



UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica
Corso di Laurea in Chimica

STUDIO DI DERIVATIZZAZIONE E ANALISI CROMATOGRAFICA DI AMMINE BIOGENE IN ALIMENTI

Relatore:

Chiar.mo Prof. Emilio MARENGO

Candidato:

Marco SCAIOLA

Correlatore:

Dott.ssa Eleonora MAZZUCCO

Anno Accademico 2013/2014

INDICE

ESTRATTO DI TESI

Capitolo I – AMMINE BIOGENE	pag. 1
1.1 – Generalità	pag. 2
1.2 – Chimica delle ammine	pag. 2
1.3 – Meccanismo di formazione	pag. 3
1.4 – BAs negli alimenti	pag. 3
1.5 – Effetti biologici	pag. 4
1.6 – Aromi e caratterizzazione degli alimenti	pag. 4
1.7 – Effetti sulla salute	pag. 4
1.7.1 – Meccanismi di detossificazione	pag. 8
1.7.2 – Interazioni che aumentano la tossicità delle BAs	pag. 8
1.8 – BAs nel cioccolato	pag. 9
1.8.1 – Storia del cioccolato	pag. 9
1.8.2 – Il cioccolato come fonte di piacere	pag. 10
1.8.3 – La feniletilammina	pag. 11
1.8.4 – La serotonina	pag. 13
1.8.5 – Alcaloidi presenti nel cacao	pag. 14
1.8.6 – Cacao e sistema cardiovascolare	pag. 14
1.9 – Limiti di legge	pag. 15
Bibliografia	pag. 17

Capitolo I

AMMINE BIOGENE

1.1 – Generalità

Le ammine biogene (BAs) sono composti azotati prodotti per decarbossilazione microbica degli amminoacidi. Dal momento che i batteri sono comunemente presenti nell'ambiente, le ammine biogene possono essere contenute in alimenti e bevande a composizione proteica. Oggigiorno pertanto le BAs sono ampiamente studiate a causa dell'importanza sulla salubrità e qualità del cibo. La loro concentrazione è maggiore nei cibi a rapida deperibilità, soprattutto se fermentati e ricchi di particolari amminoacidi, come pesce, carne, salumi, succhi di frutta, vino, cacao, formaggi e latticini. ^[1]

1.2 – Chimica delle ammine

Le ammine biogene sono basi organiche a basso peso molecolare che possiedono strutture alifatiche (putrescina, cadaverina, spermina, spermidina), aromatiche (tiramina, feniletilammina) o eterocicliche (istamina, triptamina).

Le ammine sono composti in cui uno o più idrogeni dell'ammoniaca sono sostituiti da gruppi alchilici. Ci sono ammine primarie, secondarie e terziarie a seconda del numero di gruppi alchilici legati all'atomo di azoto. ^[2]

La coppia solitaria di elettroni sull'azoto rende le ammine basiche, ossia capaci di condividere la coppia solitaria con un protone, e nucleofile, ossia capaci di condividere la coppia solitaria di elettroni con un atomo diverso dal protone.

Il gruppo uscente di un'ammina ($-NH_2$) è una base così forte che le ammine non possono dare reazioni di sostituzione e di eliminazione, ma agiscono come nucleofili in reazioni di addizione nucleofila–eliminazione – in cui viene eliminata acqua – come la reazione delle aldeidi con ammine primarie per formare immine, dette basi di Schiff. ^[3]

1.3 – Meccanismo di formazione

Le BAs si formano come normale prodotto dell'attività metabolica di animali e piante. Si generano tramite reazioni di decarbossilazione enzimatica degli amminoacidi, reazioni che sono favorite da un'alta concentrazione salina e un'ampia disponibilità di acqua.

Le BAs possono essere prodotte durante la lavorazione o la conservazione del cibo per opera di batteri come *Bacillus*, *Clostridium*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella morganii*, *Proteus*, *Lactobacillus*, *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus delbrueckii* nel formaggio; *Enterobacteriaceae* and *Enterococcus* in carne, pesce e derivati.

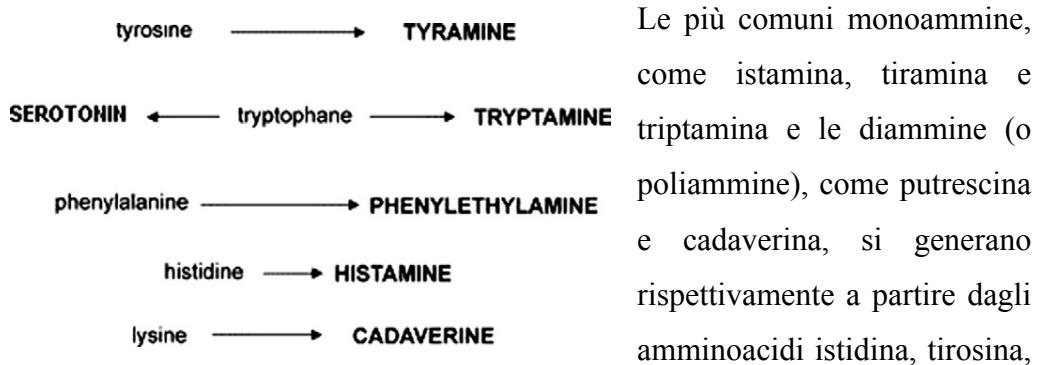


Fig. 1

triptofano, ornitina e lisina (fig. 1). Le poliammine spermidina e spermina invece derivano dalla putrescina.^[4]

1.4 – BAs negli alimenti

Le BAs sono presenti in un'ampia varietà di cibo ricco in proteine e/o fermentato. La quantità delle BAs è un importante indicatore del grado di freschezza, di maturazione e della qualità della conservazione del cibo. Le BAs si trovano nella carne, nel pesce, birra, formaggio e, in minor quantità, nel cioccolato e nella verdura.^[5]

1.5 – Effetti biologici

Le BAs ricoprono importanti ruoli biologici. Spermina, spermidina e cadaverina regolano la crescita cellulare, mentre l'istamina è mediatrice dei sintomi delle reazioni allergiche e interagisce con un recettore presente sulla membrana cellulare, il recettore H1, che è collegato alle contrazioni dei muscoli intestinali.

1.6 – Aromi e caratterizzazione degli alimenti

Oltre a svolgere un ruolo biologico, le BAs sono importanti componenti di aromi alimentari. Nei cibi fermentati, come formaggi e salumi, la presenza di ammine biogene è responsabile del sapore caratteristico, della gradevolezza al gusto e dell'aspetto finale.

Un altro aspetto che rende utile la determinazione delle BAs riguarda la caratterizzazione di un alimento, in quanto si possono intraprendere studi di tipizzazione verificando così se cibi prodotti nelle stesse zone hanno la stessa composizione di ammine biogene.

1.7 – Effetti sulla salute

L'eccessiva presenza di BAs può indurre mal di testa, tachicardia, ipo e ipertensione, nausea ed emesi, emorragia cerebrale, shock anafilattico e, in casi estremi, morte. ^[6] Alcune ammine aromatiche (tiramina, triptamina e feniletilamina) mostrano un effetto vasocostrittore (aumento della pressione sanguigna), mentre istamina e serotonina hanno un effetto vasodilatatore (diminuzione della pressione sanguigna) (tab. 1).

Amine biogene, effetti farmacologici e presenza negli alimenti		
<i>BA</i>	<i>Effetti farmacologici</i>	<i>Alimenti a rischio</i>
Istamina	Libera adrenalina e noradrenalina; stimola i neuroni motori e sensoriali; controlla la secrezione gastrica	Estratti di lieviti, formaggi, pesce in scatola, vini rossi, spinaci, pomodori
Tiramina	Vasocostrittore (aumenta il battito cardiaco); causa lacrimazione e salivazione, aumento della glicemia ed emicrania	Cioccolato, arance, avocado, banane, crauti, formaggi, lamponi, estratti di lieviti, pesce, pomodori, prugne, salsicce
Putrescina – cadaverina Spermina – spermidina	Ipotensione; bradicardia; potenziano l'azione tossica delle altre ammine	Alimenti proteici in fase di decomposizione avanzata (carne e pesce)
Feniletilamina	Rilascia noradrenalina; aumenta la pressione sanguigna; causa emicrania	Cioccolato, vini rossi, alimenti fermentati

Tab. 1

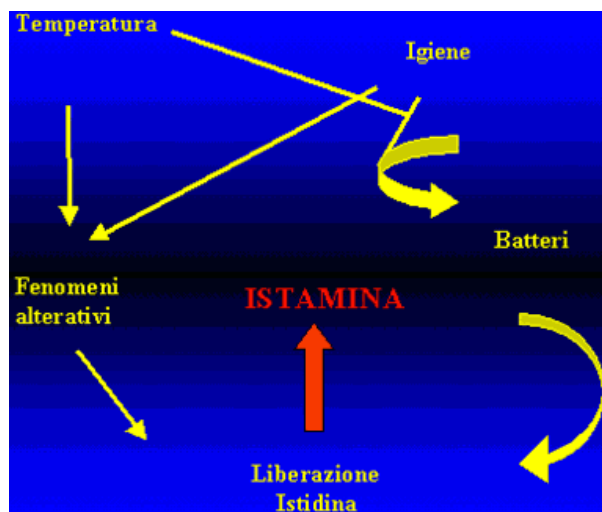


Fig. 2: Fattori che contribuiscono alla formazione di istamina

Le specie più pericolose per la salute del consumatore sono l'istamina e la tiramina, responsabili rispettivamente della sindrome sgombroide e della sindrome del formaggio. La **sindrome sgombroide** è un'intossicazione acuta causata principalmente dal consumo di prodotti ittici. [7]

La parte rosso-scura del tessuto muscolare dei pesci della famiglia *Scombridae* e *Scomberesocidae* contiene elevate quantità di istidina libera. L'istidina, se il

pesce viene refrigerato o conservato in modo non adeguato dopo la pesca, a contatto con l'aria e a temperature superiori ai 16 °C, viene convertita in istamina ad opera del batterio *Morganella morganii*. L'istamina non viene distrutta dalle normali temperature di cottura, di conseguenza il pesce mal conservato o mal lavorato, anche se adeguatamente cotto, può contenere istamina.

Questa ammina biogena si forma grazie alla reazione di decarbossilazione per azione dell'enzima istidino-decarbossilasi (HD). Il range di pH ottimale per l'attività di HD va da 2.5 a 6.5, e il pH degli sgombroidi freschi va da 5.5 a 6.5; quindi questo livello di lieve acidità favorisce la produzione di istamina da parte delle decarbossilasi batteriche. Inoltre un'elevata temperatura di conservazione del prodotto ittico (tra 0 e 10 °C) provoca un veloce processo di deterioramento batterico, detto *spoilage*. Si rammenta che la normativa vigente prevede la conservazione dei prodotti ittici freschi a temperatura "vicina a quella di fusione del ghiaccio".

La sindrome sgombroide è una patologia simil-allergica perché viene generalmente confusa con un'allergia alimentare. Quantità di 500 mg/kg o superiori



Fig. 3: Sintomi dell'intossicazione da istamina

possono essere il livello soglia oltre il quale la maggior parte delle persone manifesta una sintomatologia conclamata che consiste in arrossamento della pelle, cefalea pulsante, bruciore orale, crampi addominali, nausea, diarrea, palpitazioni, senso di malessere e, raramente, ipertermia o perdita della vista (fig. 3). I sintomi solitamente compaiono entro 10-30 minuti dall'ingestione del pesce e sono generalmente autolimitanti. I segni fisici possono comprendere pallore diffuso, eritema, tachicardia, dispnea, ipotensione o ipertensione. I sintomi

dell'intossicazione solitamente durano dalle quattro alle sei ore e raramente persistono per più di 1-2 giorni.

In un uomo adulto di corporatura e peso medio, il consumo di istamina compreso tra gli 8-40 mg, 40-100 mg e superiore a 100 mg può causare rispettivamente un avvelenamento lieve, moderato e acuto. Il massimo livello tollerabile di istamina negli alimenti dovrebbe essere nell'intervallo 50-100 mg/kg e per la tiramina 100-800 mg/kg; sopra i 1080 mg/kg la tiramina diventa tossica. [8]

Per quanto riguarda la cadaverina (prodotto della decarbossilazione della lisina), questa sostanza è rinvenuta più frequentemente nel pesce alterato rispetto all'istamina; la putrescina (prodotto della decarbossilazione dell'ornitina) invece è rinvenibile a livelli molto più bassi rispetto alla cadaverina, probabilmente a causa dei limitati quantitativi di ornitina presenti nei tessuti dei pesci. Putrescina, cadaverina, spermina, spermidina non hanno direttamente effetti negativi sulla salute, ma possono reagire con i nitriti per dare nitrosammine, composti cancerogeni. [9] Questo problema è molto rilevante nei salumi, in quanto si aggiunge spesso nitrito di sodio come conservante. Più in generale, i composti N-nitroso possono essere prodotti dall'interazione degli ammino composti con reagenti nitrosanti (nitriti e ossidi di azoto), con cui i cibi possono entrare in contatto durante l'immagazzinamento, la conservazione o la cottura.

Per la valutazione della qualità di un alimento proteico si tiene conto della quantità di ammine biogene mediante il calcolo dell'indice **B.A.I. (Biogenic Amine Index)**, il quale risponde alla seguente formula elaborata da Karmas nel 1981:

$$\text{B.A.I.} = \frac{\text{CAD} + \text{PUT} + \text{HYS}}{1 + \text{SPD} + \text{SPN}} \text{ ppm} \quad [10, 11]$$

A valori di B.A.I. minori di 1 si è in presenza di un alimento proteico fresco di prima qualità; per valori di B.A.I. compresi tra 1 e 3, l'alimento è in uno stato di

iniziale alterazione, ma comunque qualitativamente accettabile; per valori di B.A.I. superiori a 3, l'alimento è da considerare inaccettabile.

1.7.1 – Meccanismi di detossificazione

La determinazione della soglia di concentrazione delle BAs che comporta un effetto tossico è estremamente difficile, in quanto la dose tossica dipende fortemente dall'efficienza dei meccanismi di detossificazione, diversi in ciascun individuo.

Normalmente, nell'intestino, una piccola quantità di ammine biogene viene metabolizzata in composti fisiologicamente meno attivi. Questo sistema di detossificazione include specifici enzimi come le diamminossidasi (DAO), che neutralizza l'istamina. Tuttavia, se l'ingestione di BAs è troppo elevata, il sistema non elimina queste ammine biogene in modo completo. Inoltre, nel caso in cui il sistema DAO non funzioni a causa di una predisposizione genetica, di problemi gastrointestinali, dell'assunzione cronica di alcol o di effetti collaterali di farmaci, anche piccole quantità di ammine biogene non vengono metabolizzate e quindi diventano tossiche per l'organismo. Un altro sistema di detossificazione è costituito dalle monoamminossidasi (MAO), che neutralizzano la tiramina. Anche il fegato ha un'azione detossificante.

1.7.2 – Interazioni che aumentano la tossicità delle BAs

L'avvelenamento alimentare causato da un consumo eccessivo di BAs può essere aggravato dall'azione degli inibitori della monoamminossidasi (IMAO). Gli IMAO inibiscono il catabolismo di catecolammine e serotonina, aumentando notevolmente le quantità di questi neurotrasmettitori in circolo. Grazie a questo meccanismo, gli IMAO sono impiegati come farmaci dall'effetto antidepressivo, per cui pazienti in cura che assumano alimenti contenenti una quantità eccessiva di tiramina possono presentare una cascata eccessiva di noradrenalina a livello cerebrale, che può portare a una crisi ipertensiva molto grave. Altri farmaci invece inibiscono il DAO, e questo può portare a un'assunzione eccessiva di istamina.

Anche droghe, alcol e problemi gastrointestinali preesistenti determinano un aumento della possibilità di avvelenamento da BAs. Le diammine (putrescina e cadaverina) e le poliammine (spermina e spermidina) favoriscono l'assorbimento intestinale e diminuiscono il catabolismo di istamina e tiramina, potenziando così la loro tossicità. ^[12]

1.8 – BAs nel cioccolato

Il cioccolato è un alimento costituito da più composti quali amminoacidi, basi azotate, polifenoli (tab. 2).

Il cacao, come tutti gli alimenti fermentati microbiologicamente, può contenere monoammine, in particolare feniletilammina, tiramina, triptamina e serotonina (derivante dalla decarbossilazione del triptofano). Dopo la tostatura del cacao si trova un aumento significativo della concentrazione di ammine biogene, probabilmente causato dalla decarbossilazione termica degli amminoacidi liberi.

Le ammine biogene nel cacao non raggiungono valori elevati nonostante alcuni individui ne siano particolarmente sensibili, in particolare chi soffre di emicrania. Infatti queste molecole vasoattive, se introdotte in quantità sufficiente o simultaneamente a farmaci che inibiscono gli enzimi che le catabolizzano, possono provocare rossore al viso, mal di testa, brucche variazioni della pressione sanguigna e morte per shock cardiocircolatorio.

1.8.1 – Storia del cioccolato

“*Cacahuatl*” era il nome dato dagli antichi Maya alla pianta dell’America centrale, i cui semi, una volta tostati, frantumati e ridotti in polvere, venivano fatti bollire in acqua per dare una bevanda dal gusto molto aspro e pungente vista la presenza di pepe, peperoncino e zenzero. Una volta introdotta in Europa dai navigatori reduci dall’America, essa subì una sostanziale modifica nel gusto, e le forti spezie della ricetta originale furono sostituite da massicce quantità di zucchero.

Durante il periodo storico che va dalle antiche civiltà centroamericane all'epoca coloniale e fino ai primi decenni dell'era moderna, sono stati individuati tre usi principali del cacao e del cioccolato: come energetico per pazienti deboli ed emaciati, come stimolante del sistema nervoso in caso di affaticamento e apatia e come regolatore dell'attività gastrointestinale.

Ai conquistatori europei fu subito chiaro come le preparazioni a base di semi di cacao tostati e macinati avessero soprattutto un effetto energizzante e ricostituente sia sull'organismo sia sul tono dell'umore. In Europa nel XVII secolo era considerato efficace nel trattamento dell'anemia, della tubercolosi e della febbre, come farmaco per i disturbi gastrointestinale e renali e nella cura delle malattie cardiocircolatorie. Per lungo tempo, tra il XVII e il XVIII secolo, la cioccolata fu una bevanda per pochi e, assieme al caffè, un simbolo dello stile di vita aristocratico.

1.8.2 – Il cioccolato come fonte di piacere

Il cioccolato nel mondo occidentale è fonte di piacere e, allo stesso tempo, di sensi di colpa. Il burro di cacao, il suo componente più importante, è composto da una miscela di acidi grassi saturi e insaturi (trigliceridi), le cui proporzioni relative dipendono dalla zona di origine del cacao. Questa miscela ricca di grassi è responsabile, secondo alcuni, dell'acne e del mal di testa, mentre per altri rappresenta un genere di conforto e un antidepressivo. Si parla anche di sindrome di astinenza da cioccolato.

In tempi recenti, ai miti culturali si è affiancata tutta una serie di evidenze scientifiche a favore del cioccolato. Infatti, il cioccolato contiene potenti antiossidanti: un quadrato di cioccolato fondente (40 g) apporta più di 900 mg di polifenoli. Questi composti migliorano la funzionalità dell'endotelio e impediscono l'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità (LDL), responsabili dei cosiddetti grassi "cattivi", quelli che contribuiscono all'ostruzione delle arterie coronarie e causano le patologie correlate.

Il senso di benessere che si prova mangiando il cioccolato è dovuto alla presenza di feniletilamina, un'ammina biogena che agisce come neurotrasmettitore simpaticomimetico. Essa facilita la liberazione di altre

ammine biogene quali la dopamina e la noradrenalina, e quindi ha un'attività psicotropa e stimolante. Quando è introdotto nella bocca, il cioccolato assorbe calore e fonde, assicurando una sensazione di piacere, dovuta probabilmente al rilascio, da parte del cervello, di endorfina, un peptide con attività oppioide.

Altri composti con proprietà farmacologiche presenti nel cioccolato sono l'istamina, la serotonina, il triptofano e la tiramina. Molte di queste sostanze hanno attività psicotropa, ed è quindi plausibile che la "attività farmacologica" del cioccolato sia il risultato di una complessa serie di interazioni. ^[13]

1.8.3 – La feniletilammina

La feniletilammina (*PEA*) è un'ammina con struttura analoga alle anfetamine e condivide con esse gli effetti neuro-farmacologici, legandosi agli stessi recettori cerebrali. Si produce tramite decarbossilazione enzimatica della fenilalanina, ed è una molecola che subisce un rapido metabolismo evitando così un eccessivo accumulo cerebrale. ^[14]

Questa ammina è conosciuta come "love-drug" (droga dell'amore) perché è in grado di produrre le analoghe sensazioni che prova una persona quando è pervasa da sentimenti di gioia e amore, e si pensa sia responsabile degli effetti afrodisiaci che il cioccolato possiede.

La *PEA*, proprio come le anfetamine, ha la proprietà di inibire l'appetito, ritardare la comparsa della fatica, modificare l'umore e favorire le funzioni mentali. Tutto ciò è legato all'abilità dell'ammina di modulare la **trasmissione dopaminergica**. A differenza delle anfetamine, la *PEA* non sviluppa né tolleranza, né dipendenza, né produce effetti collaterali, pertanto trova applicazione in campo medico per la cura di forme depressive.

Composants chimiques	mmol/kg
Composants donnant un goût amer	
Théobromine	63 564,4
Caféine	5218,3
L-leucine	6990,4
L-phénylalanine	4761,5
L-valine	4049,8
L-tyrosine	2719,6
L-isoleucine	2716,4
L-arginine	723,4
L-lysine	578
L-histidine	568,4
Composants donnant un goût acide	
Acide citrique	30974,9
Acide acétique	16 717,7
Acide lactique	9260,7
Acide malique	3581,2
Acide oxalique	2810,5
Acide succinique	1725
Phosphosérine	744,7
Phosphoéthanolamine	298,5
Composants donnant un goût umami	
Acide glutamique	1781,8
Acide aspartique	1357,9

Composants chimiques	mmol/kg
Composants donnant goût amer et astringent	
Epicatéchine	8613,1
Catéchine	2363,9
Procyanidine B2	2082,8
Procyanidine C1	1628
Procyanidine B5	791,5
Acide gamma-aminobutyrique	5011,4
Acide aspartique	1615,6
Acide bêta-amino-isobutyrique	1349,3
3-hydroxy-L-tyrosine	851,5
Quercétine-3-O-alpha-L-arabinopyranoside	497,5
Quercétine-3-O-alpha-D-glucopyranoside	101,4
Composants donnant un goût sucré	
Sucrose	8827,3
L-alanine	6115,5
Fructose	4834,1
L-proline	2475
L-thréonine	1899
L-sérine	1823,4
Glucose	1669,1
Galactose	1110,1
Raffinose	1068,3
Glycine	873
Stachyose	533,6
Bêta-alanine	339

Tabella 2: composti presenti nelle fave fermentate di "Theobroma Cacao"

1.8.4 – La serotonina

La serotonina è un neurotrasmettitore monoamminico sintetizzato nel sistema nervoso centrale e in alcune cellule dell'apparato gastrointestinale. È presente inoltre ad alte concentrazioni a livello della parete intestinale e nel sangue, più precisamente nelle piastrine. ^[15]

Il cioccolato non contiene sufficiente serotonina per avere effetti percepibili, ma è l'amminoacido che contiene, il triptofano, che viene metabolizzato dal corpo umano a serotonina. Il triptofano si converte in 5-idrossitriptofano grazie all'azione dell'enzima triptofano-idrossilasi; il 5-idrossitriptofano così prodotto viene decarbossilato a serotonina per opera dell'amminoacido decarbossilasi.

La serotonina interviene nel controllo dell'appetito e del comportamento alimentare, determinando una precoce comparsa del senso di sazietà, una minore assunzione di carboidrati a favore delle proteine e una riduzione, in genere, della quantità di cibo ingerita. ^[16] Non a caso, molte persone che lamentano un calo dell'umore avvertono un bisogno importante di dolci (ricchi di carboidrati semplici) e di cioccolato.

L'ingestione di molti carboidrati stimola la secrezione di insulina, un ormone che facilita l'ingresso dei nutrienti nelle cellule, compresi gli amminoacidi ad eccezione del triptofano. Di conseguenza, dopo la massiccia secrezione insulinica in risposta all'iperglicemia, i livelli relativi di triptofano nel sangue aumentano (perché calano quelli degli altri aminoacidi). L'aumento relativo del triptofano agevola il suo passaggio nel sistema nervoso centrale, dove incrementa la produzione di serotonina. Con un meccanismo analogo, i livelli di serotonina aumentano anche durante uno sforzo fisico (il che spiega in parte gli effetti antidepressivi dell'attività motoria); l'eccessivo aumento di questa sostanza durante uno sforzo strenuo e prolungato è coinvolto nella percezione della fatica. ^[17]

La serotonina non ha solo importanti effetti fisiologici, ma è anche il precursore della melatonina, ormone con elevata attività sedativa e ipnotica. La produzione e la secrezione della melatonina sono influenzate dalla luce e dal buio: di notte c'è un aumento della quantità di ormone, mentre durante il giorno la sintesi e il rilascio sono molto ridotti. ^[18]

1.8.5 – Alcaloidi presenti nel cacao

Il cacao, analogamente al caffè, al tè e al guaranà, viene definito alimento “nervino” perché contiene sostanze bioattive che sono in grado di influenzare il comportamento umano. Le sostanze che caratterizzano la composizione chimica degli alimenti nervini appartengono alla classe degli alcaloidi purinici (o metilxantine) e sono la caffeina, la teobromina e la teofillina. La caffeina, tuttavia, nel cioccolato è presente in quantità limitate se paragonate a quella del caffè e del tè. Il maggior alcaloide purinico del cacao è la **teobromina**, che deve il suo nome proprio al genere della pianta di cacao “*Theobroma cacao*”.

Gli alcaloidi purinici sono composti noti per la loro capacità di stimolazione del sistema nervoso: aumentano lo stato di veglia, la riduzione del senso di fatica, la concentrazione, migliorano la memoria visiva e verbale, i tempi di reazione, la soglia di attenzione, la capacità di risolvere i problemi e il controllo degli impulsi.

Tra le sostanze responsabili del buonumore che genera l’assunzione di cioccolato vi è l’**anandamide**, un lipide endogeno in grado di legarsi al recettore dei Cannabinoidi CB1, ossia allo stesso recettore attivato dal principio attivo della marijuana, il tetraidrocannabinolo, e quindi di produrre effetti sul tono dell’umore e sulle funzioni cognitive quali l’apprendimento e la memoria. L’anandamide sembra essere in grado di stimolare le percezioni sensoriali inducendo euforia, senso di soddisfazione e alterazione della cognizione del tempo.

Il cacao contiene, inoltre, il **salsolinolo** e la **salsolina**, alcaloidi dopamina-derivati che si formano naturalmente anche nel cervello dei mammiferi. Sono sostanze dopaminergiche che presentano diversi effetti neurofarmacologici che si concretizzano in un effetto antidepressivo. ^[19]

1.8.6 – Cacao e sistema cardiovascolare

Il cioccolato contiene dei flavonoidi (specialmente le catechine), appartenenti alla famiglia dei fenoli, che hanno un potente effetto antinfiammatorio e antiossidante con un’azione sul sistema cardiovascolare e sulla pressione

arteriosa.^[20] Recenti studi hanno dimostrato che il consumo quotidiano di cioccolato fondente per un periodo di soli quattordici giorni è associato a una diminuzione della pressione arteriosa compresa tra 1.8 e 5.1 mmHg.^[21]

Altri studi hanno dimostrato che il consumo di cacao aumenta la dilatazione dell'arteria brachiale, inibisce l'attivazione e la funzione delle piastrine e regola la produzione di ossido nitrico (NO). Pertanto, assumendo cioccolato periodicamente, il rischio di contrarre malattie coronarie e di avere un infarto del miocardio diminuisce significativamente.^[22] Tuttavia si può beneficiare di questi effetti solo se si esclude la presenza degli zuccheri semplici, i quali invece aumentano il rischio delle malattie sopracitate. Infatti, a causa del gusto molto amaro dei flavonoidi, la produzione di cioccolato subisce dei trattamenti aggressivi di adulterazione del gusto tramite l'aggiunta di aromi artificiali o di esaltatori di sapidità potenzialmente nocivi per la salute. Questi trattamenti rendono il cioccolato senza dubbio più gustoso ma, allo stesso tempo, più povero di antiossidanti e potenzialmente dannoso in funzione delle sostanze aggiunte.^[23]

1.9 – Limiti di legge

L'Unione Europea, la F.D.A. (*Food and Drug Administration*) e l'*Australian Food Standard Code* (ANZFA, 1998) hanno stabilito dei limiti per la quantità massima ammissibile di BAs nel pesce. Per quanto riguarda l'U.E., il combinato disposto del Regolamento (CE) n° 853 del 29 aprile 2004 e del Regolamento (CE) n° 2073 del 15 novembre 2005 indica che il valore massimo non superabile è di 100 ppm (su 9 campioni per un lotto non deve superarsi questo limite come tenore medio, con la possibilità che non oltre 2 campioni presentino valori compresi tra 100 e 200 ppm, e che nessun campione deve eccedere le 200 ppm). Se i pesci sono sottoposti a trattamento di maturazione enzimatica in salamoia, questi valori possono essere al massimo il doppio di quanto indicato per i prodotti freschi. I suddetti valori devono essere ottenuti tramite un piano di campionamento adatto al metodo MPN (numero più probabile), che dia cioè un valore statistico di probabilità, e quindi non il valore

realmente presente nel pesce. Queste norme criterio di sicurezza alimentare considerano l'istamina, e in quanto tale devono essere applicate ai prodotti della pesca ottenuti da specie ittiche associate a un valore elevato di istidina (in particolare a quelli appartenenti alle famiglie *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae*, *Scomberesocidae*). Si considera sia il prodotto primario (fresco, congelato, surgelato), sia i prodotti che abbiano subito un trattamento di maturazione enzimatica in salamoia. ^[8]

A nostra conoscenza non si ritrovano in letteratura valori di riferimento o massimi ammissibili sul contenuto di BAs nel cioccolato.

Bibliografia

- [1] A. Lonvaud-Funel, FEMS Microbiol. Lett. 199 (2001) 9.
- [2] R. J. Shakila, T. S. Vasundhara and K. V. Kumudavally, Food. Chem., 2001, 75, 255–259. T. Bauza, A. Blaise, F. Daumas and J. C. Cabanis, Chromatogr., A, 1995, 707, 373–379.
- [3] Chimica organica – Paula Y. Bruice – IV edizione – EdiSES.
- [4] Halasz et al., 1994; Lima & Glo'ria, 1999; Udenfriend, Lovenberg, & Sjoerdsma, 1959.
- [5] Riebroy, Benjakul, Visessanguan, Kijrongrojana, & Tanaka, 2004.
- [6] Özdestan & üren, 2009.
- [7] P. Yesudhasan, Mehdi Al-Zidjali, A. Al-Zidjali. Moza Al-Busaidi, A. Al-Waili, Nashwa Al-Mazrooei, Saoud Al-Habsi, Food Chem. 140, (2013), 777.
- [8] www.spvet.it/arretrati/numero-38/sgombroide.html
- [9] Bills, Hildrum, Scanlan, & Libbey, 1973.
- [10] C. Cantoni, L. Vallone; G.P. Pirolò, Article, Web of Science 1 (1996).
- [11] J. A. Sanchez, C. Ruiz-Capillas, Springer-Verlag, Eur Food Res Technol (2011).
- [12] *Studio del profilo amminico in prodotti innovativi a base di Thunnus thynnus* - Tesi di Dottorato - Università degli Studi di Napoli "Federico II" - Facoltà di Medicina Veterinaria (Dipartimento di Scienze Zootecniche e Ispezione degli alimenti).
- [13] *Le basi chimiche di una corretta alimentazione* - Colonna, Stefano, Folco, Giancarlo, Marangoni, Franca – 2013.
- [14] <http://www.my-personaltrainer.it/integratori/cacao-cioccolato1.html>
- [15] <http://www.sitri.it/serotonina/serotonina.html>
- [16] http://www.antiagingclub.it/Medicina/LA-SEROTONINA.html?RwPag=true&pagina_ID=266
- [17] *Sentimenti fragili e identità mascherate. Valutazioni biologiche e mediche.* Angelo Peluso, Sara Mariorenz.
- [18] http://lem.ch.unito.it/didattica/infochimica/2008_Cioccolato/ammine.htm
- [19] <http://dottoressadisessastella.docsite.it>

- [20] Serafini M, Bugianesi R, Maiani G, et al. *Plasma antioxidants from chocolate*. Nature 2003; 424:1013.
- [21] Taubert D, Berkels R, Roesen R, et al. *Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension*. J Am Med Assoc 2003; 290:1029-30.
- [22] Heiss C, Dejam A, Kleinbongard P, et al. *Vascular effects of cocoa rich in flavan-3-ols*. J Am Med Assoc 2003; 290:1030-1.
- [23] McShea A, Ramiro-Puig E, Munro SM, et al. *Clinical benefit and preservation of flavonols in dark chocolate manufacturing*. Nutr Rev 2008; 66:630-41.

Tab. 1: www.my-personaltrainer.it/nutrizione/ammine-biogene.html

Tab. 2: McShea A, Ramiro-Puig E, Munro SM, et al. *Clinical benefit and preservation of flavonols in dark chocolate manufacturing*. Nutr Rev 2008; 66:630-41.

Fig. 1: *Synthesis of biogenic amines* - Halasz et al., 1994).

Fig. 2/3: www.spvet.it/arretrati/numero-38/sgombroide.html