Gli atleti di alto livello hanno in genere una funzione immunitaria leggermente depressa, come conseguenza dell'allenamento intenso (249); per questo si consiglia di aumentare le assunzioni di zinco, rame, ferro, selenio, folati, vitamine B6, B12, C, ed E, in modo da contrastare la riduzione delle difese immunitarie (249). Per evitare l'integrazione, gli atleti LOV e VEG possono aumentare le loro assunzioni di zinco consumando alimenti che ne contengono quantità elevate (fagioli, cereali integrali, frutta secca, semi di zucca e di canapa) (249). Nonostante tutti questi alimenti contengano fitati, forniscono una quantità di zinco biodisponibile sufficiente.

### **Raccomandazioni**

Si raccomanda ai vegetariani di aumentare l'assunzione di zinco rispetto a quanto raccomandato per la popolazione (PRI), specialmente quando il rapporto molare fitati/zinco della dieta è elevato.

Per aumentarne l'assorbimento, si consiglia di adottare metodi di preparazione (ammollo, germinazione, fermentazione, lievitazione a pasta acida) che riducano il livello di fitati negli alimenti ricchi in zinco.

È inoltre possibile ricorrere a cibi fortificati (es. cereali da colazione), ove presenti in commercio.

Gli alimenti ricchi in zinco dovrebbero essere consumati insieme ad alimenti che contengano acidi organici, come la frutta e le verdure della famiglia delle Brassicaceae.

## Acidi grassi omega-3

### ***Biodisponibilità***

L'unico acido grasso omega-3 presente in quantità rilevanti negli alimenti di origine vegetale è l'acido  $\alpha$ -linolenico (ALA, 18:3 n-3). Le sue fonti principali sono alcuni semi (lino, canapa e chia) e i loro oli, le noci e alcune alghe (251). Le fonti vegetali di acido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) e docosaesaenoico (DHA, 22:6 n-3) sono estremamente limitate e sono presenti solo in alcune alghe (251-253).

ALA è un acido grasso essenziale, mentre EPA e DHA nell'uomo possono essere sintetizzati dall'ALA. L'elongazione dell'ALA ad EPA e DHA è però molto limitata e influenzata dalla dieta: elevate quantità di acido linoleico nella dieta (254), un apporto inadeguato di energia, proteine, piridossina, biotina, calcio, rame, magnesio e zinco (255, 256), un consumo eccessivo di acidi grassi trans (251) e di alcol diminuiscono l'attività degli enzimi di conversione (257).

I vegetariani possono assicurarsi uno stato ottimale degli acidi grassi omega-3: (a) consumando quotidianamente cibi ricchi in ALA; (b) adottando una dieta che massimizzi la conversione di ALA in EPA e DHA; (c) assumendo fonti dirette di EPA e DHA.

Gli effetti biologici dell'ALA differiscono da quelli dell'EPA e del DHA: mentre l'EPA è un importante precursore di eicosanoidi antiinfiammatori e il DHA è indispensabile per le funzionalità neurologiche e cardiovascolari e l'integrità della retina, l'ALA non influisce direttamente su queste funzioni. Gli effetti cardiovascolari dell'ALA (antitrombotico, antiaritmico, antiipertensivo e di abbassamento dell'aggregazione piastrinica) sono simili a quelli dell'EPA e del DHA, ma meno marcati. L'ALA inoltre si accumula meno nelle membrane rispetto all'EPA e al DHA in quanto costituisce un substrato migliore per la  $\beta$ -ossidazione (258).

### ***Valutazione dello stato nutrizionale***

Gli acidi grassi omega-3 sono presenti nei tessuti, soprattutto nelle membrane cellulari, in fosfolipidi e sfingolipidi. ALA è scarsamente incorporato nelle membrane, anche quando consumato in grandi quantità, probabilmente a causa della competizione con l'acido linoleico o perché di preferenza viene ossidato (259). Il DHA è l'omega-3 più abbondante nei tessuti, in particolare nel cervello e nella retina (254). Nel tessuto adiposo, EPA e DHA sono presenti (nei trigliceridi) in quantità molto limitate, suggerendo una limitata capacità di deposito di questi omega-3 a lunga catena e quindi la necessità di una continua assunzione con la dieta (254).

Il livello di EPA e DHA nei fosfolipidi del siero e del plasma è considerato un utile indice biochimico dell'assunzione dietetica a breve termine e dello stato nutrizionale (260), mentre la composizione in acidi grassi delle membrane dei globuli rossi riflette i consumi più a lungo termine in quanto gli eritrociti hanno un'emivita di circa 120 giorni (261).

### ***Stato nutrizionale dei vegetariani nelle diverse fasi della vita***

Abbiamo identificato 31 studi che hanno valutato lo stato nutrizionale degli omega-3 nei vegetariani. Gli articoli hanno preso in considerazione l'assunzione alimentare e la composizione in acidi grassi di siero, piastrine ed eritrociti. Questi parametri sono stati valutati nei diversi studi per ALA, EPA, acido docosapentaenoico (DPA, 22:5 n-3), DHA, omega-3 totali, omega-3 a lunga catena, rapporto omega-6/omega-3.

*Gravidanza e allattamento.* Bambini nati da donne vegetariane hanno meno DHA nei fosfolipidi plasmatici e a livello dell'arteria del cordone ombelicale, ma ciò non sembra associato al peso alla nascita, alla lunghezza

e alla circonferenza cranica (262). Il latte materno delle madri vegetariane è inoltre più ricco in ALA ma più povero in DHA rispetto a quello delle madri OMN (263). Le madri vegetariane hanno un'assunzione alimentare significativamente più bassa di EPA, DPA e DHA e un rapporto omega-6/omega-3 significativamente più alto rispetto alle OMN; nei globuli rossi è significativamente superiore la concentrazione di DPA (264).

*Bambini (4-10 anni).* In uno studio su un gruppo di 20 bambini, di età compresa tra 5.8 e 12.8 anni, VEG dalla nascita, è stato trovato un rapporto omega-6/omega-3 molto elevato (44:1) e un'assunzione di ALA pari allo 0.2% dell'energia totale della dieta (265).

*Adolescenti (11-18 anni).* In uno studio che ha confrontato il profilo plasmatico degli acidi grassi in bambini vegetariani (VEG, LOV e pescivori) e OMN di 11-15 anni, tutti i vegetariani presentavano livelli di ALA superiori rispetto agli OMN. I VEG presentavano i livelli più alti di ALA e del rapporto omega-6/omega-3 e i più bassi di EPA, DHA e omega-3 totali. I pescivori erano quelli con i più alti livelli di EPA e DHA e i più bassi del rapporto omega-6/omega-3 (266).

*Adulti e anziani.* Sono stati condotti numerosi studi sullo stato degli acidi grassi omega-3 negli adulti vegetariani. Ove possibile, gli studi sono stati distinti in base al tipo di dieta vegetariana.

Vegetariani. Vengono qui riportati i risultati degli studi che hanno raggruppato VEG e LOV (262, 267-281); per quegli studi che hanno analizzato separatamente LOV e VEG (282-287), si riportano di seguito solo i dati relativi ai LOV.

I risultati degli studi relativi alle assunzioni e ai livelli ematici di ALA sono tra loro contrastanti: alcuni studi (267, 273, 278, 283, 284, 286, 287) hanno trovato livelli più alti nei vegetariani rispetto agli OMN; altri (269, 271, 275, 276, 285) hanno riscontrato livelli inferiori; altri ancora non hanno rivelato differenze (262, 279).

In tutti gli studi (262, 267, 269, 271, 273, 275, 276, 279, 283-287) eccetto uno (278), le assunzioni e lo stato di EPA e DHA erano inferiori nei vegetariani. Anche l'assunzione di DPA è risultata inferiore nei vegetariani (283, 285), mentre i risultati relativi ai livelli ematici sono inferiori nei vegetariani (272, 275, 284, 286), superiori nei vegetariani (271, 283, 287), non diversi rispetto agli OMN (279).

I vegetariani hanno mostrato una più bassa assunzione di omega-3 totali rispetto a chi mangia carne in quantità elevata, ma non a chi ne mangia in quantità moderata (285); i livelli ematici di omega-3 totali sono sempre risultati inferiori nei vegetariani rispetto ai controlli OMN (271, 272, 275, 276, 279, 283, 284). L'assunzione (285) e lo stato degli omega-3 a lunga catena (283) erano inferiori nei vegetariani rispetto agli OMN. Il rapporto omega-6/omega-3 introdotti con la dieta è risultato più elevato nei vegetariani in due studi (283, 285) ma più basso in altri studi (267, 283, 285). Il rapporto omega-6/omega-3 nel sangue si è sempre mostrato più alto nei vegetariani rispetto agli OMN (269, 271, 272, 276, 283, 284).

Uno studio ha rilevato assunzioni alimentari e livelli ematici di EPA, DHA, DPA, omega-3 totali, omega-3 a lunga catena e rapporto omega-3/omega-6 inferiori nei vegetariani rispetto agli OMN che consumavano abitualmente il pesce, ma superiori rispetto agli OMN che non lo consumavano (287).

Vegani. I risultati relativi all'assunzione e allo stato dell'ALA variano. Alcuni studi hanno riportato livelli superiori nei VEG rispetto ad altri gruppi (283, 284, 287-289), altri (285, 287) hanno riportato livelli inferiori, altri ancora non hanno rilevato differenze (33, 283, 286, 288).

La maggior parte degli studi ha riscontrato assunzioni e livelli ematici di EPA, DHA e DPA inferiori nei VEG rispetto agli altri gruppi (283-288). Uno studio (289), tuttavia, ha rilevato livelli ematici di EPA e DPA superiori e di DHA inferiori nei VEG rispetto agli OMN.

La maggioranza degli studi ha riscontrato assunzioni e stato degli omega-3 totali e a lunga catena inferiori nei VEG rispetto agli altri gruppi (284, 286, 287). Vi è però uno studio (283) in cui l'assunzione di omega-3

totali nei VEG è risultata superiore e un altro (287) in cui le donne VEG mostravano livelli ematici di omega-3 totali e del rapporto omega-6/omega-3 più elevati (283, 284).

### ***Raccomandazioni***

I vegetariani possono migliorare il loro stato di nutrizione riguardo gli acidi grassi omega-3: a) assumendo regolarmente buone fonti di ALA (es. noci, semi di lino e di chia, oli da essi derivati); b) riducendo le fonti di acido linoleico (ad es. oli vegetali quali olio di mais, olio di girasole). Si consiglia inoltre un'adeguata assunzione di nutrienti importanti per favorire la conversione di ALA in EPA e DHA (proteine, piridossina, biotina, calcio, rame, magnesio e zinco) e di limitare l'assunzione di sostanze interferenti con questo processo (acidi grassi omega-6, acidi grassi trans e alcol). L'utilizzo di alghe, come tali o come ingredienti in altre preparazioni, può contribuire a fornire alla dieta minime quantità di acidi grassi omega-3 a lunga catena. Per le persone con accresciuto fabbisogno (donne in gravidanza e in allattamento, bambini fino ai 2 anni di vita) e in chi presenta una ridotta capacità di conversione (anziani e persone affette da diabete e/o malattie croniche) è preferibile ricorrere a un integratore da fonte microalgale a contenuto titolato.

## Alimenti alternativi per i vegetariani

Gli alimenti alternativi sono proposti come sostituti dei prodotti di origine animale, principalmente della carne e dei latticini, e sono prodotti dall'industria alimentare con ingredienti e tecnologie atti a mimare una struttura il meno differente possibile dall'alimento che intendono sostituire, eventualmente addizionati di coloranti, che richiamino il colore originale, e aromatizzati con salsa di soia, sale, spezie e alghe. Questi prodotti sono raggruppabili in due principali tipologie:

### 1. Alimenti a base di proteine del frumento e/o di legumi (principalmente soia, anche fermentata).

(a) Il principale prodotto proteico della farina di frumento è il glutine, che rappresenta un prodotto di scarto nella produzione dell'amido a partire dalla farina. La farina di frumento (e di altri cereali contenenti glutine) viene miscelata con acqua e trattata meccanicamente in modo da ottenere cambiamenti strutturali: le glutenine e le gliadine presenti nella farina si legano tra loro grazie alla formazione di ponti disolfuro tra le cisteine in esse contenute. Si forma così un reticolo che incorpora anche altre proteine. Questo network proteico, chiamato glutine (290), è un elemento chiave degli analoghi della carne grazie al suo valore nutrizionale (è ricco in glutammina ma povero di lisina e treonina), ma soprattutto per le sue proprietà coesive visco-elastiche che mimano la struttura fibrosa della carne (291). Il glutine viene utilizzato, ad esempio, nei burger vegetali e nel seitan.

(b) Gli isolati proteici della soia sono ottenuti tramite estrusione a caldo attraverso una vite, hanno una struttura fibrosa (292) che ricorda quella della carne (293).

(c) Le proteine possono coagulare per azione combinata di sali minerali generalmente bivalenti (Mg, Ca ecc.) e calore. In questo modo si ottengono prodotti analoghi dei latticini che ne mimano la struttura del coagulo. Le proteine vengono stabilizzate con addensanti quali gomma di guar, xantano, carruba, carragenina e fibre vegetali, utili anche per la loro capacità di trattenere acqua. Spesso nei prodotti finali vengono incorporati anche dei grassi.

### 2. Emulsioni olio-in-acqua a basso contenuto proteico, ottenuti miscelando acqua e grassi.

I grassi sono principalmente derivati da cocco, girasole o colza. Le emulsioni si ottengono tramite processi che includono l'estrusione e l'agitazione vigorosa, ma sono instabili anche in presenza di emulsionanti naturali o aggiunti. Per aumentare la durata della stabilità dell'emulsione, la fase acquosa è resa più viscosa per aggiunta di amidi, di solito di riso o frumento, e/o altri addensanti, quali gomma di guar, xantano, farina di carruba, agar-agar ecc. La maggiore viscosità rende inoltre i prodotti più consistenti alla masticazione, permettendo di ottenere prodotti analoghi ai formaggi (294). L'ulteriore lavorazione e l'aggiunta di pomodoro con funzione di pigmento permette di ottenere analoghi degli affettati. Per i consumatori LOV vi sono inoltre prodotti con aggiunta di albume d'uovo, le cui proteine conferiscono struttura e trattengono grandi quantità di acqua. L'albume inoltre, quando coagulato, permette anche di richiamare l'immagine e il colore delle particelle di grasso animale.

Questi alimenti sono interessanti per l'industria alimentare per il loro costo relativamente basso, in parte dovuto ad una lunga shelf life e alla facilità di stoccaggio, nonché per il fatto che non risentono delle fluttuazioni legate alla stagionalità dei prodotti. Si tratta tuttavia di prodotti con un costo elevato rispetto agli alimenti tradizionali. La maggior parte di essi, inoltre, ha una consistenza gommosa, scarso sapore e un retrogusto derivante dagli alimenti vegetali da cui originano (293). La qualità nutrizionale di questi alimenti deve essere ancora studiata in modo approfondito.

## Conclusioni

Sempre più italiani stanno adottando una dieta vegetariana, per le ragioni più svariate. I dati analizzati in questo position paper mostrano come le maggior parte delle diete vegetariane fornisca un adeguato apporto nutrizionale per tutte le fasce d'età. È comunque importante monitorare lo stato di nutrienti chiave (proteine, vitamina B12, calcio, ferro, zinco e acidi grassi omega-3), che potrebbero non essere sempre presenti in quantità ottimale in alcuni tipi di dieta vegetariana. Per gli italiani è possibile seguire una dieta vegetariana salutare e nutrizionalmente adeguata scegliendo tra la vasta gamma di alimenti di origine vegetale caratteristici della nostra tradizione (cereali, legumi, verdura, frutta, semi, frutta secca, olio d'oliva). Il consumo di alimenti caratteristici di altre culture (es. prodotti della soia) o lavorati (es. seitan, soia estrusa) è questione di scelta personale e non è necessario se si vuole seguire una dieta vegetariana adeguata e bilanciata.

Tabella 1. Assunzioni raccomandate di integratori alimentari di vitamina B12 nei vegetariani					
Età	LARN* (PRI) <sup>§</sup> (µg/die)	EFSA** (AI) <sup>§§</sup> (µg/die)	Più assunzioni giornaliere	Monoassunzione giornaliera (µg/die)	Più assunzioni settimanali
6 - 12 mesi	0.7	1.5	1 µg x2	5	-
1 - 3 anni	0.9	1.5	1 µg x2	5	-
4 - 6 anni	1.1	1.5	2 µg x2	25	-
7 - 10 anni	1.6	2.5	2 µg x2	25	-
11 - 14 anni	2.2	3.5	2 µg x3	50	1000 µg x2
15 - 64 anni	2.4	4.0	2 µg x3	50	1000 µg x2
65+ anni	2.4	4.0	2 µg x3	50	1000 µg x2
Gravidanza	2.6	4.5	2 µg x3	50	1000 µg x2
Allattamento	2.8	5.0	2 µg x3	50	1000 µg x2

\* Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia per la popolazione italiana \*\* European Food Safety Authority <sup>§</sup>Population Reference Intake <sup>§§</sup>Adequate intake

**Tabella 2. Fonti alimentari di calcio e percentuale di assorbimento**

	<b>Contenuto di calcio (mg/100 g)</b>	<b>Porzione (g)</b>	<b>Calcio per porzione (mg)</b>	<b>Assorbimento frazionale di calcio (%)</b>	<b>Assorbimento frazionale di calcio per porzione (mg)</b>
<b>Verdure e patate</b>					
cavolfiore	44 <sup>a</sup>	200 <sup>c</sup>	88	68.6 <sup>3</sup>	60.4
crescione	170 <sup>a</sup>	80 <sup>c</sup>	136	67.0 <sup>3</sup>	91.1
cavolo verza	60 <sup>a</sup>	200 <sup>c</sup>	120	64.9 <sup>3</sup>	77.9
cavoli di Bruxelles	51 <sup>a</sup>	200 <sup>c</sup>	102	63.8 <sup>3</sup>	65.1
broccoli	72 <sup>a</sup>	200 <sup>c</sup>	144	61.3 <sup>1</sup>	88.3
cavoli cinesi (bok choy)	105 <sup>b</sup>	200 <sup>c</sup>	210	53.8 <sup>1</sup>	113.0
rape	40 <sup>a</sup>	200 <sup>c</sup>	80	51.6 <sup>3</sup>	41.3
cavolo nero	150 <sup>b</sup>	200 <sup>c</sup>	300	49.3 <sup>1</sup>	147.9
patate dolci	24 <sup>a</sup>	200 <sup>c</sup>	48.0	22.2 <sup>1</sup>	10.6
rabarbaro	86 <sup>b</sup>	200 <sup>c</sup>	172	8.5 <sup>1</sup>	14.6
spinaci	78 <sup>a</sup>	200 <sup>c</sup>	156	5.1 <sup>1</sup>	8.0
<b>Latte e derivati</b>					
latte	120 <sup>a</sup>	125 <sup>c</sup>	150	32.1 <sup>1</sup>	48.2
formaggio tipo cheddar	810 <sup>a</sup>	50 <sup>c</sup>	405	32.1 <sup>1</sup>	130.0
yogurt	125 <sup>a</sup>	125 <sup>c</sup>	156.2	32.1 <sup>1</sup>	50.2
<b>Legumi e prodotti a base di legumi</b>					
tofu con calcio	105 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup>	105	31.0 <sup>1</sup>	32.6
fagioli, freschi	44 <sup>a</sup>	150 <sup>c</sup>	66	21.8-26.7 <sup>1</sup>	14.4-17.6
latte di soia con fosfato tricalcico	82 <sup>b</sup>	125 <sup>c</sup>	102.5	23.7 <sup>2</sup>	24.3
<b>Acqua</b>					
acqua con solfato di calcio (467 mg/L)	46.7 <sup>4</sup>	200	93.4	23.6-36.1 <sup>4</sup>	22.0-33.7
acqua con bicarbonato di calcio (322-440 mg/L)	32.2-44 <sup>4</sup>	200	64.4-88	37-47.5 <sup>4</sup>	23.8-41.8
<b>Semi e frutta oleosa</b>					
semi di sesamo non decorticati	975 <sup>b</sup>	30	292	20.8 <sup>3</sup>	60.8
mandorle tostate	236 <sup>a</sup>	30 <sup>c</sup>	70.8	21.2 <sup>3</sup>	15.0

<sup>1</sup>Weaver CM, Proulx WR, Heaney R. Choices for achieving adequate dietary calcium with a vegetarian diet. Am J Clin Nutr. 1999;70(3 Suppl):543S-8S.

<sup>2</sup>Heaney RP, Dowell MS, Rafferty K, Bierman J. Bioavailability of the calcium in fortified soy imitation milk, with some observations on method. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(5):1166-9.

<sup>3</sup>Weaver CM, Plawecki KL. Dietary calcium: adequacy of a vegetarian diet. *Am J Clin Nutr.* 1994;59(5 Suppl): 1238S-41S.

<sup>4</sup>Heaney RP. Absorbability and utility of calcium in mineral waters. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(2):371-4.

<sup>a</sup>IEO data bank, <http://www.iew.it/bda2008/homepage.aspx> (consultata il 15.03.14)

<sup>b</sup>USDA data base, <http://ndb.nal.usda.gov/> (consultata il 15.03.14)

<sup>c</sup>IV Revisione SINU 2014

## Referenze

1. WHO/FAO. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. WHO. 935. 2013. Geneva .
2. Gilani GS, Wu XC, Cockell KA Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality. *Br J Nutr* 2012; 108 Suppl 2: S315-S332
3. Friedman M Brandon DL Nutritional and health benefits of soy proteins. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 1069-86
4. Inoue G, Fujita Y, Niiyama Y Studies on protein requirements of young men fed egg protein and rice protein with excess and maintenance energy intakes. *J Nutr* 1973; 103: 1673-87
5. Istfan N, Murray E, Janghorbani M, Young VR An evaluation of the nutritional value of a soy protein concentrate in young adult men using the short-term N-balance method. *J Nutr* 1983; 113: 2516-23
6. Young VR, Puig M, Queiroz E, Scrimshaw NS, Rand WM Evaluation of the protein quality of an isolated soy protein in young men: relative nitrogen requirements and effect of methionine supplementation. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 16-24
7. Rand WM, Pellett PL, Young VR Meta-analysis of nitrogen balance studies for estimating protein requirements in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 109-27
8. King JC Physiology of pregnancy and nutrient metabolism. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1218S-25S
9. Ward RJ, Abraham R, McFadyen IR, Haines AD, North WR, Patel M et al. Assessment of trace metal intake and status in a Gujerati pregnant Asian population and their influence on the outcome of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95: 676-82
10. Thomas J Ellis FR The health of vegans during pregnancy. *Proc Nutr Soc* 1977; 36: 46A
11. Craig WJ Mangels AR Position of the American Dietetic Association: vegetarian diets. *J Am Diet Assoc* 2009; 109: 1266-82
12. Finley DA, Lonnerdal B, Dewey KG, Grivetti LE Breast milk composition: fat content and fatty acid composition in vegetarians and non-vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1985; 41: 787-800

13. Dagnelie PC, van Staveren WA, Roos AH, Tuinstra LG, Burema J Nutrients and contaminants in human milk from mothers on macrobiotic and omnivorous diets. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46: 355-66
14. Dwyer JT, Palombo R, Valadian I, Reed RB Preschoolers on alternate life-style diets. Associations between size and dietary indexes with diets limited in types of animal foods. *J Am Diet Assoc* 1978; 72: 264-70
15. O'Connor H, Munas Z, Griffin H, Rooney K, Cheng HL, Steinbeck K Nutritional adequacy of energy restricted diets for young obese women. *Asia Pac J Clin Nutr* 2011; 20: 206-11
16. Sanders TA Growth and development of British vegan children. *Am J Clin Nutr* 1988; 48: 822-5
17. van Staveren WA, Dhuyvetter JH, Bons A, Zeelen M, Hautvast JG Food consumption and height/weight status of Dutch preschool children on alternative diets. *J Am Diet Assoc* 1985; 85: 1579-84
18. Fomon SJ, Thomas LN, Filer LJ, Jr., Anderson TA, Bergmann KE Requirements for protein and essential amino acids in early infancy. Studies with a soy-isolate formula. *Acta Paediatr Scand* 1973; 62: 33-45
19. Lasekan JB, Ostrom KM, Jacobs JR, Blatter MM, Ndife LI, Gooch WM, III et al. Growth of newborn, term infants fed soy formulas for 1 year. *Clin Pediatr (Phila)* 1999; 38: 563-71
20. Strom BL, Schinnar R, Ziegler EE, Barnhart KT, Sammel MD, Macones GA et al. Exposure to soy-based formula in infancy and endocrinological and reproductive outcomes in young adulthood. *JAMA* 2001; 286: 807-14
21. Yen CE, Yen CH, Huang MC, Cheng CH, Huang YC Dietary intake and nutritional status of vegetarian and omnivorous preschool children and their parents in Taiwan. *Nutr Res* 2008; 28: 430-6
22. Dagnelie PC van Staveren WA Macrobiotic nutrition and child health: results of a population-based, mixed-longitudinal cohort study in The Netherlands. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1187S-96S
23. Dwyer JT, Andrew EM, Berkey C, Valadian I, Reed RB Growth in "new" vegetarian preschool children using the Jenss-Bayley curve fitting technique. *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 815-27
24. Hebbelinc M, Clarys P, De MA Growth, development, and physical fitness of Flemish vegetarian children, adolescents, and young adults. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 579S-85S
25. Sabate J, Lindsted KD, Harris RD, Johnston PK Anthropometric parameters of schoolchildren with different life-styles. *Am J Dis Child* 1990; 144: 1159-63
26. Van DM, Arts IC, Bergsma JS, De JN, Dagnelie PC, van Staveren WA Catch-up growth in children fed a macrobiotic diet in early childhood. *J Nutr* 1996; 126: 2977-83
27. O'Connell JM, Dibley MJ, Sierra J, Wallace B, Marks JS, Yip R Growth of vegetarian children: The Farm Study. *Pediatrics* 1989; 84: 475-81
28. Ambroszkiewicz J, Klemarczyk W, Gajewska J, Chelchowska M, Laskowska-Klita T Serum concentration of biochemical bone turnover markers in vegetarian children. *Adv Med Sci* 2007; 52: 279-82

29. Leung SS, Lee RH, Sung RY, Luo HY, Kam CW, Yuen MP et al. Growth and nutrition of Chinese vegetarian children in Hong Kong. *J Paediatr Child Health* 2001; 37: 247-53
30. Thane CW Bates CJ Dietary intakes and nutrient status of vegetarian preschool children from a British national survey. *J Hum Nutr Diet* 2000; 13: 149-62
31. Messina V Mangels AR Considerations in planning vegan diets: children. *J Am Diet Assoc* 2001; 101: 661-9
32. Cooper R, Allen A, Goldberg R, Trevisan M, Van HL, Liu K et al. Seventh-Day Adventist adolescents--life-style patterns and cardiovascular risk factors. *West J Med* 1984; 140: 471-7
33. Persky VW, Chatterton RT, Van Horn LV, Grant MD, Langenberg P, Marvin J Hormone levels in vegetarian and nonvegetarian teenage girls: potential implications for breast cancer risk. *Cancer Res* 1992; 52: 578-83
34. Nathan I, Hackett AF, Kirby S A longitudinal study of the growth of matched pairs of vegetarian and omnivorous children, aged 7-11 years, in the north-west of England. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 20-5
35. Sabate J, Lindsted KD, Harris RD, Sanchez A Attained height of lacto-ovo vegetarian children and adolescents. *Eur J Clin Nutr* 1991; 45: 51-8
36. Dagnelie PC, van Dusseldorp M, van Staveren WA, Hautvast JG Effects of macrobiotic diets on linear growth in infants and children until 10 years of age. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48 Suppl 1: S103-S111
37. Sanders TA Vegetarian diets and children. *Pediatr Clin North Am* 1995; 42: 955-65
38. Larsson CL, Westerterp KR, Johansson GK Validity of reported energy expenditure and energy and protein intakes in Swedish adolescent vegans and omnivores. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 268-74
39. Houghton LA, Green TJ, Donovan UM, Gibson RS, Stephen AM, O'Connor DL Association between dietary fiber intake and the folate status of a group of female adolescents. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 1414-21
40. Perry CL, McGuire MT, Neumark-Sztainer D, Story M Adolescent vegetarians: how well do their dietary patterns meet the healthy people 2010 objectives? *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156: 431-7
41. Andrich DE, Filion ME, Woods M, Dwyer JT, Gorbach SL, Goldin BR et al. Relationship between essential amino acids and muscle mass, independent of habitual diets, in pre- and post-menopausal US women. *Int J Food Sci Nutr* 2011; 62: 719-24
42. Caso G, Scalfi L, Marra M, Covino A, Muscaritoli M, McNurlan MA et al. Albumin synthesis is diminished in men consuming a predominantly vegetarian diet. *J Nutr* 2000; 130: 528-33
43. Delanghe J, De Slypere JP, De Buyzere M, Robbrecht J, Wieme R, Vermeulen A Normal reference values for creatine, creatinine, and carnitine are lower in vegetarians. *Clin Chem* 1989; 35: 1802-3
44. Huang YC, Chang SJ, Chiu YT, Chang HH, Cheng CH The status of plasma homocysteine and related B-vitamins in healthy young vegetarians and nonvegetarians. *Eur J Nutr* 2003; 42: 84-90

45. Ingenbleek Y McCully KS Vegetarianism produces subclinical malnutrition, hyperhomocysteinemia and atherogenesis. *Nutrition* 2012; 28: 148-53
46. Kniskern MA Johnston CS Protein dietary reference intakes may be inadequate for vegetarians if low amounts of animal protein are consumed. *Nutrition* 2011; 27: 727-30
47. Laidlaw SA, Shultz TD, Cecchino JT, Kopple JD Plasma and urine taurine levels in vegans. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 660-3
48. Leblanc JC, Yoon H, Kombadjian A, Verger P Nutritional intakes of vegetarian populations in France. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54: 443-9
49. Sebekova K, Krajcovicova-Kudlackova M, Blazicek P, Parrak V, Schinzel R, Heidland A Functional hyperhomocysteinemia in healthy vegetarians: no association with advanced glycation end products, markers of protein oxidation, or lipid peroxidation after correction with vitamin B(12). *Clin Chem* 2003; 49: 983-6
50. Turner-McGrievy GM, Barnard ND, Scialli AR, Lanou AJ Effects of a low-fat vegan diet and a Step II diet on macro- and micronutrient intakes in overweight postmenopausal women. *Nutrition* 2004; 20: 738-46
51. Deriemaeker P, Aerenhouts D, De Ridder D, Hebbelinc M, Clarys P Health aspects, nutrition and physical characteristics in matched samples of institutionalized vegetarian and non-vegetarian elderly (> 65yrs). *Nutr Metab (Lond)* 2011; 8: 37
52. Tylavsky FA Anderson JJ Dietary factors in bone health of elderly lactoovovegetarian and omnivorous women. *Am J Clin Nutr* 1988; 48: 842-9
53. Woo J, Kwok T, Ho SC, Sham A, Lau E Nutritional status of elderly Chinese vegetarians. *Age Ageing* 1998; 27: 455-61
54. Lau EM, Kwok T, Woo J, Ho SC Bone mineral density in Chinese elderly female vegetarians, vegans, lacto-vegetarians and omnivores. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 60-4
55. Brants HA, Lowik MR, Westenbrink S, Hulshof KF, Kistemaker C Adequacy of a vegetarian diet at old age (Dutch Nutrition Surveillance System). *J Am Coll Nutr* 1990; 9: 292-302
56. Fogelholm M Dairy products, meat and sports performance. *Sports Med* 2003; 33: 615-31
57. Rodriguez NR, DiMarco NM, Langley S Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. *J Am Diet Assoc* 2009; 109: 509-27
58. ADA Position of Dietitians of Canada, the American Dietetic Association, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *Can J Diet Pract Res* 2000; 61: 176-92
59. Venderley AM Campbell WW Vegetarian diets : nutritional considerations for athletes. *Sports Med* 2006; 36: 293-305
60. Watanabe F, Yabuta Y, Tanioka Y, Bito T Biologically active vitamin B12 compounds in foods for preventing deficiency among vegetarians and elderly subjects. *J Agric Food Chem* 2013; 61: 6769-75
61. Areekul S, Pattanamatum S, Cheeramakara C, Churdchue K, Nitayapabskoon S, Chongsanguan M The source and content of vitamin B12 in the tempehs. *J Med Assoc Thai* 1990; 73: 152-6

62. Andres E, Goichot B, Schlienger JL Food cobalamin malabsorption: a usual cause of vitamin B12 deficiency. *Arch Intern Med* 2000; 160: 2061-2
63. de JJ, Kooy A, Lehert P, Wulffele MG, van der KJ, Bets D et al. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *BMJ* 2010; 340: c2181
64. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000; 23: 1227-31
65. Liu KW, Dai LK, Jean W Metformin-related vitamin B12 deficiency. *Age Ageing* 2006; 35: 200-1
66. Bradford GS Taylor CT Omeprazole and vitamin B12 deficiency. *Ann Pharmacother* 1999; 33: 641-3
67. Howden CW Vitamin B12 levels during prolonged treatment with proton pump inhibitors. *J Clin Gastroenterol* 2000; 30: 29-33
68. Valuck RJ Ruscin JM A case-control study on adverse effects: H2 blocker or proton pump inhibitor use and risk of vitamin B12 deficiency in older adults. *J Clin Epidemiol* 2004; 57: 422-8
69. Termanini B, Gibril F, Sutliff VE, Yu F, Venzon DJ, Jensen RT Effect of long-term gastric acid suppressive therapy on serum vitamin B12 levels in patients with Zollinger-Ellison syndrome. *Am J Med* 1998; 104: 422-30
70. Force RW Nahata MC Effect of histamine H2-receptor antagonists on vitamin B12 absorption. *Ann Pharmacother* 1992; 26: 1283-6
71. Watanabe F Vitamin B12 sources and bioavailability. *Exp Biol Med (Maywood )* 2007; 232: 1266-74
72. EFSA Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Cobalamin (Vitamin B12). *EFSA Journal* 2015; **13**: **4150**
73. Carmel R Malabsorption of food cobalamin. *Baillieres Clin Haematol* 1995; 8: 639-55
74. Allen LH How common is vitamin B-12 deficiency? *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 693S-6S
75. Campbell AK, Miller JW, Green R, Haan MN, Allen LH Plasma vitamin B-12 concentrations in an elderly latino population are predicted by serum gastrin concentrations and crystalline vitamin B-12 intake. *J Nutr* 2003; 133: 2770-6
76. Blacher J, Czernichow S, Raphael M, Roussel C, Chadeaux-Vekemans B, Morineau G et al. Very low oral doses of vitamin B-12 increase serum concentrations in elderly subjects with food-bound vitamin B-12 malabsorption. *J Nutr* 2007; 137: 373-8
77. Rizzo G, Lagana AS, Rapisarda AM, La Ferrera GM, Buscema M, Rossetti P et al. Vitamin B12 among Vegetarians: Status, Assessment and Supplementation. *Nutrients* 2016; 8:
78. SINU Intake levels of Reference of Nutrients and Energy- IV Revision. Italian Society Of Human Nutrition, 2014.
79. Mangels R, Messina V, Messina M The Dietitian's Guide to Vegetarian Diets. In: Jones and Bartlett Learning editor. Ontario, Canada: 2011. pp. 181.

80. Herrmann W, Schorr H, Purschwitz K, Rassoul F, Richter V Total homocysteine, vitamin B(12), and total antioxidant status in vegetarians. *Clin Chem* 2001; 47: 1094-101
81. Herrmann W Geisel J Vegetarian lifestyle and monitoring of vitamin B-12 status. *Clin Chim Acta* 2002; 326: 47-59
82. Koebnick C, Hoffmann I, Dagnelie PC, Heins UA, Wickramasinghe SN, Ratnayaka ID et al. Long-term ovo-lacto vegetarian diet impairs vitamin B-12 status in pregnant women. *J Nutr* 2004; 134: 3319-26
83. Mathey C, Di Marco JN, Poujol A, Cournelle MA, Brevaut V, Livet MO et al. [Failure to thrive and psychomotor regression revealing vitamin B12 deficiency in 3 infants]. *Arch Pediatr* 2007; 14: 467-71
84. Dagnelie PC, van Staveren WA, Hautvast JG Stunting and nutrient deficiencies in children on alternative diets. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1991; 374: 111-8
85. Schneede J, Dagnelie PC, van Staveren WA, Vollset SE, Refsum H, Ueland PM Methylmalonic acid and homocysteine in plasma as indicators of functional cobalamin deficiency in infants on macrobiotic diets. *Pediatr Res* 1994; 36: 194-201
86. Dhonukshe-Rutten RA, van Dusseldorp M, Schneede J, de Groot LC, van Staveren WA Low bone mineral density and bone mineral content are associated with low cobalamin status in adolescents. *Eur J Nutr* 2005; 44: 341-7
87. Miller DR, Specker BL, Ho ML, Norman EJ Vitamin B-12 status in a macrobiotic community. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 524-9
88. van Dusseldorp M, Schneede J, Refsum H, Ueland PM, Thomas CM, de Boer E et al. Risk of persistent cobalamin deficiency in adolescents fed a macrobiotic diet in early life. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 664-71
89. Ambroszkiewicz J, Klemarczyk W, Chelchowska M, Gajewska J, Laskowska-Klita T Serum homocysteine, folate, vitamin B12 and total antioxidant status in vegetarian children. *Adv Med Sci* 2006; 51: 265-8
90. Laskowska-Klita T, Chelchowska M, Ambroszkiewicz J, Gajewska J, Klemarczyk W The effect of vegetarian diet on selected essential nutrients in children. *Med Wieku Rozwoj* 2011; 15: 318-25
91. Yen CE, Yen CH, Cheng CH, Huang YC Vitamin B-12 status is not associated with plasma homocysteine in parents and their preschool children: lacto-ovo, lacto, and ovo vegetarians and omnivores. *J Am Coll Nutr* 2010; 29: 7-13
92. Rush EC, Chhichhia P, Hinckson E, Nabiryo C Dietary patterns and vitamin B(12) status of migrant Indian preadolescent girls. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63: 585-7
93. Obersby D, Chappell DC, Dunnett A, Tsiami AA Plasma total homocysteine status of vegetarians compared with omnivores: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr* 2013; 109: 785-94
94. Haddad EH, Berk LS, Kettering JD, Hubbard RW, Peters WR Dietary intake and biochemical, hematologic, and immune status of vegans compared with nonvegetarians. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 586S-93S
95. Donaldson MS Metabolic vitamin B12 status on a mostly raw vegan diet with follow-up using. *Ann Nutr Metab* 2000; 44: 229-34

96. Rauma AL, Torronen R, Hanninen O, Mykkanen H Vitamin B-12 status of long-term adherents of a strict uncooked vegan diet ("living food diet") is compromised. *J Nutr* 1995; 125: 2511-5
97. Koebnick C, Garcia AL, Dagnelie PC, Strassner C, Lindemans J, Katz N et al. Long-term consumption of a raw food diet is associated with favorable serum LDL cholesterol and triglycerides but also with elevated plasma homocysteine and low serum HDL cholesterol in humans. *J Nutr* 2005; 135: 2372-8
98. Bar-Sella P, Rakover Y, Ratner D Vitamin B12 and folate levels in long-term vegans. *Isr J Med Sci* 1990; 26: 309-12
99. Bissoli L, Di F, V, Ballarin A, Mandragona R, Trespidi R, Brocco G et al. Effect of vegetarian diet on homocysteine levels. *Ann Nutr Metab* 2002; 46: 73-9
100. Crane M, Sample C, Patchett S, Register D. Vitamin B12 in total vegetarians (vegans). *J Nutr Med* 4, 419-430. 1994.
101. Crane M, Sample C, Register D, Lukens R, Gregory R. Cobalamin (CBL) studies on two total vegetarian (vegan) families. *Veg Nutr* 23, 87-92. 1998.
102. Gilsing AM, Crowe FL, Lloyd-Wright Z, Sanders TA, Appleby PN, Allen NE et al. Serum concentrations of vitamin B12 and folate in British male omnivores, vegetarians and vegans: results from a cross-sectional analysis of the EPIC-Oxford cohort study. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64: 933-9
103. Herrmann W, Obeid R, Schorr H, Geisel J The usefulness of holotranscobalamin in predicting vitamin B12 status in different clinical settings. *Curr Drug Metab* 2005; 6: 47-53
104. Hokin BD Butler T Cyanocobalamin (vitamin B-12) status in Seventh-day Adventist ministers in Australia. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 576S-8S
105. Krajcovicova-Kudlackova M, Blazicek P, Kopcova J, Bederova A, Babinska K Homocysteine levels in vegetarians versus omnivores. *Ann Nutr Metab* 2000; 44: 135-8
106. Mann NJ, Li D, Sinclair AJ, Dudman NP, Guo XW, Elsworth GR et al. The effect of diet on plasma homocysteine concentrations in healthy male subjects. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 895-9
107. Obeid R, Geisel J, Schorr H, Hubner U, Herrmann W The impact of vegetarianism on some haematological parameters. *Eur J Haematol* 2002; 69: 275-9
108. Waldmann A, Koschizke JW, Leitzmann C, Hahn A Homocysteine and cobalamin status in German vegans. *Public Health Nutr* 2004; 7: 467-72
109. Herrmann W, Schorr H, Obeid R, Geisel J Vitamin B-12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 131-6
110. Geisel J, Schorr H, Bodis M, Isber S, Hubner U, Knapp JP et al. The vegetarian lifestyle and DNA methylation. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 1164-9

111. Herrmann W, Obeid R, Schorr H, Geisel J Functional vitamin B12 deficiency and determination of holotranscobalamin in populations at risk. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1478-88
112. Herrmann W, Obeid R, Schorr H, Hubner U, Geisel J, Sand-Hill M et al. Enhanced bone metabolism in vegetarians--the role of vitamin B12 deficiency. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47: 1381-7
113. Majchrzak D, Singer I, Manner M, Rust P, Genser D, Wagner KH et al. B-vitamin status and concentrations of homocysteine in Austrian omnivores, vegetarians and vegans. *Ann Nutr Metab* 2006; 50: 485-91
114. Madry E, Lisowska A, Grebowiec P, Walkowiak J The impact of vegan diet on B-12 status in healthy omnivores: five-year prospective study. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2012; 11: 209-12
115. Herrmann W The importance of hyperhomocysteinemia as a risk factor for diseases: an overview. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 666-74
116. Gammon CS, von Hurst PR, Coad J, Kruger R, Stonehouse W Vegetarianism, vitamin B12 status, and insulin resistance in a group of predominantly overweight/obese South Asian women. *Nutrition* 2012; 28: 20-4
117. Hung CJ, Huang PC, Lu SC, Li YH, Huang HB, Lin BF et al. Plasma homocysteine levels in Taiwanese vegetarians are higher than those of omnivores. *J Nutr* 2002; 132: 152-8
118. Karabudak E, Kiziltan G, Cigerim N A comparison of some of the cardiovascular risk factors in vegetarian and omnivorous Turkish females. *J Hum Nutr Diet* 2008; 21: 13-22
119. Krivosikova Z, Krajcovicova-Kudlackova M, Spustova V, Stefikova K, Valachovicova M, Blazicek P et al. The association between high plasma homocysteine levels and lower bone mineral density in Slovak women: the impact of vegetarian diet. *Eur J Nutr* 2010; 49: 147-53
120. Kwok T, Cheng G, Woo J, Lai WK, Pang CP Independent effect of vitamin B12 deficiency on hematological status in older Chinese vegetarian women. *Am J Hematol* 2002; 70: 186-90
121. Reddy S, Sanders TA Haematological studies on pre-menopausal Indian and Caucasian vegetarians compared with Caucasian omnivores. *Br J Nutr* 1990; 64: 331-8
122. Refsum H, Yajnik CS, Gadkari M, Schneede J, Vollset SE, Orning L et al. Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 233-41
123. Su TC, Jeng JS, Wang JD, Torng PL, Chang SJ, Chen CF et al. Homocysteine, circulating vascular cell adhesion molecule and carotid atherosclerosis in postmenopausal vegetarian women and omnivores. *Atherosclerosis* 2006; 184: 356-62
124. Chen CW, Lin YL, Lin TK, Lin CT, Chen BC, Lin CL Total cardiovascular risk profile of Taiwanese vegetarians. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 138-44
125. Roman VB, Ribas BL, Ngo J, Gurinovic M, Novakovic R, Cavelaars A et al. Projected prevalence of inadequate nutrient intakes in Europe. *Ann Nutr Metab* 2011; 59: 84-95

126. Doets EL, In 't V, Szczecinska A, Dhonukshe-Rutten RA, Cavelaars AE, van 't V et al. Systematic review on daily vitamin B12 losses and bioavailability for deriving recommendations on vitamin B12 intake with the factorial approach. *Ann Nutr Metab* 2013; 62: 311-22
127. Weaver CM, Proulx WR, Heaney R Choices for achieving adequate dietary calcium with a vegetarian diet. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 543S-8S
128. Weaver CM Plawecki KL Dietary calcium: adequacy of a vegetarian diet. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1238S-41S
129. Heaney RP Weaver CM Calcium absorption from kale. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 656-7
130. Heaney RP, Recker RR, Weaver CM Absorbability of calcium sources: the limited role of solubility. *Calcif Tissue Int* 1990; 46: 300-4
131. Heaney RP, Dowell MS, Rafferty K, Bierman J Bioavailability of the calcium in fortified soy imitation milk, with some observations on method. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1166-9
132. Weaver CM, Heaney RP, Connor L, Martin BR, Smith DL, Nielsen S Bioavailability of Calcium from Tofu as Compared with Milk in Premenopausal Women.
133. Heaney RP Absorbability and utility of calcium in mineral waters. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 371-4
134. Van DW, De LG, V, Schaafsma G, Bouley C, Luten J, Latge C Bioavailability of calcium of fresh cheeses, enteral food and mineral water. A study with stable calcium isotopes in young adult women. *Br J Nutr* 1996; 75: 893-903
135. Fenton TR, Eliasziw M, Lyon AW, Tough SC, Hanley DA Meta-analysis of the quantity of calcium excretion associated with the net acid excretion of the modern diet under the acid-ash diet hypothesis. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 1159-66
136. Nicoll R McLaren HJ The acid-ash hypothesis revisited: a reassessment of the impact of dietary acidity on bone. *J Bone Miner Metab* 2014; 32: 469-75
137. Reboul E Intestinal absorption of vitamin D: from the meal to the enterocyte. *Food Funct* 2015; 6: 356-62
138. Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN Vitamin D intake: a global perspective of current status. *J Nutr* 2005; 135: 310-6
139. Borel P, Caillaud D, Cano NJ Vitamin D bioavailability: state of the art. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015; 55: 1193-205
140. Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 854-8
141. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5387-91
142. Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LA Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: E447-E452

143. Biancuzzo RM, Young A, Bibuld D, Cai MH, Winter MR, Klein EK et al. Fortification of orange juice with vitamin D(2) or vitamin D(3) is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 1621-6
144. Biancuzzo RM, Clarke N, Reitz RE, Trivison TG, Holick MF Serum concentrations of 1,25-dihydroxyvitamin D2 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in response to vitamin D2 and vitamin D3 supplementation. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 973-9
145. Gibson RS *Principles of Nutritional Assessment*. 2005.
146. Herrmann M, Widmann T, Colaianni G, Colucci S, Zallone A, Herrmann W Increased osteoclast activity in the presence of increased homocysteine concentrations. *Clin Chem* 2005; 51: 2348-53
147. Specker BL, Tsang RC, Ho M, Miller D Effect of vegetarian diet on serum 1,25-dihydroxyvitamin D concentrations during lactation. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 870-4
148. Specker BL Nutritional concerns of lactating women consuming vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1182S-6S
149. Dagnelie PC, Vergote FJ, van Staveren WA, van den BH, Dingjan PG, Hautvast JG High prevalence of rickets in infants on macrobiotic diets. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 202-8
150. Parsons TJ, van Dusseldorp M, van d, V, van de WK, Schaafsma G, van Staveren WA Reduced bone mass in Dutch adolescents fed a macrobiotic diet in early life. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1486-94
151. Larsson CL, Johansson GK Dietary intake and nutritional status of young vegans and omnivores in Sweden. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 100-6
152. Donovan UM, Gibson RS Dietary intakes of adolescent females consuming vegetarian, semi-vegetarian, and omnivorous diets. *J Adolesc Health* 1996; 18: 292-300
153. Fontana L, Shew JL, Holloszy JO, Villareal DT Low bone mass in subjects on a long-term raw vegetarian diet. *Arch Intern Med* 2005; 165: 684-9
154. Lamberg-Allardt C, Karkkainen M, Seppanen R, Bistrom H Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and secondary hyperparathyroidism in middle-aged white strict vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 684-9
155. Appleby P, Roddam A, Allen N, Key T Comparative fracture risk in vegetarians and nonvegetarians in EPIC-Oxford. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61: 1400-6
156. Chiu JF, Lan SJ, Yang CY, Wang PW, Yao WJ, Su LH et al. Long-term vegetarian diet and bone mineral density in postmenopausal Taiwanese women. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 245-9
157. Davey GK, Spencer EA, Appleby PN, Allen NE, Knox KH, Key TJ EPIC-Oxford: lifestyle characteristics and nutrient intakes in a cohort of 33 883 meat-eaters and 31 546 non meat-eaters in the UK. *Public Health Nutr* 2003; 6: 259-69
158. Ho-Pham LT, Nguyen PL, Le TT, Doan TA, Tran NT, Le TA et al. Veganism, bone mineral density, and body composition: a study in Buddhist nuns. *Osteoporos Int* 2009; 20: 2087-93

159. Ho-Pham LT, Vu BQ, Lai TQ, Nguyen ND, Nguyen TV Vegetarianism, bone loss, fracture and vitamin D: a longitudinal study in Asian vegans and non-vegans. *Eur J Clin Nutr* 2012; 66: 75-82
160. Janelle KC Barr SI Nutrient intakes and eating behavior scores of vegetarian and nonvegetarian women. *J Am Diet Assoc* 1995; 95: 180-6, 189, quiz
161. Lightowler HJ Davies GJ Micronutrient intakes in a group of UK vegans and the contribution of self-selected dietary supplements. *J R Soc Promot Health* 2000; 120: 117-24
162. Outila TA, Karkkainen MU, Seppanen RH, Lamberg-Allardt CJ Dietary intake of vitamin D in premenopausal, healthy vegans was insufficient to maintain concentrations of serum 25-hydroxyvitamin D and intact parathyroid hormone within normal ranges during the winter in Finland. *J Am Diet Assoc* 2000; 100: 434-41
163. Strohle A, Waldmann A, Koschizke J, Leitzmann C, Hahn A Diet-dependent net endogenous acid load of vegan diets in relation to food groups and bone health-related nutrients: results from the German Vegan Study. *Ann Nutr Metab* 2011; 59: 117-26
164. Waldmann A, Koschizke JW, Leitzmann C, Hahn A Dietary intakes and lifestyle factors of a vegan population in Germany: results from the German Vegan Study. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 947-55
165. Outila TA Lamberg-Allardt CJ Ergocalciferol supplementation may positively affect lumbar spine bone mineral density of vegans. *J Am Diet Assoc* 2000; 100: 629
166. Cade JE, Burley VJ, Greenwood DC The UK Women's Cohort Study: comparison of vegetarians, fish-eaters and meat-eaters. *Public Health Nutr* 2004; 7: 871-8
167. Lloyd T, Schaeffer JM, Walker MA, Demers LM Urinary hormonal concentrations and spinal bone densities of premenopausal vegetarian and nonvegetarian women. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 1005-10
168. Tesar R, Notelovitz M, Shim E, Kauwell G, Brown J Axial and peripheral bone density and nutrient intakes of postmenopausal vegetarian and omnivorous women. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 699-704
169. Deriemaeker P, Alewaeters K, Hebbelinck M, Lefevre J, Philippaerts R, Clarys P Nutritional status of Flemish vegetarians compared with non-vegetarians: a matched samples study. *Nutrients* 2010; 2: 770-80
170. Nakamoto K, Watanabe S, Kudo H, Tanaka A Nutritional characteristics of middle-aged Japanese vegetarians. *J Atheroscler Thromb* 2008; 15: 122-9
171. Barr SI Rideout CA Nutritional considerations for vegetarian athletes. *Nutrition* 2004; 20: 696-703
172. Barr SI, Prior JC, Janelle KC, Lentle BC Spinal bone mineral density in premenopausal vegetarian and nonvegetarian women: cross-sectional and prospective comparisons. *J Am Diet Assoc* 1998; 98: 760-5
173. Keramat A, Patwardhan B, Larijani B, Chopra A, Mithal A, Chakravarty D et al. The assessment of osteoporosis risk factors in Iranian women compared with Indian women. *BMC Musculoskelet Disord* 2008; 9: 28

174. Chan J, Jaceldo-Siegl K, Fraser GE Serum 25-hydroxyvitamin D status of vegetarians, partial vegetarians, and nonvegetarians: the Adventist Health Study-2. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1686S-92S
175. Reed JA, Anderson JJ, Tylavsky FA, Gallagher PN, Jr. Comparative changes in radial-bone density of elderly female lacto-ovovegetarians and omnivores. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1197S-202S
176. Merrill RM Aldana SG Consequences of a plant-based diet with low dairy consumption on intake of bone-relevant nutrients. *J Womens Health (Larchmt)* 2009; 18: 691-8
177. Turner-McGrievy GM, Barnard ND, Cohen J, Jenkins DJ, Gloede L, Green AA Changes in nutrient intake and dietary quality among participants with type 2 diabetes following a low-fat vegan diet or a conventional diabetes diet for 22 weeks. *J Am Diet Assoc* 2008; 108: 1636-45
178. Dunn-Emke SR, Weidner G, Pettengill EB, Marlin RO, Chi C, Ornish DM Nutrient adequacy of a very low-fat vegan diet. *J Am Diet Assoc* 2005; 105: 1442-6
179. Kohlenberg-Mueller K Raschka L Calcium balance in young adults on a vegan and lactovegetarian diet. *J Bone Miner Metab* 2003; 21: 28-33
180. Sette S, Le Donne C, Piccinelli R, Mistura L, Ferrari M, Leclercq C The third National Food Consumption Survey, INRAN-SCAI 2005-06: major dietary sources of nutrients in Italy. *Int J Food Sci Nutr* 2013; 64: 1014-21
181. Craig WJ Nutrition concerns and health effects of vegetarian diets. *Nutr Clin Pract* 2010; 25: 613-20
182. Hunt JR Bioavailability of iron, zinc, and other trace minerals from vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 633S-9S
183. Hurrell R Egli I Iron bioavailability and dietary reference values. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 1461S-7S
184. Zimmermann MB Hurrell RF Nutritional iron deficiency. *Lancet* 2007; 370: 511-20
185. Craig WJ Iron status of vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1233S-7S
186. Monsen ER, Hallberg L, Layrisse M, Hegsted DM, Cook JD, Mertz W et al. Estimation of available dietary iron. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 134-41
187. Lonnerdal B Soybean ferritin: implications for iron status of vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1680S-5S
188. Collings R, Harvey LJ, Hooper L, Hurst R, Brown TJ, Ansett J et al. The absorption of iron from whole diets: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2013; 98: 65-81
189. Lonnerdal B, Bryant A, Liu X, Theil EC Iron absorption from soybean ferritin in nonanemic women. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 103-7
190. Sharp PA Intestinal iron absorption: regulation by dietary & systemic factors. *Int J Vitam Nutr Res* 2010; 80: 231-42
191. Luo X, Hill M, Johnson A, Latunde-Dada GO Modulation of Dcytb (Cybrd 1) expression and function by iron, dehydroascorbate and Hif-2alpha in cultured cells. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840: 106-12

192. Agarwal U. Rethinking red meat as a prevention strategy for iron deficiency. *Infant, Child & Adolescent Nutrition* 5, 231-235. 2013.
193. Garcia-Casal MN, Layrisse M, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D et al. Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. *J Nutr* 1998; 128: 646-50
194. Hunt JR, Roughead ZK. Adaptation of iron absorption in men consuming diets with high or low iron bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 94-102
195. Amit M. Vegetarian diets in children and adolescents. *Paediatr Child Health* 2010; 15: 303-14
196. Vegetarian weaning. Nutrition Standing Committee of the British Paediatric Association. *Arch Dis Child* 1988; 63: 1286-92
197. Theil EC, BJ. Plant ferritin and non-heme iron nutrition in humans. 2004. HarvestPlus Technical Monograph 1.
198. Fulton JR, Hutton CW, Stitt KR. Preschool vegetarian children. Dietary and anthropometric data. *J Am Diet Assoc* 1980; 76: 360-5
199. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, DC: 2003.
200. Krajcovicova-Kudlackova M, Simoncic R, Bederova A, Grancicova E, Magalova T. Influence of vegetarian and mixed nutrition on selected haematological and biochemical parameters in children. *Nahrung* 1997; 41: 311-4
201. Donovan UM, Gibson RS. Iron and zinc status of young women aged 14 to 19 years consuming vegetarian and omnivorous diets. *J Am Coll Nutr* 1995; 14: 463-72
202. Wilson AK, Ball MJ. Nutrient intake and iron status of Australian male vegetarians. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 189-94
203. Yi-Chia H, W-JLC-HCK-HS. Nutrient intakes and iron status of healthy young vegetarians and non vegetarians. *Nutr Res* 19, 663-674. 1999.
204. Anderson BM, Gibson RS, Sabry JH. The iron and zinc status of long-term vegetarian women. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 1042-8
205. Ball MJ, Bartlett MA. Dietary intake and iron status of Australian vegetarian women. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 353-8
206. Harvey LJ, Armah CN, Dainty JR, Foxall RJ, John LD, Langford NJ et al. Impact of menstrual blood loss and diet on iron deficiency among women in the UK. *Br J Nutr* 2005; 94: 557-64
207. Hanson LN, Engelman HM, Alekel DL, Schalinske KL, Kohut ML, Reddy MB. Effects of soy isoflavones and phytate on homocysteine, C-reactive protein, and iron status in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 774-80
208. Wells AM, Haub MD, Fluckey J, Williams DK, Chernoff R, Campbell WW. Comparisons of vegetarian and beef-containing diets on hematological indexes and iron stores during a period of resistive training in older men. *J Am Diet Assoc* 2003; 103: 594-601
209. Nieman DC. Physical fitness and vegetarian diets: is there a relation? *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 570S-5S

210. Williams MH Nutritional aspects of human physical and athletic performance. Charles C. Thomas Publisher, 1985.
211. Snyder AC, Dvorak LL, Roepke JB Influence of dietary iron source on measures of iron status among female runners. *Med Sci Sports Exerc* 1989; 21: 7-10
212. Hanne N, Dlin R, Rotstein A Physical fitness, anthropometric and metabolic parameters in vegetarian athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 1986; 26: 180-5
213. Ruud, J. Vegetarianism: Implications for athletes. Omaha: 1990.
214. Seiler D, Nagel D, Franz H, Hellstern P, Leitzmann C, Jung K Effects of long-distance running on iron metabolism and hematological parameters. *Int J Sports Med* 1989; 10: 357-62
215. Richter EA, Kiens B, Raben A, Tvede N, Pedersen BK Immune parameters in male athletes after a lacto-ovo vegetarian diet and a mixed Western diet. *Med Sci Sports Exerc* 1991; 23: 517-21
216. Hunt JR Moving toward a plant-based diet: are iron and zinc at risk? *Nutr Rev* 2002; 60: 127-34
217. Venti CA Johnston CS Modified food guide pyramid for lactovegetarians and vegans. *J Nutr* 2002; 132: 1050-4
218. Gibson RS Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1223S-32S
219. Lonnerdal B Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr* 2000; 130: 1378S-83S
220. Hunt JR, Matthys LA, Johnson LK Zinc absorption, mineral balance, and blood lipids in women consuming controlled lactoovovegetarian and omnivorous diets for 8 wk. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 421-30
221. Sandstrom B, Arvidsson B, Cederblad A, Bjorn-Rasmussen E Zinc absorption from composite meals. I. The significance of wheat extraction rate, zinc, calcium, and protein content in meals based on bread. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 739-45
222. Wegmuller R, Tay F, Zeder C, Brnic M, Hurrell RF Zinc absorption by young adults from supplemental zinc citrate is comparable with that from zinc gluconate and higher than from zinc oxide. *J Nutr* 2014; 144: 132-6
223. Chiplonkar SA Agte VV Predicting bioavailable zinc from lower phytate forms, folic Acid and their interactions with zinc in vegetarian meals. *J Am Coll Nutr* 2006; 25: 26-33
224. Foster M, Chu A, Petocz P, Samman S Effect of vegetarian diets on zinc status: a systematic review and meta-analysis of studies in humans. *J Sci Food Agric* 2013; 93: 2362-71
225. Krebs NF Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J Nutr* 2000; 130: 1374S-7S
226. King JC, Shames DM, Woodhouse LR Zinc homeostasis in humans. *J Nutr* 2000; 130: 1360S-6S
227. Lim KH, Riddell LJ, Nowson CA, Booth AO, Szymlek-Gay EA Iron and zinc nutrition in the economically-developed world: a review. *Nutrients* 2013; 5: 3184-211
228. Cousins RJ Gastrointestinal factors influencing zinc absorption and homeostasis. *Int J Vitam Nutr Res* 2010; 80: 243-8
229. Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci* 2013; 18: 144-57

230. Lee DY, Prasad AS, Hydrick-Adair C, Brewer G, Johnson PE Homeostasis of zinc in marginal human zinc deficiency: role of absorption and endogenous excretion of zinc. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 549-56
231. King JC Zinc: an essential but elusive nutrient. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 679S-84S
232. Lowe NM, Fekete K, Decsi T Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 2040S-51S
233. Gibson RS, Hess SY, Hotz C, Brown KH Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *Br J Nutr* 2008; 99 Suppl 3: S14-S23
234. Freeland-Graves JH, Ebangit ML, Hendrikson PJ Alterations in zinc absorption and salivary sediment zinc after a lacto-ovo-vegetarian diet. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 1757-66
235. Freeland-Graves J Mineral adequacy of vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 1988; 48: 859-62
236. de BB, rnton-Hill I, Davidsson L, Fontaine O, Hotz C Conclusions of the Joint WHO/UNICEF/IAEA/IZiNCG Interagency Meeting on Zinc Status Indicators. *Food Nutr Bull* 2007; 28: S480-S484
237. Casey CE, Neville MC, Hambidge KM Studies in human lactation: secretion of zinc, copper, and manganese in human milk. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 773-85
238. Breastfeeding and the use of human milk. American Academy of Pediatrics. Work Group on Breastfeeding. *Pediatrics* 1997; 100: 1035-9
239. Allen LH Zinc and micronutrient supplements for children. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 495S-8S
240. Sanders TA Purves R An anthropometric and dietary assessment of the nutritional status of vegan preschool children. *J Hum Nutr* 1981; 35: 349-57
241. Smit Vanderkooy PD Gibson RS Food consumption patterns of Canadian preschool children in relation to zinc and growth status. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 609-16
242. Cavan KR, Gibson RS, Grazioso CF, Isalgue AM, Ruz M, Solomons NW Growth and body composition of periurban Guatemalan children in relation to zinc status: a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 334-43
243. Treuherts J. Possible inter-relationship between zinc and dietary fiber in a group of lacto-ovo vegetarian adolescents. *J Plant Food* 4, 89-93. 1982.
244. Institute of Medicine Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, DC: 2001.
245. Gibson RS, Yeudall F, Drost N, Mtitimuni B, Cullinan T Dietary interventions to prevent zinc deficiency. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 484S-7S
246. de Bortoli MC Cozzolino SM Zinc and selenium nutritional status in vegetarians. *Biol Trace Elem Res* 2009; 127: 228-33

247. Srikumar TS, Johansson GK, Ockerman PA, Gustafsson JA, Akesson B Trace element status in healthy subjects switching from a mixed to a lactovegetarian diet for 12 mo. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 885-90
248. King JC, Stein T, Doyle M Effect of vegetarianism on the zinc status of pregnant women. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 1049-55
249. Fuhrman J Ferreri DM Fueling the vegetarian (vegan) athlete. *Curr Sports Med Rep* 2010; 9: 233-41
250. Clarkson PM Haymes EM Trace mineral requirements for athletes. *Int J Sport Nutr* 1994; 4: 104-19
251. Davis BC Kris-Etherton PM Achieving optimal essential fatty acid status in vegetarians: current knowledge and practical implications. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 640S-6S
252. Gebauer SK, Psota TL, Harris WS, Kris-Etherton PM n-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1526S-35S
253. Sánchez-Machado DI, López-Cervantes J, López-Hernández J, Paseiro-Losada P Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry* 2004; 85: 439-44
254. Arterburn LM, Hall EB, Oken H Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1467S-76S
255. Horrobin DF Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid. *Prog Lipid Res* 1992; 31: 163-94
256. Siguel EN Lerman RH Altered fatty acid metabolism in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Metabolism* 1994; 43: 982-93
257. Nervi AM, Peluffo RO, Brenner RR, Leikin AI Effect of ethanol administration on fatty acid desaturation. *Lipids* 1980; 15: 263-8
258. Simopoulos AP New products from the agri-food industry: the return of n-3 fatty acids into the food supply. *Lipids* 1999; 34 Suppl: S297-S301
259. Nettleton JA Omega-3 fatty acids: comparison of plant and seafood sources in human nutrition. *J Am Diet Assoc* 1991; 91: 331-7
260. Serra-Majem L, Nissensohn M, Overby NC, Fekete K Dietary methods and biomarkers of omega 3 fatty acids: a systematic review. *Br J Nutr* 2012; 107 Suppl 2: S64-S76
261. Arab L Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr* 2003; 133 Suppl 3: 925S-32S
262. Reddy S, Sanders TA, Obeid O The influence of maternal vegetarian diet on essential fatty acid status of the newborn. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48: 358-68
263. Sanders TA Reddy S The influence of a vegetarian diet on the fatty acid composition of human milk and the essential fatty acid status of the infant. *J Pediatr* 1992; 120: S71-S77
264. Lakin V, Haggarty P, Abramovich DR, Ashton J, Moffat CF, McNeill G et al. Dietary intake and tissue concentration of fatty acids in omnivore, vegetarian and diabetic pregnancy. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1998; 59: 209-20

265. Sanders TA Manning J The growth and development of vegan children. *J Human Nutr Diet* 1992; 5: 11-21
266. Krajcovicova-Kudlackova M, Simoncic R, Bederova A, Klvanova J Plasma fatty acid profile and alternative nutrition. *Ann Nutr Metab* 1997; 41: 365-70
267. Beezhold BL, Johnston CS, Daigle DR Vegetarian diets are associated with healthy mood states: a cross-sectional study in seventh day Adventist adults. *Nutr J* 2010; 9: 26
268. Conquer JA Holub BJ Supplementation with an algae source of docosahexaenoic acid increases (n-3) fatty acid status and alters selected risk factors for heart disease in vegetarian subjects. *J Nutr* 1996; 126: 3032-9
269. Conquer JA Holub BJ Dietary docosahexaenoic acid as a source of eicosapentaenoic acid in vegetarians and omnivores. *Lipids* 1997; 32: 341-5
270. Geppert J, Kraft V, Demmelmair H, Koletzko B Docosahexaenoic acid supplementation in vegetarians effectively increases omega-3 index: a randomized trial. *Lipids* 2005; 40: 807-14
271. Huang T, Yu X, Shou T, Wahlqvist ML, Li D Associations of plasma phospholipid fatty acids with plasma homocysteine in Chinese vegetarians. *Br J Nutr* 2013; 109: 1688-94
272. Korpela R, Seppo L, Laakso J, Lilja J, Karjala K, Lahteenmaki T et al. Dietary habits affect the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 802-7
273. Lee HY, Woo J, Chen ZY, Leung SF, Peng XH Serum fatty acid, lipid profile and dietary intake of Hong Kong Chinese omnivores and vegetarians. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54: 768-73
274. Li D, Sinclair A, Wilson A, Nakkote S, Kelly F, Abedin L et al. Effect of dietary alpha-linolenic acid on thrombotic risk factors in vegetarian men. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 872-82
275. Li D, Ball M, Bartlett M, Sinclair A Lipoprotein(a), essential fatty acid status and lipoprotein lipids in female Australian vegetarians. *Clin Sci (Lond)* 1999; 97: 175-81
276. Manjari V, Suresh Y, Sailaja Devi MM, Das UN Oxidant stress, anti-oxidants and essential fatty acids in South Indian vegetarians and non-vegetarians. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2001; 64: 53-9
277. Mezzano D, Munoz X, Martinez C, Cuevas A, Panes O, Aranda E et al. Vegetarians and cardiovascular risk factors: hemostasis, inflammatory markers and plasma homocysteine. *Thromb Haemost* 1999; 81: 913-7
278. Phinney SD, Odin RS, Johnson SB, Holman RT Reduced arachidonate in serum phospholipids and cholesteryl esters associated with vegetarian diets in humans. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 385-92
279. Ryan L Symgton AM Algal-oil supplements are a viable alternative to fish-oil supplements in terms of docosahexaenoic acid (22:6n-3, DHA). *Journal of Functional Foods* 2014
280. Wu WH, Lu SC, Wang TF, Jou HJ, Wang TA Effects of docosahexaenoic acid supplementation on blood lipids, estrogen metabolism, and in vivo oxidative stress in postmenopausal vegetarian women. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 386-92

281. Yep YL, Li D, Mann NJ, Bode O, Sinclair AJ Bread enriched with microencapsulated tuna oil increases plasma docosahexaenoic acid and total omega-3 fatty acids in humans. *Asia Pac J Clin Nutr* 2002; 11: 285-91
282. Fokkema MR, van Rieke HM, Bauermann OJ, Smit EN, Muskiet FA Short-term carnitine supplementation does not augment LCPomega3 status of vegans and lacto-ovo-vegetarians. *J Am Coll Nutr* 2005; 24: 58-64
283. Kornsteiner M, Singer I, Elmadfa I Very low n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid status in Austrian vegetarians and vegans. *Ann Nutr Metab* 2008; 52: 37-47
284. Li D, Sinclair A, Mann N, Turner A, Ball M, Kelly F et al. The association of diet and thrombotic risk factors in healthy male vegetarians and meat-eaters. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 612-9
285. Mann N, Pirotta Y, O'Connell S, Li D, Kelly F, Sinclair A Fatty acid composition of habitual omnivore and vegetarian diets. *Lipids* 2006; 41: 637-46
286. Rosell MS, Lloyd-Wright Z, Appleby PN, Sanders TA, Allen NE, Key TJ Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids in plasma in British meat-eating, vegetarian, and vegan men. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 327-34
287. Welch AA, Shakya-Shrestha S, Lentjes MA, Wareham NJ, Khaw KT Dietary intake and status of n-3 polyunsaturated fatty acids in a population of fish-eating and non-fish-eating meat-eaters, vegetarians, and vegans and the product-precursor ratio [corrected] of alpha-linolenic acid to long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids: results from the EPIC-Norfolk cohort. *Am J Clin Nutr* 2010; 92: 1040-51
288. Sanders TA Roshanai F Platelet phospholipid fatty acid composition and function in vegans compared with age- and sex-matched omnivore controls. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46: 823-31
289. Sarter B, Kelsey KS, Schwartz TA, Harris WS Blood docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in vegans: Associations with age and gender and effects of an algal-derived omega-3 fatty acid supplement. *Clin Nutr* 2014
290. Jan A. Delcour and R. Carl Hoseney Principles of Cereal Science and Technology. American Association of Cereal Chemists (AACC), 2017.
291. Day L, Augustin MA, Batey IL, Wrigley CW Wheat-gluten uses and industry needs. *Trends in Food Science & Technology* 2006; 17: 82-90
292. Areas JA Extrusion of food proteins. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 32: 365-92
293. Kumar P, Chatli MK, Mehta N, Singh P, Malav OP, Verma AK Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2017; 57: 923-32
294. Production of Analogue Cheeses in Processed Cheese and Analogues. Blackwell Publishing Ltd, 2011.