



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

ASPETTI POSITIVI E NEGATIVI DELLA
COTTURA DEI CIBI: IL CASO
DELL'ACRILAMMIDE

POSITIVE AND NEGATIVE ASPECTS OF COOKING
FOOD: THE CASE OF ACRYLAMIDE

TIPO TESI: compilativa

Studente:
ALESSIA DEL CONTE

Relatore:
PROF.SSA DEBORAH PACETTI

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

*A mia madre, il mio esempio di vita,
il mio punto di riferimento
da sempre e per sempre.*

ELENCO DELLE TABELLE.....	3
ELENCO DELLE FIGURE	4
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI	6
CAPITOLO 1 LA COTTURA E LE VARIE TECNICHE	8
1.1 LA PROPAGAZIONE DEL CALORE.....	8
1.2 TIPOLOGIE DI COTTURA ED I LORO EFFETTI.....	8
CAPITOLO 2 ALTERAZIONI ALIMENTARI A CARICO DEI NUTRIENTI.....	10
2.1 ALTERAZIONI FISICHE.....	10
2.1.1 Gelatinizzazione dell'amido.....	10
2.2 ALTERAZIONI BIOLOGICHE.....	11
2.2.1 Fermentazione degli zuccheri.....	11
2.2.2 Lipolisi.....	12
2.2.3 Putrefazione.....	12
2.2.4 Alterazioni biologiche dovute agli enzimi.....	12
2.3 ALTERAZIONI CHIMICHE.....	12
2.3.1 Irrancidimento dei grassi.....	13
2.3.2 Ossidazione del colesterolo.....	13
2.3.3 Caramellizzazione degli zuccheri.....	14
2.3.4 La reazione di Maillard.....	14
CAPITOLO 3 LA REAZIONE DI MAILLARD	15
3.1 PRIMA FASE	16
3.2 SECONDA FASE.....	17
3.2.1 Degradazione di Strecker.....	17
3.3 TERZA FASE.....	18
3.4 CONSEGUENZE DELLA REAZIONE DI MAILLARD.....	19
3.5 MAILLARD E L'ACRILAMMIDE.....	21
CAPITOLO 4 L'ACRILAMMIDE	22
4.1 ACRILAMMIDE NEGLI ALIMENTI.....	23
4.2 L'ACRILAMMIDE, DALLA SCOPERTA NEGLI ALIMENTI FINO AD OGGI...24	

4.2.1 Prima consultazione FAO/OMS sulle implicazione per la salute dell'acrilammide negli alimenti giugno 2002.....	24
4.2.2 Workshop on the formation of acrylamide in food 2003.....	25
4.2.3 Riunione del comitato congiunto FAO/OMS di esperti sugli additivi alimentari 2005.....	25
4.2.4 La FDE pubblica la prima toolbox sull'acrilammide nel 2006.....	26
4.2.5 Raccomandazione della commissione Europea del 2007.....	27
4.2.6 Colloquio scientifico EFSA sulla cancerogenicità dell'acrilammide.....	28
4.2.7 Codice di condotta per la riduzione di acrilammide negli alimenti 2009.....	29
4.2.8 Riunione del JECFA 2010.....	32
4.2.9 Monitoraggio EFSA 2007-2010.....	33
4.2.10 La prima valutazione provvisoria dei rischi da parte dell'EFSA.....	36
4.2.11 Opinione scientifica dell'EFSA sull'acrilammide negli alimenti 2015.....	39
4.2.12 Regolamento (UE) 2017/2158.....	41
4.2.13 Indagine scientifica su banca dati Scopus.....	47
CAPITOLO 5 MITIGAZIONE DELL'ACRILAMMIDE	49
5.1 IDROCOLLOIDI COME INIBITORI PER LA FORMAZIONE DI ACRILAMMIDE.....	49
5.2 VINACCE D'UVA UTILIZZATE PER LA RIDUZIONE DELL'ACRILAMMIDE.....	53
5.3 EFFETTO DEI PRETRATTAMENTI E DELLA FRITTURA AD ARIA SULLA GENERAZIONE DI ACRILAMMIDE.....	57
CONCLUSIONI	61
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	63
RINGRAZIAMENTI	65

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1: Tabella dei livelli di riferimento riportata nel Reg.2158	46-47
--	-------

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1: Illustrazione della prima fase della reazione di Maillard fino alla formazione del composto di Amadori.....	16
Figura 2: Esempi di aldeidi di Strecker e i loro aromi.....	17
Figura 3: Schema della reazione di Maillard.....	18
Figura 4: Formazione di acrilammide durante la reazione di Maillard.....	21
Figura 5: Influenza delle diverse strategie applicative nei compartimenti della toolbox...27	
Figura 6: Tabella di conclusioni del comitato JECFA sui margini di esposizione all'acrilammide.....	33
Figura 7: Livelli medi di acrilammide nelle categorie di alimenti analizzati durante il monitoraggio 2007-2009 con relativi numeri di campione (N).....	34
Figura 8: Limite medio minimo (LB) e limite medio massimo (UB) del contenuto di acrilammide nelle categorie di alimenti analizzati durante il monitoraggio EFSA 2007-2009 negli Stati Membri; N indica il numero di campioni pervenuti dagli Stati Membri.....	35
Figura 9 a: Prima parte dell'infografica EFSA.....	37
Figura 9 b: Seconda parte dell'infografica EFSA.....	38
Figura 10: Percentuale di riduzione dell'acrilammide in un sistema modello formato da 1mmol di glucosio, 1mmol di asparagina e 2 ml di acqua; (1) agar; (2) acido alginico; (3) gomma di carruba; (4) carragenina; (5) gelatina; (6) amido idrossipropil fosfato; (7) pectina; (8) gomma di Xhantan.....	50
Figura 11: Percentuale di riduzione dell'acrilammide in un sistema modello cracker; (1) agar; (2) acido alginico; (3) gomma di carruba; (4) carragenina; (5) gelatina; (6) amido idrossipropil fosfato; (7) pectina; (8) gomma di Xhantan.....	51
Figura 12: Percentuale di riduzione in patate fritte a bastoncino; (1) agar; (2) acido alginico; (3) gomma di carruba; (4) carragenina; (5) gelatina; (6) amido idrossipropil fosfato; (7) pectina; (8) gomma di Xhantan.....	52
Figura 13: Effetto di diverse concentrazioni di composti fenolici sulla formazione di acrilammide in modelli chimici contenenti 0.8mM ciascuno di asparagina e glucosio in 2.5 ml di acqua, e riscaldati a 180° per 60 minuti.....	55

Figura 14: Relazione tra i livelli di acrilammide e diverse soluzioni di immersione di polifenoli dell'uva per le patatine prima della frittura (tempo di immersione 60 minuti).....	56
Figura 15: Riduzione del contenuto di zucchero (g/100 g di patate fresche) dei campioni dopo i pretrattamenti e variazione degli zuccheri riducenti iniziali come conseguenza.....	59
Figura 16: Contenuto di acrilammide di patate fritte sottoposte ai diversi pretrattamenti studiati e al tempo di frittura di riferimento in olio e in aria.....	60

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

La conservazione degli alimenti è uno dei processi fondamentali della trasformazione agroalimentare che si prefigge come scopo primario quello di preservare nel tempo la commestibilità ed il valore nutritivo di un prodotto alimentare, prevenendone le alterazioni. Conservare significa conoscere le cause di alterazione degli alimenti e i fattori di crescita dei microrganismi, per cercare di contrastarne gli effetti.

Il corretto controllo di alcuni parametri fondamentali per le funzioni vitali dei batteri, quali la temperatura, il pH, l'attività dell'acqua e l'umidità permettono un maggiore controllo sulla produzione e conservazione dei cibi.

La temperatura è considerata come il parametro principale quando si parla di sicurezza alimentare in quanto influenza la maggior parte delle possibili alterazioni alimentari, siano esse fisiche, chimiche e biologiche. Proprio per questo motivo i trattamenti stabilizzanti gli alimenti più frequenti e conosciuti, quali la pastorizzazione e la sterilizzazione, sono basati sull'utilizzo delle temperature come fattore inibente la maggior parte delle alterazioni.

Una tecnica chiave per la conservazione degli alimenti, basata sull'utilizzo della temperatura, è la cottura. La cottura è quell'operazione effettuata al fine di trasformare, con delle tecniche diverse gli alimenti e renderli adatti al consumo, in quanto alcuni degli alimenti che si trovano tutti i giorni sulle tavole dei consumatori, non potrebbero essere mangiati se essa non esistesse, basta pensare ai cereali e al riso che, se non cotti, non sarebbero commestibili.

Gli effetti della cottura sono molteplici e possono essere sia positivi che negativi: tra quelli positivi troviamo sicuramente quello di garantire la sicurezza igienico-sanitaria degli alimenti, ma anche l'aumento della digeribilità di alcune sostanze contenute negli stessi e dei vari sapori che esse possiedono; tra gli effetti negativi oltre alla diminuzione del valore nutrizionale degli alimenti stessi c'è anche la possibilità che nell'alimento si inneschino delle reazioni degradative che, se non controllate portano alla formazione di alcune sostanze tossiche che possono nuocere alla salute del consumatore, come ad esempio nella reazione di Maillard.

La reazione di Maillard è considerata la reazione più importante a livello alimentare in quanto essa è la responsabile della formazione di tutti i composti che danno aroma e colore agli alimenti durante la cottura. Questa reazione oltre ad avere effetti positivi sulle qualità sensoriali dell'alimento, se non controllata può avere effetti indesiderati quali la formazione di sostanze tossiche come l'acrilammide; per questo motivo essa è al centro dei principali dibattiti sulla sicurezza degli alimenti fin dalla sua scoperta nel 1912. L'acrilammide, oltre ad essere una neurotossina, è stata classificata dall'AIRC (associazione italiana per la ricerca sul cancro) come potenziale cancerogeno nell'uomo (Dilumi W.K. et al). Ovviamente non tutte le tecniche di cottura causano la formazione di queste sostanze tossiche e lo scopo della tesi è proprio quello di analizzare le varie tecniche per portare il consumatore a fare una scelta consapevole delle modalità di cottura cercando di evitare gli aspetti negativi a cui esse sono collegate, ed esaltarne quelli positivi.

Capitolo 1

LA COTTURA E LE VARIE TECNICHE

La cottura consiste nella trasformazione di un alimento mediante trasferimento di calore agli alimenti modificandone le caratteristiche chimico-fisiche, variandone la struttura, la composizione e il valore nutrizionale.

1.1 LA PROPAGAZIONE DEL CALORE

Il calore si propaga spontaneamente dai corpi più caldi a quelli più freddi secondo modalità diverse:

-CONDUZIONE: tipica dei mezzi solidi, in cui il calore si propaga direttamente per contatto diretto tra le superfici (es. cottura in padella)

-CONVEZIONE: tipica dei mezzi fluidi, in cui la propagazione del calore implica spostamento di materia (es. frittura)

-IRRAGGIAMENTO: in cui le onde elettromagnetiche vengono assorbite dai corpi freddi e si propagano anche in assenza di materia (es. cottura nel forno a microonde).

Gli scopi di questa tecnica sono diversi e alcuni di questi sono molto importanti: rendere gli alimenti igienicamente sani e sicuri distruggendo eventuali batteri e microrganismi patogeni, migliorare la consistenza per favorire la digeribilità e la masticabilità ed esaltare il gusto e l'appetibilità, arricchendo sapori, odori e aromi.

1.2 TIPOLOGIE DI COTTURA ED I LORO EFFETTI

Esistono però, anche effetti negativi collegati alla cottura, come la formazione di sostanze tossiche, che sono da tenere sotto controllo in quanto possono influenzare in maniera più o meno grave la salute del consumatore. Altro effetto negativo della cottura è la diminuzione del valore nutrizionale degli alimenti che avviene modificando i nutrienti contenuti negli stessi quali carboidrati, grassi, proteine, vitamine e sali minerali.

Gli effetti, positivi o negativi che siano, dipendono strettamente da due fattori che sono la temperatura e il tempo di cottura. In base alle diverse combinazioni di questi due parametri e ai diversi metodi di propagazione del calore vengono classificate varie tipologie di cottura:

- Cottura al calore secco, in cui il mezzo di propagazione del calore è l'aria e le tecniche sono la cottura al forno con temperature che vanno dai 140° ai 250° C e la cottura alla griglia che utilizza più o meno le stesse temperature;
- Cottura in acqua, in cui il mezzo di propagazione del calore è, appunto, l'acqua e possiamo avere la bollitura e il blanching, che viene utilizzato soprattutto per i vegetali e che consiste in una veloce immersione degli alimenti in acqua bollente per 1-2 min allo scopo di disattivare gli enzimi in essi contenuti e prevenirne il deterioramento, entrambe con temperature di 100° C circa;
- Cottura al vapore il cui mezzo di propagazione è il vapore e può avvenire con o senza pressione, ma la temperatura è sempre di circa 100° C;
- Cottura nei grassi, il cui mezzo di propagazione del calore è un olio o un grasso e possiamo avere la frittura per immersione o la frittura in padella e le temperature variano in base all'olio/grasso che si utilizza, questo perché ogni olio ha un punto di fumo diverso, cioè una temperatura oltre la quale esso inizia a bruciare e a produrre sostanze tossiche. Queste temperature vanno dai circa 170° C per il burro, circa 200° per l'olio EVO fino ai circa 260° degli olii di palma e delle margarine vegetali;
- Cottura al microonde il cui mezzo di propagazione, solitamente, sono le molecole di acqua nell'alimento.

I tempi di cottura, invece, non sono parametri ben definiti ma sono diversi in base alla matrice alimentare che si sta trattando, ad esempio il tempo di cottura a vapore utilizzata per cuocere un alimento di tipo vegetale come i piselli, è molto inferiore a quello utilizzato per cuocere un pezzo di carne, cioè un alimento di origine animale. Quindi, le combinazioni delle variabili tempo/temperatura sono da valutare in maniera diversa in base all'alimento di cui si sta trattando e alle conseguenze che questi possono avere sul prodotto finale, per quanto riguarda le perdite di valore nutrizionale e le sostanze che possono formarsi.

Capitolo 2

ALTERAZIONI ALIMENTARI A CARICO DEI NUTRIENTI

L'alterazione di un alimento deve essere stabilita su basi scientifiche, utilizzando protocolli scientifici in grado di valutare se sono avvenute modificazioni chimiche, fisiche o biologiche nella matrice alimentare; è da tener conto che alcuni fattori considerati alterativi per un alimento possono essere considerati del tutto normali o addirittura pregi di un altro alimento (es. muffa nella carne è un'alterazione molto grave nei formaggi è desiderata). Le cause responsabili delle alterazioni alimentari possono essere:

- **FISICHE:** esse fanno la loro comparsa durante la conservazione o trasformazione dei prodotti ma non pregiudicano la commestibilità dello stesso (es. bruciature da freddo nei vegetali);
- **BIOLOGICHE:** sono le più frequenti dovute all'azione di enzimi, parassiti e allo sviluppo di microrganismi;
- **CHIMICHE:** si manifestano nel corso della conservazione e non sono dovute all'azione di enzimi ma a reazioni chimiche che si sviluppano pregiudicando la sicurezza dell'alimento;

2.1 ALTERAZIONI FISICHE

Generalmente non compromettono l'igiene sanitaria degli alimenti ma sono preoccupanti perché di solito precedono le alterazioni di tipo chimico. Questi fenomeni riguardano diverse sostanze quali zuccheri, proteine, sostanze volatili, Umidità degli alimenti, rottura dell'emulsione per quanto riguarda sistemi dispersi quali schiume ed emulsioni.

2.1.1 Gelatinizzazione dell'amido

Tra le alterazioni di tipo fisico la più preoccupante dal punto di vista commerciale è la gelatinizzazione dell'amido, in quanto esso riveste particolare importanza nell'industria alimentare come additivo addensante che si può ritrovare in tantissimi prodotti alimentari.

L'amido in acqua subisce un cambiamento fisico, in seguito a riscaldamento, che avviene già a temperature di 50-55°C, i granuli si idratano e progressivamente si rigonfiano, incrementando la viscosità del sistema a cui segue la rottura della struttura, con la fuoriuscita e la parziale solubilizzazione del materiale amilaceo nell'acqua, fino a formare una soluzione detta "salda d'amido", queste molecole di amido gelatinizzato sono più facilmente idrolizzabili da parte degli enzimi quali alfa e beta amilasi. Per raffreddamento la salda d'amido si trasforma in un gel, in grado di trattenere efficacemente l'acqua, e per successivo invecchiamento si trasforma in amido retrogradato. Questo fenomeno può ridurre la digeribilità dell'amido e contribuisce a rendere raffermi il pane e altri prodotti da forno. L'amido deriva da diverse piante quali mais, legumi, frumento... e in ognuna di queste non ha la stessa composizione; l'amido è composto da due polimeri del glucosio che sono l'amilosio e l'amilopectina, presenti in rapporti percentuali diversi in base alla sua provenienza (es. legumi 30% amilosio/70% amilopectina, mais waxy 1%/99%). La suscettibilità dell'amido nei confronti della gelatinizzazione è data maggiormente dall'amilopectina, quindi amidi che contengono più amilopectina sono più alterabili di quelli con maggior presenza di amilosio.

2.2 ALTERAZIONI BIOLOGICHE

Sono le alterazioni più frequenti e possono essere dovute all'azione degli enzimi già presenti naturalmente negli alimenti, all'azione dei parassiti che nel corso della conservazione entrano in contatto con l'alimento e allo sviluppo di microrganismi responsabili dei fenomeni putrefattivi. Per quanto riguarda le alterazioni dovute a microrganismi le sostanze nutritive più attaccate sono gli zuccheri, attraverso le fermentazioni, i lipidi con la lipolisi e le proteine con la putrefazione.

2.2.1 Fermentazione degli zuccheri

I microrganismi che entrano in contatto con gli zuccheri causano diversi tipi di fermentazioni in base al prodotto finale, che non sempre sono considerate negative, basta pensare alla fermentazione alcolica che viene sfruttata nell'industria enologica o la fermentazione omo ed eterolattica sfruttata nelle industrie casearie nella produzione di formaggi e latti fermentati (tipo kefir).

2.2.2 Lipolisi

Per i lipidi, l'alterazione è detta lipolisi, è meno rilevante di quella che avviene per cause chimiche, infatti l'effetto causato dai microrganismi è la formazione di acidi grassi liberi a catena corta responsabili, in alcuni casi di odori e sapori sgradevoli, in altri di composti con odori gradevoli, quando questi si esterificano con gli zuccheri della frutta (es. butirrato di etile, odore tipico dell'ananas e isovalerato di etile, odore tipico della fragola).

2.2.3 Putrefazione

Infine, per gli alimenti ricchi di proteine quali carne, pesce e legumi i microrganismi causano dei fenomeni di tipo putrefattivo che non sono mai graditi nei prodotti di origine animale nei quali prende il nome di putrefazione superficiale o profonda. Dalla demolizione delle proteine si originano peptidi, peptoni, ed in particolare amminoacidi liberi che tramite decarbossilazione vengono ulteriormente scissi in ammine quali putrescina, cadaverina e istamina. La proteolisi può essere anaerobica, ad opera di batteri anaerobici che portano alla formazione di odori sgradevoli, o aerobica in cui non si ha mai la comparsa di odori sgradevoli, infatti a livello organolettico queste alterazioni sono impercettibili.

2.2.4 Alterazioni biologiche dovute agli enzimi

Per quanto riguarda le alterazioni di tipo biologico causate dagli enzimi, l'attenzione deve spostarsi sugli alimenti di origine vegetale, soprattutto quelli ricchi di composti fenolici quali l'olio di oliva, in cui si ha la formazione di composti colorati non desiderabili dal punto di vista del consumatore quando si tratta di prodotti freschi, mentre questo tipo di alterazione è desiderata in prodotti quali frutta secca e tabacco in quanto arricchiscono il prodotto di sostanze aromatiche gradevoli.

2.3-ALTERAZIONI CHIMICHE

Le alterazioni chimiche possono essere di due tipi: non ossidative e ossidative. Le alterazioni chimiche ossidative (che avvengono in presenza di ossigeno) sono fenomeni non enzimatici che possono coinvolgere vari tipi di molecole ma le più frequenti sono quelle che avvengono a carico dei lipidi come l'irrancidimento dei grassi, l'ossidazione del colesterolo e la degradazione di pigmenti naturali e vitamine.

Invece, le reazioni chimiche di natura non ossidativa sono principalmente due: la caramellizzazione degli zuccheri e la reazione di Maillard.

2.3.1 Irrancidimento dei grassi

L'irrancidimento è l'alterazione più importante a cui vanno incontro i grassi, gli oli e gli altri lipidi, questa è dovuta all'assorbimento di ossigeno da parte degli acidi grassi liberi o esterificati, ed è molto preoccupante nelle industrie alimentari che producono oli di origine vegetale. I trigliceridi e gli acidi grassi insaturi si ossidano e formano gli idroperossidi, cioè prodotti primari di ossidazione, successivamente gli idroperossidi vanno incontro ad un'ulteriore ossidazione diventando prodotti secondari di ossidazione come aldeidi, chetoni, idrocarburi e alcoli. L'irrancidimento dei grassi è una reazione di tipo radicalico, per questo motivo non può essere bloccata ma solo controllata attraverso il rallentamento della degradazione degli idroperossidi, quando si è ancora nella prima fase di ossidazione. Questa reazione, negli oli, viene controllata spesso in quanto il n di perossidi è uno dei parametri di qualità degli stessi; l'unico inconveniente è che da questo controllo un numero di perossidi troppo basso potrebbe indicare che la reazione sia già arrivata ai prodotti secondari di ossidazione, per questo motivo è possibile un metodo di approccio più semplice fatto in laboratorio attraverso uno strumento detto "rancimat". Questo strumento è in grado di provocare un'ossidazione forzata immettendo le 3 condizioni ideali per l'ossidazione, calore, luce e aria; l'obiettivo di questo test è quello di valutare il tempo di resistenza dei vari campioni, di cui quello che ha resistito meno si trova in uno stadio già avanzato di ossidazione. La reazione di ossidazione è molto complessa e dipende soprattutto dalle caratteristiche e dalle condizioni del substrato. I fattori che influenzano l'ossidazione sono diversi, alcuni di questi sono il grado di insaturazione che influenza negativamente sull'ossidazione, grado di esterificazione in quanto gli acidi grassi liberi sono molto meno resistenti all'ossidazione a differenza di altri composti quali trigliceridi, la temperatura, la presenza di sostanze antiossidanti o pro-ossidanti e altri.

2.3.2 Ossidazione del colesterolo

I prodotti di ossidazione del colesterolo sono i "COPs", sostanze ritenute cancerogene, e l'alimento che risulta essere il più ricco è la polvere di uovo liofilizzata utilizzata nelle pasticcerie e nei pastifici industriali, ma anche altri prodotti quali biscotti per l'infanzia, formaggio grattugiato in busta, lattini per l'infanzia e carni fresche o confezionate.

2.3.3 Caramellizzazione degli zuccheri

La caramellizzazione degli zuccheri è un fenomeno di tipo non enzimatico che coinvolge la frazione zuccherina degli alimenti; gli zuccheri attraverso diversi tipi di reazione, quali isomerizzazione, disidratazione e ossidazione, producono dei composti volatili e pigmenti colorati che danno all'alimento una colorazione di tipo brunoastro. Le condizioni per cui questo tipo di reazione possa avvenire sono le alte temperature, la bassa attività dell'acqua ed un elevato contenuto zuccherino.

2.3.4 La reazione di Maillard

La reazione di Maillard è una reazione chimica di tipo non ossidativo che avviene tra uno zucchero riducente e un amminoacido, precisamente tra il gruppo carbossilico dello zucchero e il gruppo amminico dell'amminoacido; la reazione prende il nome dal suo scopritore Louis Camille Maillard, chimico e medico francese, che nel 1912 descrisse per primo questo tipo di reazione importantissima quando parliamo di cottura dei cibi, in quanto porta alla formazione di composti chimici volatili desiderati nella maggior parte degli alimenti, poiché risultano essere odori molto gradevoli. Alcune classi di composti volatili generati durante la reazione di Maillard sono le pirazine a cui sono associati gli odori di cotto, arrostito, tostato o anche i furani e i furanoni a cui sono associati odori dolci o pungenti come il caramello e tanti altri. Altra conseguenza della reazione di Maillard è la formazione di sostanze colorate/brune, le melanoidine che possono essere desiderabili o non desiderabili in base all'alimento in cui compaiono. Oltre alla formazione di sostanze "buone", la reazione di Maillard, ha anche conseguenze negative in quanto porta alla formazione di sostanze considerate cancerogene quali ammine eterocicliche e acrilammide, ma anche, la perdita di componenti nutrizionali utili per l'organismo quali amminoacidi essenziali, che l'organismo non riesce a sintetizzare ma può assumerli solo con la dieta e le vitamine, di fondamentale importanza per tanti processi metabolici dell'organismo.

Capitolo 3

LA REAZIONE DI MAILLARD

Come già detto, la reazione di Maillard è uno dei fenomeni più importanti quando si parla di cottura degli alimenti, considerata tale sia per i suoi aspetti negativi che per quelli positivi. La reazione di Maillard, anche detta reazione di imbrunimento non enzimatico, si forma negli alimenti quando in questi sono presenti zuccheri riducenti, cioè zuccheri che in soluzione hanno la caratteristica di ossidarsi come il glucosio e il fruttosio, e proteine o derivati come peptidi, amminoacidi e ammine. Le condizioni per cui questa reazione possa avvenire sono temperature elevate, bassa attività dell'acqua, presenza di metalli e pH leggermente basico. In realtà la comprensione di questa reazione e la sua suddivisione in fasi, non si deve solo a Maillard in prima persona, ma anche a John Edward Hodge, chimico americano conosciuto proprio perché fu il primo a stabilire i meccanismi con cui la reazione di Maillard avviene. Ancora oggi il documento di riferimento per la comprensione di questa reazione è l'articolo "Chimica delle reazioni di imbrunimento nei sistemi modello", redatto da Hodge e pubblicato nel 1953 nel "Journal of agricultural and food chemistry" in cui viene studiata la chimica delle reazioni di imbrunimento non enzimatiche come la reazione di Maillard. In quest'articolo viene spiegato come negli alimenti, la reazione di Maillard è una serie di reazioni successive, che possono verificarsi contemporaneamente e che Hodge divide in tre diverse fasi, ognuna caratterizzata dalla formazione di certi prodotti detti "marker" che indicherebbero la gravità del trattamento termico e quindi la perdita del valore nutritivo dell'alimento stesso (Bastos D.H.M. et al). La suddivisione in tre fasi è, ancora oggi, conosciuta come "schema di Hodge" che spiega, appunto, come le diverse fasi si susseguono nella reazione. Lo schema di Hodge divide la reazione in 3 fasi principali ognuna caratterizzata da più reazioni:

1. FASE INIZIALE: condensazione del gruppo carbonilico dello zucchero con il gruppo amminico dell'amminoacido e riarrangiamento di Amadori;
2. STADIO INTERMEDIO: comprende la deidratazione dello zucchero, la sua frammentazione e la degradazione degli amminoacidi;
3. STADIO FINALE: condensazione aldolica, polimerizzazione dell'aldeide con l'ammina e formazione di composti eterociclici azotati.

Lo studio di questa reazione è molto complesso, in quanto essa comprende una serie di reazioni che avvengono in base alle condizioni dell'ambiente in cui si trova come pH, temperatura e umidità, inoltre, lo studio di questa reazione è sempre stato osservato su sistemi modello in laboratorio ma mai negli alimenti, che sono già di per sé sistemi molto complessi. Di seguito è riportata una spiegazione semplificata delle fasi della reazione.

3.1 PRIMA FASE

La prima fase è caratterizzata dalla condensazione del gruppo carbonilico dello zucchero riducente con il gruppo amminico di un amminoacido con la formazione di un'immina nota come base di Schiff; questo composto essendo molto reattivo è di conseguenza anche molto instabile, quindi subisce subito un riarrangiamento dei doppi legami che porta alla formazione di aldossilammina, nota come composto di Amadori o chetosilammina, nota come composto di Heyns a seconda che lo zucchero sia rispettivamente un aldoso o un chetoso. Questi composti a differenza delle basi di Schiff sono altamente stabili e parte di essi può rimanere fino alla fine della reazione. È importante dire che in questa fase iniziale della reazione non si ha la comparsa né di composti colorati né di composti che danno un aroma al prodotto, ma si ha già una notevole perdita di lisina.

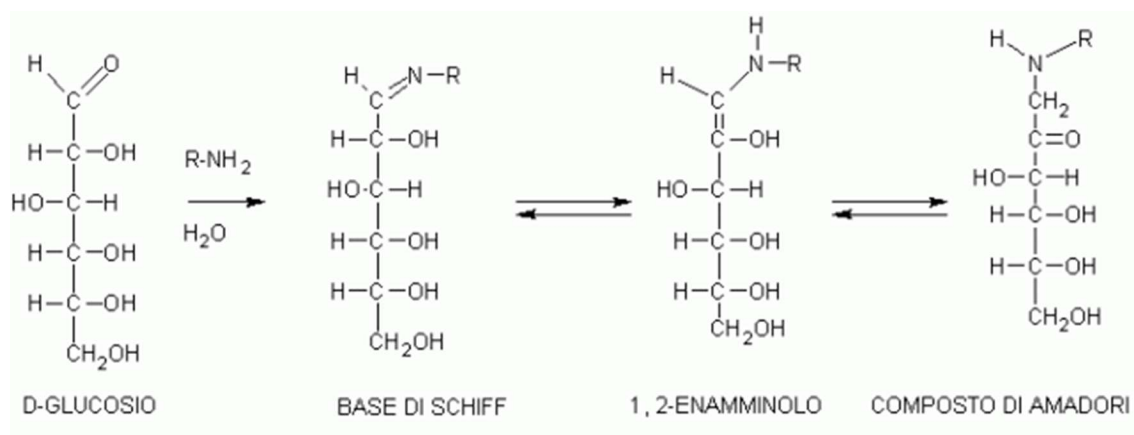


Figura 1 *Illustrazione della prima fase della reazione di Maillard fino alla formazione del composto di Amadori. (fonte: <https://www.agrodolce.it/2016/02/23/come-funziona-la-reazione-di-maillard/>)*

3.2 SECONDA FASE

Nella seconda fase della reazione i prodotti di Amadori e di Heyns possono subire una serie di reazioni complesse perché influenzate da fattori come il pH e la temperatura. Esempi di reazione che possono avvenire in questa fase sono enolizzazione, deaminazione, disidratazione e frammentazione, tutte reazioni che danno origine a prodotti contenenti uno o più gruppi carbonilici. Questi composti carbonilici possono poi seguire due tipi di vie:

- Possono reagire con i gruppi amminici degli amminoacidi liberi, reazione nota come DEGRADAZIONE DI STRECKER;
- Possono condensare e formare le melanoidine, quindi proseguire con la terza fase della reazione.

3.2.1. Degradazione di Strecker

La reazione di Strecker è, forse, la parte più importante di tutta la reazione di Maillard in ambito alimentare perché, è la reazione responsabile della formazione di tutti quei composti che danno composti con particolari aromi. Essa implica una deaminazione ossidativa ed una decarbossilazione che portano alla formazione di aldeidi note come “aldeidi di Strecker”.

L'aroma che ne risulta dipende dall'amminoacido che reagisce nella reazione (Fig. 2).



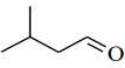
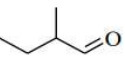
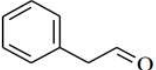
Ammino acido precursore	Aldeide di Strecker			Valore di soglia ($\mu\text{g/l}$, acqua)
	Nome	Struttura	Aroma	
Gly	Formaldeide	CH_2O	Urina di topo, estereo	50×10^3
Ala	Etanale		Acuto, penetrante, fruttato, dolce	15
Val	Metilpropanale		Di malto	0.7
Leu	3-Metilbutanale		Di malto	0.4
Ile	2-Metilbutanale		Di malto	1.3
Phe	2-Feniletanale		Floreale, di miele	4

Figura 2 Esempi di aldeidi di Strecker e loro aromi.

3.3 TERZA FASE

Nell'ultima fase della reazione si ha il maggiore effetto sul grado di colorazione, e quindi di imbrunimento dell'alimento. In questo stadio si ha la condensazione dei prodotti che si sono formati in precedenza per formare dei composti molto conosciuti, le melanoidine, sostanze insolubili che hanno un colore che va dal giallo al marrone scuro.

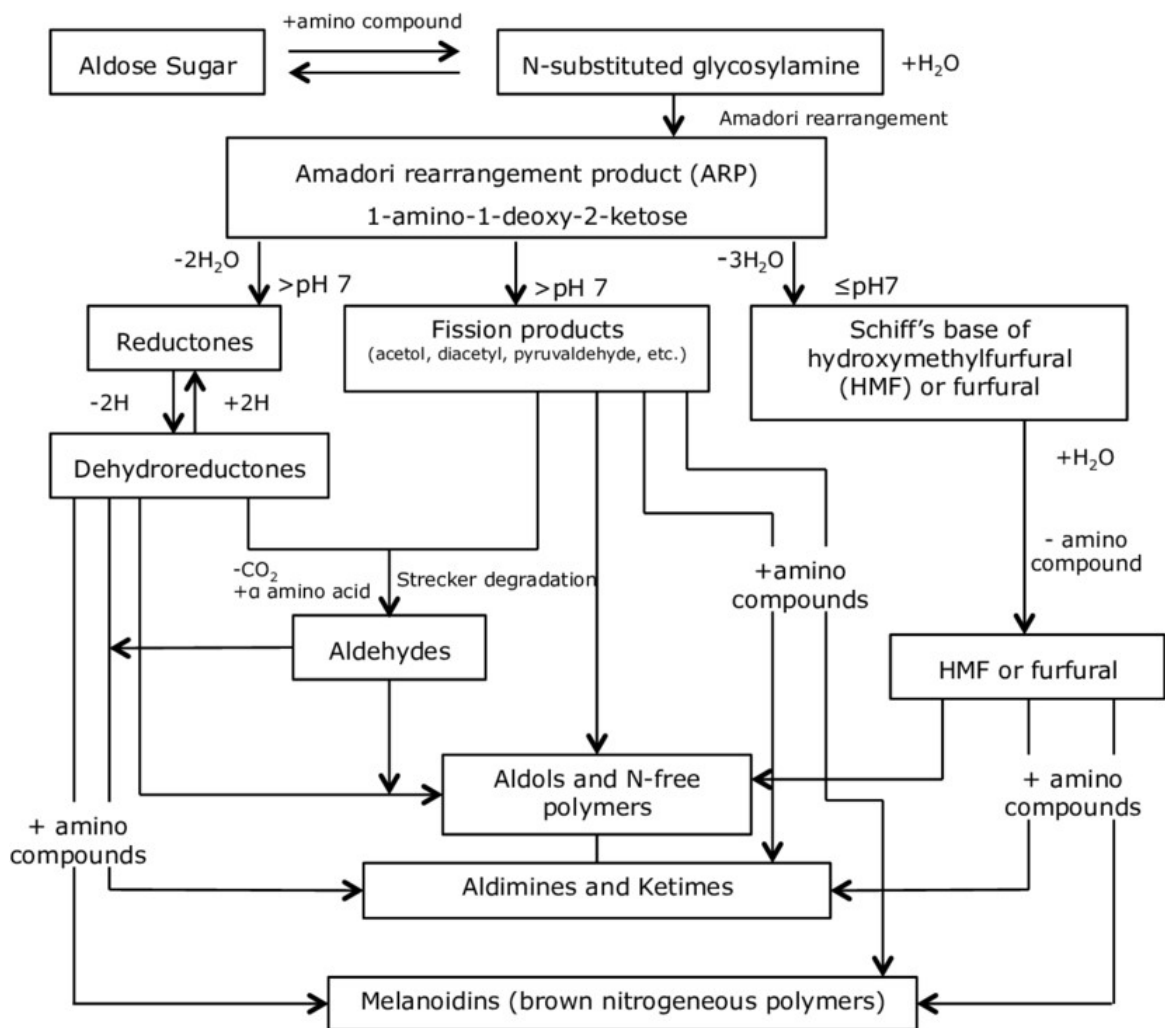


Figura 3 Schema della reazione di Maillard (fonte: <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/7/262/htm>)

3.4 CONSEGUENZE DELLA REAZIONE DI MAILLARD

La reazione di Maillard porta alla formazione di moltissime sostanze che possono essere desiderate o non desiderate in base al prodotto che si prende in considerazione:

- Pigmenti di colore bruno, quali le melanoidine che sono desiderate nei prodotti da forno e arrostiti ma indesiderate in alimenti con colorazioni deboli o di altri colori come liofilizzati, sughi pronti e latte condensato;
- Sostanze volatili che sono potenti sostanze aromatiche e che accompagnano in maniera gradevole la cottura al forno, la frittura e la tostatura ma non sono sempre graditi in prodotti che vengono sottoposti a pastorizzazione o sterilizzazione per essere conservati;
- Sostanze aromatizzanti di sapore amaro, gradite nella produzione del caffè e indesiderate in carne o pesce alla griglia;
- Sostanze ritenute cancerogene come l'acrilammide e le ammine eterocicliche;
- Composti antiossidanti che si formano nel corso della reazione detti reduttoni per le loro proprietà altamente riduttive che possono contribuire alla stabilizzazione degli alimenti contro il deterioramento ossidativo.

Oltre alla formazione di tutte queste sostanze con la reazione di Maillard, che avviene a temperature abbastanza elevate, si ha la perdita di alcune sostanze termolabili come alcuni amminoacidi e vitamine, entrambi componenti di fondamentale importanza degli alimenti in quanto essenziali, cioè sostanze che l'organismo deve assumere quotidianamente con la dieta poiché non è capace di sintetizzarli.

La reazione di Maillard, quindi, oltre agli effetti negativi prevede anche effetti positivi che sono al centro di molte discussioni da parte della comunità scientifica, questo perché gli effetti positivi non sono legati solo all'aroma e al sapore che i prodotti della reazione conferiscono all'alimento, ma anche perché alcuni di essi hanno proprietà che possono essere addirittura sfruttate nella lavorazione degli alimenti stessi.

Come citato da Majid Nooshkam in un articolo pubblicato sulla rivista "Food Chemistry", tra queste proprietà abbiamo l'azione antiossidante di alcuni prodotti di reazione tra cui i reduttoni, molecole prodotte per disidratazione di composti di Amadori/Heyns, i composti di Amadori stessi, le premelanoidine e le melanoidine. Questi composti svolgono un'attività antiossidante

attraverso diversi meccanismi, uno dei quali è quello di neutralizzare i radicali liberi (ad esempio le specie reattive dell'ossigeno o ROS), molecole particolarmente reattive che provocano stress ossidativo alle cellule dell'organismo fino a causarne danni ben più gravi. Per questo motivo, l'attività antiossidante di questi prodotti di reazione risulta particolarmente interessante dal punto di vista tecnologico, poiché questi si formano naturalmente durante la lavorazione degli alimenti.

Altra proprietà molto importante dei prodotti di reazione di Maillard è quella Anti-Browning, cioè una proprietà che blocca l'imbrunimento enzimatico di frutta e verdure crude. Quest'azione viene espletata attraverso la riduzione o l'inibizione completa degli enzimi coinvolti nella reazione di imbrunimento come le polifenolossidasi (PPO), le perossidasi e le tirosinasi da parte di alcuni prodotti della reazione di Maillard derivati dalla reazione, ad esempio, del glucosio con l'amminoacido cisteina.

Altro argomento che ha suscitato grande interesse nei ricercatori è quello che riguarda le melanoidine, le sostanze che possono formarsi nell'ultima fase della reazione di Maillard e che conferiscono il tipico aspetto bruno agli alimenti cotti. Nel 2007 è stato pubblicato un articolo riguardante le proprietà funzionali delle melanoidine da José A. Rufián-Henares e Francisco J. Morales. In questo articolo viene affermato che le melanoidine oltre ad avere proprietà antiossidanti, come già detto in precedenza, hanno anche attività antimicrobiche e antipertensive.

Per quanto riguarda l'attività antimicrobica, queste molecole inibiscono lo sviluppo dei microorganismi sottraendo loro gli elementi nutritivi di cui hanno bisogno per moltiplicarsi quali amminoacidi, zuccheri e proteine, in quanto le melanoidine sono il risultato di complessi molecolari costituiti proprio da questi tre elementi.

Per l'attività antipertensiva, il ruolo delle melanoidine è quello di inibire un enzima detto ACE, zinco dipendente, che converte l'angiotensina I, enzima regolatore della pressione sanguigna e del metabolismo di acqua e sale, in angiotensina II che, invece, è un potente vasopressore, cioè una sostanza capace di provocare un aumento della pressione sanguigna. Il meccanismo d'azione non è attualmente noto, ma si pensa che l'attività inibitoria delle melanoidine derivi dalle loro proprietà chelanti verso i metalli, cioè esse hanno la capacità di combinarsi con questi rendendoli indisponibili per altre reazioni; l'enzima ACE, come già detto, è zinco-dipendente, quindi se le melanoidine si combinano con questo metallo, lo sottraggono all'enzima inibendolo automaticamente.

L'obiettivo, quindi, della maggior parte degli studi sulla reazione di Maillard degli ultimi anni, è stato quello di cercare il giusto equilibrio tra gli effetti positivi e negativi della reazione

proprio per sfruttare quelli positivi e controllare lo sviluppo di quelli negativi, in quanto la maggior parte delle sostanze tossiche vengono prodotte nelle fasi avanzate della reazione e non nelle fasi iniziali, che invece potrebbero essere sfruttate per altri scopi tecnologici.

3.5 MAILLARD E L'ACRILAMMIDE

Come si è già detto in precedenza una delle conseguenze della reazione di Maillard è la formazione di sostanze cancerogene come l'acrilammide.

L'acrilammide è l'amide corrispondente dell'acido acrilico e si forma nella seconda fase della reazione di Maillard, precisamente nella degradazione di Strecker, quando i gruppi carbonilici reagiscono con l'amminoacido asparagina secondo lo schema riportato di seguito:

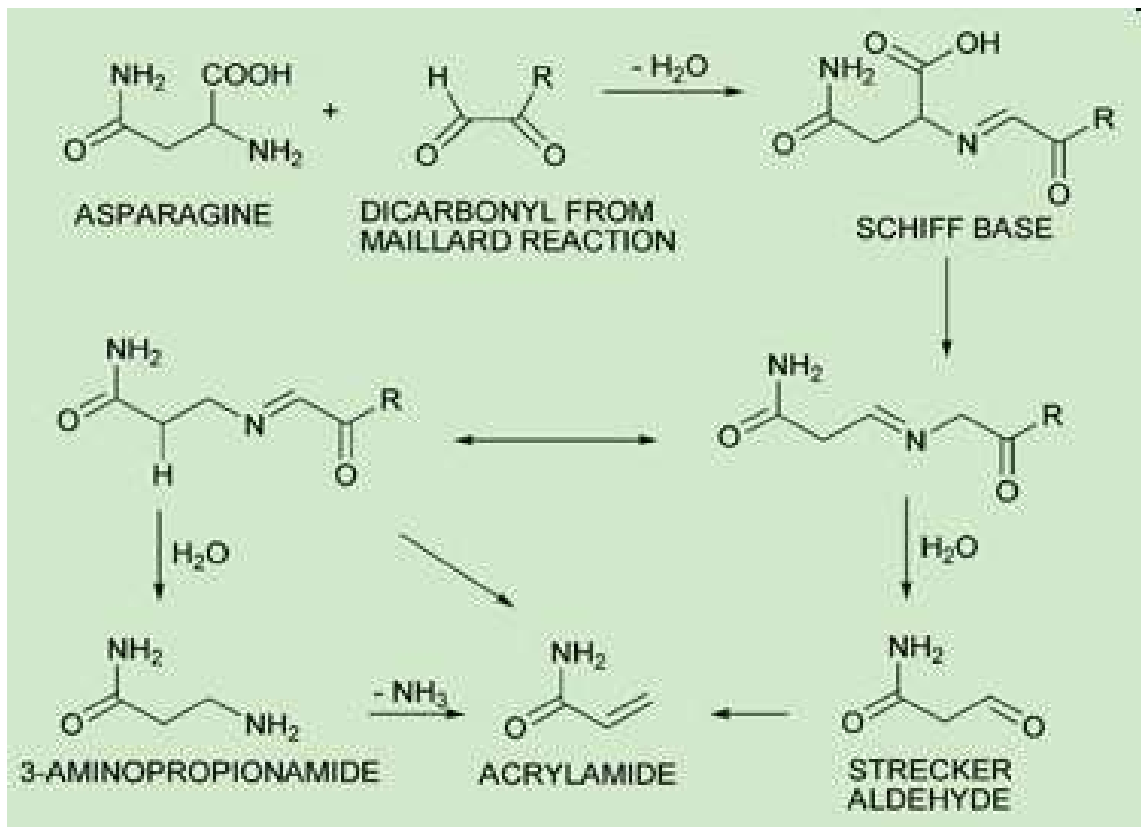


Figura 4 Formazione di acrilammide durante la reazione di Maillard. (fonte: <https://slideplayer.it/slide/10341123/>)

Capitolo 4

L'ACRILAMMIDE

L'acrilammide è una molecola di basso peso molecolare con una proprietà molto importante: è una molecola molto reattiva, cioè è capace di legarsi facilmente ad altre molecole. Questa proprietà viene sfruttata in una varietà infinita di applicazioni attraverso la polimerizzazione delle stesse molecole, in altre parole le molecole di acrilammide vengono fatte reagire tra loro per formare le poliacrilammidi.

Le poliacrilammidi formano una famiglia di polimeri molto solubili in acqua e altamente stabili sfruttate per usi molto diversi tra loro, ad esempio vengono utilizzate per il trattamento delle acque reflue sfruttando le loro proprietà coagulanti-flocculanti, come addensanti per aumentare la viscosità delle soluzioni nelle industrie cementizie, come agenti di condizionamento del suolo ma anche per sintetizzare altri prodotti chimici utilizzati per costruire le fondazioni di gallerie e dighe in cui il calcestruzzo deve indurirsi in presenza di acqua. Inoltre, l'acrilammide viene anche utilizzata per un'applicazione che risulta essere di importanza fondamentale per le scoperte in campo biotecnologico in quanto componente del gel utilizzato nel metodo dell'elettroforesi su gel di poliacrilammide (PAGE) che serve ad isolare il DNA e altre biomolecole. Proprio per la sua versatilità nei diversi ambiti industriali, gli epidemiologi e i tossicologi hanno, fin dagli anni 80', studiato e osservato gli effetti di questo composto che si manifestavano nei lavoratori con frequente esposizione alla sostanza. Come riportato dal verbale del segretario M. Lützow del comitato congiunto FAO/OMS, detto anche JECFA, è stato condotto uno studio che ha coinvolto più di 8000 lavoratori che avevano inalato l'acrilammide regolarmente sul posto di lavoro prima che la tossicità della molecola fosse pienamente riconosciuta. Questi studi hanno rivelato che l'elevata reattività della molecola causava gravi effetti nocivi nell'essere umano come allucinazioni, sonnolenza, confusione ma anche effetti più gravi collegati a livelli di inalazione relativamente più alti, quali le modificazioni del materiale genetico di animali e batteri e di conseguenza l'aumento del rischio di cancro, infatti, già nel 1982 la IARC inserisce l'acrilammide nel gruppo 2A, ovvero una sostanza probabilmente cancerogena.

4.1 ACRILAMMIDE NEGLI ALIMENTI

Nell'aprile del 2002 la Swedish National Food Administration e un gruppo di scienziati dell'università di Stoccolma hanno annunciato di aver dimostrato la formazione di acrilammide durante la preparazione di alimenti (Hans Lingnert et al.). Fino a quel momento l'acrilammide era conosciuta come una sostanza tossica prodotta in alcune lavorazioni industriali e presente anche nel fumo di tabacco anche se, molto probabilmente, è presente negli alimenti sin dall'invenzione della cottura. I risultati di questa scoperta risultavano essere molto preoccupanti in quanto la tossicità della sostanza metteva potenzialmente a rischio la salute del consumatore, anche perché non c'erano mai stati studi sulla patogenicità che essa poteva dare nell'essere umano, se ingerita con gli alimenti. Da quel momento partirono, dallo stesso ente soggetto della scoperta, fondi per avviare la formazione di un comitato di esperti che esaminassero lo sviluppo di questa sostanza negli alimenti.

L'acrilammide non è una sostanza chimica presente negli alimenti, ma una sostanza che si forma a partire da precursori che si trovano nell'alimento, soprattutto zuccheri riducenti come glucosio e fruttosio e l'amminoacido asparagina, e che si combinano in determinate condizioni, quali alte temperature, per dare come risultato l'acrilammide.

Essa, infatti, è definita dall'EFSA un "contaminante da processo", cioè una sostanza che si forma negli alimenti o negli ingredienti alimentari dopo aver subito cambiamenti chimici in fase di trasformazione dell'alimento stesso quali fermentazione, essiccazione, raffinazione o cottura ad alte temperature. Il processo chimico che provoca la formazione di questa sostanza è proprio la "reazione di Maillard" che avviene tra l'asparagina e uno zucchero naturalmente presenti in una moltitudine di alimenti.

Dalla scoperta dell'acrilammide negli alimenti e della sua tossicità per l'uomo i vari enti più importanti a livello di alimentazione quali l'EFSA¹, il CODEX ALIMENTARIUS², la FAO³ e l'OMS si sono iniziati ad occupare di questa problematica molto seria in quanto l'obiettivo principale di queste organizzazioni è di proteggere i consumatori da eventuali danni alla loro salute causati dagli alimenti stessi. La formazione di acrilammide e i possibili effetti sulla salute, del consumo di alimenti contenenti questo contaminante, sono stati oggetto di intense ricerche sin dalla scoperta da parte degli scienziati svedesi.

¹ EFSA: European Food Safety Authority, autorità Europea per la sicurezza alimentare;

² CODEX ALIMENTARIUS: è un insieme di regole e di normative elaborate dalla Codex Alimentarius Commission, una commissione istituita nel 1963 dalla FAO e dall'OMS, di cui fanno parte rappresentanti di quasi tutti i paesi del mondo;

³ FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Organizzazione delle Nazioni Unite per l'agricoltura e l'alimentazione.

A partire dall'aprile del 2002 gli studi sull'acrilammide hanno rivelato che gli alimenti con più alto rischio di sviluppo di questa sostanza quando trattati ad alte temperature sono le patatine fritte, gli snack a base di patate, il pane, prodotti a base di cereali quali biscotti, il caffè e i suoi succedanei.

4.2 L'ACRILAMMIDE, DALLA SCOPERTA NEGLI ALIMENTI FINO AD OGGI

Le tappe più importanti dal 2002 al 2017 per quanto concerne l'argomento "acrilammide negli alimenti" pubblicate dall'EFSA, dalla FAO, dall'OMS⁴ e dalla FDE⁵, e delineate in base agli studi scientifici effettuati negli anni sono numerose, proprio perché i rischi collegati al consumo di questa sostanza sono considerati molto importanti, e perché fino al 2002 la conoscenza sulla formazione dell'acrilammide negli alimenti e dei suoi effetti sull'uomo erano scarsi o del tutto assenti. Di seguito è riportato un excursus di queste tappe.

4.2.1 Prima consultazione FAO/OMS sulle implicazioni per la salute dell'acrilammide negli alimenti giugno 2002

Questa prima consultazione delle maggiori organizzazioni mondiali a livello di alimentazione e salute ha concluso una valutazione preliminare sull'acrilammide, che per la prima volta è stata trovata negli alimenti. Durante questa prima discussione sono state raggiunte le seguenti conclusioni:

- per quanto riguarda i metodi di analisi per l'acrilammide negli alimenti, ancora nessuno di questi è stato convalidato ma la maggior parte di essi soddisfa i requisiti di convalida e accreditamento;
- per la formazione dell'acrilammide negli alimenti, non si conoscono precisamente i meccanismi di formazione ma è certo che le alte temperature e quindi la cottura degli alimenti insieme al tempo di riscaldamento aumentano i livelli di acrilammide;
- per quanto riguarda l'esposizione media a questa sostanza, si stima che l'assunzione media di un adulto con peso corporeo intorno a 70 kg sia compresa tra 20-50 µg al giorno solo attraverso il cibo, e che per i bambini è prevista una dose di 2-3 volte superiore a quella degli adulti, se valutata sempre in base al peso corporeo;

⁴ OMS: Organizzazione Mondiale della Sanità;

⁵ FDE: FoodDrinkEurope, rappresenta le industrie alimentari dell'Unione Europea.

- per quanto riguarda la tossicità dell'acrilammide, correlata al suo livello negli alimenti, non sono attesi effetti neurotossici ma è accertato l'effetto genotossico della sostanza, cioè l'acrilammide può indurre danni ereditari;
- l'acrilammide ha un effetto cancerogeno nei ratti simile ad altri agenti cancerogeni nel cibo ma i livelli di acrilammide necessari per il verificarsi di questi effetti sono notevolmente più alti rispetto ad altri;
- per ultimo, la consultazione, ha fornito una serie di raccomandazioni per i futuri studi sull'argomento per cercare di comprendere al meglio il rischio per la salute umana rappresentato dall'acrilammide, e una serie di consigli per ridurre al minimo qualsiasi rischio come evitare una cottura troppo eccessiva degli alimenti e cercare di prediligere un'alimentazione sana.

4.2.2 Workshop on the formation of acrylamide in food 2003

Nel novembre 2003 l'EFSA ha organizzato un seminario per discutere della progressione della ricerca sull'acrilammide negli alimenti e per identificare le aree su cui c'era bisogno di ulteriori indagini. Per i ricercatori l'obiettivo principale è quello di spiegare la formazione di acrilammide negli alimenti e di capire come influenzarne la formazione stessa senza alterare minimamente le proprietà nutrizionali e organolettiche degli alimenti. L'attenzione è stata posta al ruolo dell'acqua nell'alimento, alle combinazioni dei parametri tempo-temperatura, alla riduzione enzimatica o chimica dell'acrilammide, ad esempio utilizzando l'asparaginasi per ridurre l'asparagina ed infine esaminare gli effetti agronomici delle varie colture per consigliare agli agricoltori le pratiche migliori per ridurre al minimo i precursori di acrilammide.

4.2.3 Riunione del comitato congiunto FAO/OMS di esperti sugli additivi alimentari 2005

L'EFSA nel 2005 pubblica una dichiarazione in cui si dice concorde con le principali conclusioni e raccomandazioni provenienti dal 64° comitato congiunto FAO/OMS di esperti sugli additivi alimentari o JECFA⁶, un comitato internazionale di esperti scientifici amministrato congiuntamente dalla FAO e dall'OMS che si riunisce dal 1956 per valutare la sicurezza di additivi alimentari, contaminanti, sostanze tossiche e residui di farmaci veterinari

⁶ JECFA: Joint FAO/OMS Expert Committee on Food Additives.

negli alimenti. Il comitato ha concluso che, sulla base degli studi effettuati sugli animali, il cancro era l'effetto tossico più importante e che il consumo di alimenti contaminati da acrilammide risultano essere un problema di salute pubblica. Il comitato ha applicato l'approccio del margine di esposizione MOE ed ha concluso che esso risultava essere basso e che ciò potrebbe indicare un problema di salute umana agli attuali livelli di esposizione alimentare stimati. Quindi, con questa riunione non si aggiungeva nessuna evidenza fondamentale a parte la considerazione del rischio di sviluppo del cancro correlato al consumo di alimenti contaminati anche perché fino a quel momento le incertezze sul meccanismo di tossicità dell'acrilammide erano ancora molto evidenti in quanto le dichiarazioni si basavano solo ed esclusivamente su studi fatti con animali da laboratorio.

4.2.4 La FDE pubblica la prima toolbox sull'acrilammide nel 2006

Il 29 settembre del 2006 la FDE pubblica la prima TOOLBOX sull'acrilammide, letteralmente "cassetta degli attrezzi", una serie di linee guida semplici e chiare a disposizione di tutti gli operatori del settore alimentare (OSA), comprese le PMI con limitate risorse di ricerca e sviluppo, con l'obiettivo di fornire strumenti pratici che i produttori di alimenti possono valutare per ridurre l'acrilammide in base al loro specifico processo di produzione. Ovviamente, queste linee guida vanno adattate ad ogni specifico caso, in base al tipo di prodotto e alle apparecchiature di produzione di cui si dispone. Alcune di queste linee guida sono utili anche nei contesti domestici e in quelli di ristorazione, dove un controllo rigoroso delle condizioni di cottura risulta più difficile. Il toolbox non deve essere inteso come un manuale legislativo, ma come una serie di consigli utili da applicare nelle aziende che operano nel settore alimentare, per poter garantire un livello massimo della salute dei consumatori e che verrà aggiornato man mano che vengono comunicati i nuovi risultati. In questo toolbox sono stati identificati 13 parametri raggruppati nei 4 compartimenti principali del toolbox:

1. AGRONOMICO → zuccheri e asparagina;
2. RICETTA → ingredienti (bicarbonato di ammonio o minori come sali di calcio e glicina), pH, diluizioni e rilavorazioni;
3. LAVORAZIONI → fermentazioni, temperatura e controllo dell'umidità, pretrattamenti (lavaggio, sbollentamento, decaffeinizzazione e asparaginasi);
4. PREPARAZIONE FINALE → colore finale del prodotto, consistenza e sapore, conservazione del prodotto (compresa shelf-life e preparazione da parte del consumatore finale).

Un esempio dell'incidenza di alcuni parametri nei compartimenti della toolbox, sui prodotti che contribuiscono maggiormente all'esposizione all'acrilammide è mostrato nella tabella che segue:

Category	Toolbox Compartment			
	Agronomical	Recipe	Processing	Final Prep.
Potato Products	● Sugar	◐	◐ Thermal input Pre-treatment	● Color endpoint
Bread/Biscuits/ Bakery wares	● Asparagine	◐ NH ₄ HCO ₃	◐ Fermentation Moisture	◐ Color endpoint
Breakfast cereals	● Asparagine	◐	◐	◐
Coffee	◐	◐	◐ Roasting conditions	◐ Storage

◐: Low or no impact ●: High impact

Figura 5 Influenza delle diverse strategie applicate nei compartimenti della toolbox. (fonte: <https://www.fda.gov/media/78053/download>)

Inoltre, per ogni intervento proposto in questo documento, viene specificato anche il livello di esperienza disponibile:

- SCALA DI LABORATORIO, indica che per le categorie menzionate è stato svolto solo un lavoro sperimentale a livello di laboratorio;
- SCALA PILOTA, indica che gli interventi sono stati valutati nell'impianto pilota o in prove di fabbrica;
- INDUSTRIALE, indica che gli interventi sono stati valutati e implementati da alcuni produttori nei loro stabilimenti.

4.2.5 Raccomandazione della commissione Europea del 2007

Nel 2007 viene pubblicata nella Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea una raccomandazione sul monitoraggio dei tenori di acrilammide negli alimenti, visto l'importante rischio sulla salute dei consumatori valutato in base alle pubblicazioni degli anni precedenti. In questo documento la Commissione Europea raccomanda tutti gli Stati membri di effettuare

annualmente un monitoraggio sui livelli di acrilammide negli alimenti a più alto rischio, di comunicare i risultati di questi monitoraggi all'EFSA con relative informazioni e di realizzarli con procedure di campionamento e metodi contenuti nella stessa raccomandazione.

4.2.6 Colloquio scientifico EFSA sulla cancerogenicità dell'acrilammide

L'EFSA nel 2008 ospita a Tabiano, in provincia di Parma, scienziati da tutto il mondo per discutere delle nuove evidenze della cancerogenicità dell'acrilammide in relazione all'esposizione alimentare in occasione del suo 11° colloquio scientifico. Il colloquio è stato organizzato per discutere dello stato attuale e degli studi futuri riguardanti la potenziale tossicità e il rischio di cancro associato all'esposizione alimentare; l'obiettivo di questo colloquio dell'EFSA era quello di stimolare uno scambio aperto di opinioni e competenze sulle nuove informazioni relative alla cancerogenicità dell'acrilammide che sono diventate disponibili dal 2005.

Dopo una sessione introduttiva in cui i relatori principali hanno riassunto la situazione attuale sugli studi dell'epidemiologia, la tossicologia, la modalità d'azione dell'acrilammide come cancerogeno e i dati sull'esposizione alimentare europea, i partecipanti sono stati divisi in quattro gruppi per discutere di diversi argomenti in modo dettagliato, uno sull'epidemiologia, uno sui biomarcatori, uno sul meccanismo di azione dell'acrilammide e uno sull'esposizione alimentare a questa sostanza.

Per quanto riguarda i dati epidemiologici, è emersa una certa evidenza di correlazione positiva tra l'esposizione alimentare all'acrilammide e alcuni tipi di cancro in siti come l'endometrio, le ovaie e i reni, evidentemente discordanti dagli studi effettuati sugli animali da laboratorio; proprio per la discordanza tra i diversi dati emersi dagli studi viene concluso che nei futuri studi epidemiologici ci sarà necessità di sviluppare questionari sulla frequenza del consumo di certi alimenti e sulla lavorazione degli stessi, compresa la cottura in casa.

Per le nuove evidenze sui biomarcatori, dal colloquio è emerso che risulta molto importante valutare diversi fattori che potrebbero confondere gli studi, come il fumo.

Per quanto riguarda la modalità d'azione, l'evidenza che la genotossicità è una modalità importante è in aumento, ma potrebbero esserci altri meccanismi non genotossici da approfondire.

Infine, per l'esposizione alimentare, i metodi analitici per stabilire i dati sull'occorrenza e stimare l'esposizione umana sembrano adeguati e, anche con dati migliori, sembra improbabile che i margini di esposizione stimati possano cambiare drasticamente.

Nel complesso, si è concluso che non è stato possibile migliorare le valutazioni del rischio già esistenti e che, non ci sono soluzioni ovvie su come ridurre ulteriormente l'esposizione all'acrilammide, ma potrebbero essere possibili misure di mitigazione aggiuntive nelle prime fasi di lavorazione degli alimenti.

4.2.7 Codice di condotta per la riduzione di acrilammide negli alimenti 2009

Nel 2009, dopo aver monitorato per qualche anno l'andamento dei livelli di acrilammide negli alimenti, viene emanato dal CODEX ALIMENTARIUS il codice di condotta per la riduzione di acrilammide negli alimenti o CAC/RCP 67-2009 (CODE OF PRACTICE FOR THE REDUCTION OF ACRYLAMIDE IN FOODS). I codici di condotta sono una delle tipologie di testo emanate dal CODEX ALIMENTARIUS; esso è un insieme di regole scritte che spiega come devono comportarsi gli operatori che lavorano in un particolare settore alimentare per far sì che sia mantenuto il massimo igiene possibile e che sia garantito un alimento sicuro.

Il presente codice di condotta intende fornire una guida per prevenire e ridurre la formazione di acrilammide nei prodotti a base di patate e a base di cereali. La guida è articolata in tre strategie diverse basate su materie prime, aggiunta o controllo di altri ingredienti e lavorazione e riscaldamento degli alimenti stessi.

-MATERIE PRIME

Per quanto riguarda le strategie da poter utilizzare sulle patate, vengono prese in considerazione misure atte a ridurre il contenuto di zuccheri riducenti così da limitare uno dei due reagenti della reazione di Maillard, che porta alla formazione di acrilammide. I fattori che influenzano i livelli di zuccheri riducenti sono: le condizioni climatiche e il tasso di applicazione del fertilizzante; la scelta accurata delle cultivar che già di per sé possiedono una minore quantità di zuccheri riducenti; le temperature e i tempi di conservazione che sono fattori molto importanti per le patate in cui le basse temperature favoriscono l'aumento del contenuto zuccherino.

Per quanto riguarda i cereali e i prodotti a base di cereali, è noto che i livelli di asparagina nelle diverse cultivar sono molto diversi tra loro, ad esempio nel frumento varia da 75 a 2200 mg/kg e nella segale da 15 a 25 mg/kg, questa variabilità può essere sfruttata per la riduzione di acrilammide nei prodotti finali, solo che bisogna tener conto delle conseguenze negative a cui si può andare incontro come la diminuzione della resistenza alle infezioni fungine in campo o la resa alle lavorazioni; inoltre, è necessario tenere sotto controllo il contenuto di zolfo nel terreno, in quanto una carenza di esso porta all'aumento del contenuto di asparagina nella

pianta mentre i trattamenti azotati devono essere limitati in quanto il contenuto di azoto è direttamente proporzionale al contenuto di asparagina, quindi se i livelli di azoto nel suolo aumentano, aumenta anche il contenuto di asparagina nel cereale.

-CONTROLLO O ADDIZIONE DI ALTRI INGREDIENTI

Nelle patate un esempio è l'aggiunta dell'enzima asparaginasi, che catalizza l'idrolisi dell'asparagina in acido aspartico, sottraendo così un reagente alla reazione di Maillard; è stato dimostrato anche che il trattamento con pirofosfato di sodio e Sali di calcio prima della fase di frittura riduce la formazione di acrilammide ma, comunque, qualsiasi additivo può essere utilizzato solo se in accordo con la legislazione nazionale o internazionale.

Per i prodotti a base di cereali è utile riflettere sul tipo di farina utilizzata in quanto è stato dimostrato che le farine ad alta estrazione contengono significativamente meno asparagina rispetto alle farine integrali, ad esempio sostituire la farina di riso alla farina di frumento per la preparazione di biscotti dolci riduce il livello di acrilammide nel prodotto finito, ma, tuttavia abbassare il contenuto di farina integrale incide sui benefici nutrizionali che essa ne consegue. L'utilizzo di bicarbonato di ammonio o di agenti lievitanti a base di ammonio aumenta la resa potenziale di acrilammide, per questo motivo sono stati proposti agenti lievitanti sostitutivi quali bicarbonato di sodio abbinato ad acidi organici e altri composti che però possono influire negativamente sulle proprietà fisiche e organolettiche dei biscotti e dare una lievitazione leggermente inferiore. La sostituzione di zuccheri riducenti con il saccarosio è un'altra strategia per ridurre in maniera significativa il contenuto di acrilammide nei prodotti da forno quando la doratura non è considerata molto importante. È anche possibile l'aggiunta dell'enzima asparaginasi soprattutto nella produzione di biscotti e cracker. Infine, è stato dimostrato che in alcune ricette si verifica un aumento del contenuto di acrilammide quando vengono aggiunti determinati ingredienti quali zenzero, miele e cardamomo e a tal proposito i produttori sono tenuti a sperimentare l'aggiunta di spezie o aromi diversi da quelli sopra elencati per cercare di ridurre al minimo lo sviluppo della sostanza in questione.

-LAVORAZIONE E RISCALDAMENTO DEGLI ALIMENTI

Per quanto riguarda le patate e i prodotti a base di patate, durante la lavorazione per ridurre la formazione di acrilammide è possibile impiegare una riduzione della superficie, per esempio tagliando le patate a fette più spesse; altra strategia consiglia di lavare, sbollentare o bollire parzialmente le patate per lisciviare dalla patata sia l'asparagina che gli zuccheri riducenti solo che, in questo caso, è possibile andare incontro a conseguenze negative sul sapore e sulla

consistenza del prodotto finale, e può portare alla lisciviazione di sostanze utili all'organismo come le vitamine e i minerali. Inoltre, la frittura sottovuoto, la cottura ad infrarossi lontani e la cottura a vapore secco possono ridurre notevolmente il contenuto di acrilammide, come anche l'utilizzo dello smistamento ottico in linea per rimuovere le patatine fritte più scure e il controllo costante dell'apporto termico durante la cottura, infatti i produttori di patatine fritte prefabbricate dovrebbero garantire delle istruzioni di cottura sulle confezioni chiare e coerenti con la necessità di ridurre al minimo l'acrilammide.

Nella produzione di pane e altri prodotti lievitati è molto importante il tempo di fermentazione considerato che i lieviti durante la fermentazione consumano l'asparagina libera che quindi viene sottratta alla reazione di Maillard; inoltre, la formazione di acrilammide, può essere ridotta modificando i parametri tempo-temperatura del processo di cottura, in particolare diminuendo la temperature delle fasi finali, quando il prodotto raggiunge la minore umidità possibile che corrisponde alla fase di maggior produzione della sostanza, e aumentandola nelle fasi iniziali quando il contenuto di umidità dovrebbe essere tale da impedire già da sé lo sviluppo dell'acrilammide.

-CAFFÈ E SUCCEDANEI

Riguardo al caffè non c'erano ancora studi approfonditi sulle misure da applicare per ridurre la quantità di acrilammide che si forma durante il processo di tostatura dei chicchi ma le raccomandazioni generali indicano che le modifiche nel processo di tostatura e la conservazione prolungata della polvere di caffè in contenitori chiusi può ridurre il contenuto di acrilammide anche se, queste misure, potrebbero incidere negativamente dal punto di vista organolettico e non essere accettate da parte del consumatore finale.

-RACCOMANDAZIONI AI CONSUMATORI

Il presente codice di condotta invita le autorità nazionali e locali ad esporre ai consumatori dei consigli e delle istruzioni utili a ridurre la formazione di acrilammide, come evitare riscaldamenti e cotture troppo eccessive degli alimenti e cercare di preferire alimenti cotti con colori più chiari e non troppo scuri perché sinonimi di una cottura troppo spinta.

-CONCLUSIONI DEL CAC

Queste misure di sicurezza non vanno analizzate separatamente da altre considerazioni, in quanto è necessario valutare anche che la riduzione di queste sostanze non comprometta la sicurezza chimica e microbiologica, che non induca un aumento di altri contaminanti di processo (idrocarburi, furano, nitrosammine...) e che non alteri le caratteristiche organolettiche e le proprietà nutrizionali dell'alimento stesso. Questo significa che tutte le strategie di minimizzazione devono essere valutate in relazione ai loro benefici e ai possibili

effetti negativi e per essere approvate è necessario che esse siano dimostrabili, valutabili formalmente e conformi alla normativa vigente.

4.2.8 Riunione del JECFA 2010

Durante il 72° incontro del comitato congiunto FAO/OMS si è tornati a discutere dell'acrilammide cercando di analizzare le conseguenze che, il consumo di acrilammide con gli alimenti, ha sulla salute umana; infatti, il comitato ha preso in considerazione gli studi di tossicità completati fino a quel momento che includevano studi sul metabolismo, sulla genotossicità, sugli effetti neurologici e sulla cancerogenicità dell'acrilammide e dei suoi metaboliti.

Da questa tabella (Fig.6), riportata sul verbale di conclusioni del comitato, è possibile dedurre che, considerando l'esposizione di acrilammide stimata per individuo, gli effetti neurologici sono improbabili ma non possono essere esclusi per gli individui con un'elevata esposizione alimentare alla sostanza. Inoltre, come si può notare dalla tabella, l'acrilammide rimane una sostanza che desta una seria preoccupazione per la salute, in quanto gli studi rivelano che essa risulta essere un composto cancerogeno e genotossico anche se, come nel 64° incontro JECFA, il comitato ha raccomandato che gli studi epidemiologici sull'aumento dell'incidenza del cancro, correlata al consumo di acrilammide, siano approfonditi e misurati nel tempo perché nessuno studio effettuato fino a quel momento ha dato effettivamente prova di ciò.

Dietary exposure estimates:

Mean 0.001 mg/kg body weight (bw) per day

High 0.004 mg/kg bw per day

Effect	NOAEL/BMDL ₁₀ (mg/kg bw per day)	MOE at		Conclusion/comments
		Mean dietary exposure	High dietary exposure	
Morphological changes in nerves in rats	0.2 (NOAEL)	200	50	The Committee noted that while adverse neurological effects are unlikely at the estimated average exposure, morphological changes in nerves cannot be excluded for individuals with a high dietary exposure to acrylamide.
Mammary tumours in rats	0.31 (BMDL ₁₀)	310	78	The Committee considered that for a compound that is both genotoxic and carcinogenic, these MOEs indicate a health concern.
Harderian gland tumours in mice	0.18 (BMDL ₁₀)	180	45	

BMDL₁₀, lower limit on the benchmark dose for a 10% response; bw, body weight; MOE, margin of exposure; NOAEL, no-observed-adverse-effect level.

Figura 6 Tabella di conclusioni del comitato Jecfa sui margini di esposizione all'acrilammide. (fonte: <http://www.fao.org/home/en/>)

4.2.9 Monitoraggio EFSA 2007-2010

L'EFSA nel 2011 pubblica quattro relazioni consecutive sui livelli di acrilammide negli alimenti, confrontando i dati dal 2007 al 2009 serie per serie per stimare l'assunzione di questa sostanza da parte di gruppi della popolazione con età diverse, quindi l'assunzione di tutti quei prodotti che incidono maggiormente sulla dieta dei consumatori. Ogni Stato Membro ha inviato all'EFSA anno per anno questi monitoraggi che sono stati combinati con le informazioni riguardanti le abitudini alimentari, ricavate dalla banca dati esaustiva dell'EFSA sui consumi alimentari in Europa.

Le stime dell'esposizione giornaliera all'acrilammide sono diverse in base al gruppo di età in considerazione, per gli adulti (>18 anni) l'assunzione media varia da 0.31 e 1.1 µg/kg di peso corporeo, per gli adolescenti (età 11-17 anni) l'assunzione varia da 0.43 a 1.4 µg/kg, per i bambini (3-10 anni) varia da 0.70 e 2.05 µg al giorno, per i neonati (1-3 anni), invece, varia da 1.2 a 2.4 µg.

Confrontando i dati del 2007 con quelli del 2009 (fig7) è stato rivelato un abbassamento dei livelli di acrilammide solo in 3 alimenti su 22 totali e questi sono i crackers, i biscotti per l'infanzia e i biscotti pan di zenzero mentre per crackers di tipo svedese e nel caffè istantaneo,

i livelli sono aumentati. Gli alimenti in cui sono stati rilevati i livelli più elevati di acrilammide sono stati i succedanei del caffè, tra cui le bevande simili a base di cicoria o di orzo e le patatine.

Food Group	2007		2008		2009	
	N	Median µg/kg	N	Median µg/kg	N	Median µg/kg
Biscuits						
Crackers	69	195	134	185	99	98
Infant	97	100	88	64	51	80
Not specified	291	173	276	126	330	76
Wafers	38	118	49	109	90	213
Bread						
Bread crisp	155	116	92	107	130	186
Bread soft	127	30	211	30	110	27
Non specified	54	58	17	19	84	49
Breakfast cereals	134	100	136	75	153	87
Cereal-based baby food	92	38	110	25	99	25
Coffee						
Instant	51	188	63	482	46	584
Not specified	41	183	11	210	14	237
Roasted	153	197	267	164	172	193
French fries	647	246	536	220	469	247
Jarred baby foods	87	30	142	25	118	25
Other products						
Gingerbread	357	226	258	227	302	132
Muesli and porridge	48	156	19	30	92	50
Not specified	424	134	529	60	249	100
Substitute coffee	61	334	84	702	34	1148
Potato crisps	280	413	458	436	388	394
Home-cook potato product						
Deep fried	54	182	39	152	49	201
Not specified	82	150	101	75	136	104
Oven baked	8	260	108	172	72	189

Figura 7 Livelli medi di acrilammide nelle categorie di alimenti analizzati durante il monitoraggio 2007-2009 con relativi numeri di campioni (N). (fonte: <https://www.efsa.europa.eu/it>)

Unendo tutti i dati arrivati dagli Stati Membri, l'EFSA riassume in una tabella (fig.8) il livello di esposizione medio all'acrilammide per ogni categoria di alimenti presa in considerazione.

EFSA FOODEX Food category	N	LB mean µg/kg	UB mean µg/kg
Biscuits	1991	304	311
Fried potatoes	1794	318	322
Potato crisps	1126	635	638
Potato oven baked	188	296	296
Crisp bread	679	221	226
Soft bread	448	37	50
Unspecified bread	980	117	127
Breakfast cereals	423	134	149
Infant biscuits	236	137	148
Substitute coffee dry	179	1012	1013
Roasted coffee dry	592	219	224
Instant coffee dry	160	480	482
Jarred baby foods	347	23	41
Cereal based baby foods	301	46	63
Muesli and porridge	159	95	116

Figura 8 Limite medio minimo (LB) e limite medio massimo (UB) del contenuto di acrilammide nelle categorie di alimenti analizzati durante il monitoraggio EFSA 2007-2009 negli Stati Membri; N indica il numero di campioni pervenuti dagli Stati Membri. (fonte: <https://www.efsa.europa.eu/it>)

Dalla tabella (Fig. 8) si evince che il maggior contributo di esposizione all'acrilammide è dato dalle patatine, dai sostituti del caffè e dal caffè solubile.

L'area dei prodotti a base di patate ha attirato molta attenzione a causa del loro imponente contributo alla dieta sia di adulti che di bambini; sono state identificate diverse strategie per la riduzione di acrilammide in questa tipologia di alimenti, che sostanzialmente sono gli stessi proposti nel codice di condotta, quindi dalla scelta delle cultivar al controllo delle temperature di preparazione. In questo gruppo di alimenti, purtroppo, il monitoraggio ha mostrato che, nonostante le diverse raccomandazioni da parte delle autorità competenti, la presenza di acrilammide non è stata ridotta come si sperava.

Il secondo grande gruppo di prodotti che contribuisce in maniera significativa all'esposizione all'acrilammide sia negli adulti che nei bambini è quello dei cereali e dei prodotti a base di cereali come pane e biscotti; le strategie più utilizzate in questo caso, oltre al controllo delle cultivar e delle condizioni di lavorazione dei cereali e cioè della materia prima, sono quelle in relazione alla formulazione delle ricette, ad esempio evitando alcuni ingredienti che contribuiscono allo sviluppo di acrilammide, e alle condizioni di lavorazione del prodotto

finito quindi temperature e tempi di processo. Anche qui come si è già detto in precedenza, non è stata rilevata una significativa riduzione di acrilammide tranne che nei cracker e nei biscotti per l'infanzia in cui, probabilmente, la diminuzione è stata dovuta al cambiamento dell'agente lievitante.

Altro grande contributo all'esposizione è dato dal caffè, sebbene esso sia consumato solo nei soggetti adulti; lo studio sulla diminuzione dell'acrilammide nel caffè e nei suoi sucedanei ha portato alla conclusione che sono disponibili, ancora, poche strategie in quanto non si è riusciti a diminuire il contenuto della sostanza senza alterarne le qualità organolettiche, cosa che non viene accettata dal consumatore; inoltre, è stato rilevato che modifiche sulle condizioni di processo che determinano un abbassamento nei livelli di acrilammide, come una tostatura più scura e un tempo di tostatura più lungo, tendono a produrre livelli elevati di furano, un altro contaminante di processo. Per quanto riguarda i gruppi di sostituti del caffè e caffè istantanei, nel monitoraggio viene mostrato un aumento dei livelli di acrilammide fortunatamente, però, nessuno dei due gruppi contribuisce in maniera determinante all'esposizione media complessiva. D'altra parte, anche se il gruppo del caffè tostato non ha mostrato un aumento significativo dei livelli di esposizione alla sostanza, resta preoccupante il fatto che non si conoscano misure di mitigazione utilizzabili, in quanto il caffè è il terzo contributo più importante all'esposizione negli adulti.

In conclusione, è chiaro che l'applicazione delle "toolbox" ha avuto un successo limitato e sarebbe auspicabile ridurre ulteriormente i livelli di acrilammide nei gruppi di alimenti che contribuiscono maggiormente all'esposizione, inoltre per poter valutare chiaramente una tendenza il numero degli anni di monitoraggio deve essere molto più esteso e raccogliere un numero maggiore di campioni per ogni gruppo alimentare.

4.2.10 La prima valutazione provvisoria dei rischi da parte dell'EFSA

A luglio del 2014 il gruppo di esperti scientifici dell'EFSA sui contaminanti nella catena alimentare (CONTAM), dopo aver pubblicato la valutazione provvisoria dei rischi causata dal consumo di alimenti contenenti acrilammide, ha avviato una consultazione aperta, cioè l'EFSA chiede commenti alla comunità scientifica e alle parti interessate su questa valutazione che successivamente discussi.

L'obiettivo della consultazione è quello di tener conto della più ampia gamma possibile di studi, dati e informazioni per poter redigere un parere conclusivo sull'acrilammide negli alimenti nella prima metà del 2015. Questa consultazione è stata indetta perché l'applicazione

delle misure volontarie pubblicate negli anni, come le toolbox e il codice di condotta, non aveva provocato i risultati sperati.

In conclusione, il parere scientifico dell'EFSA che emerge dall'incontro ha confermato le precedenti valutazioni sul potenziale rischio cancerogeno correlato al consumo di alimenti contenenti acrilammide.

Nello stesso anno l'EFSA, insieme ai partner nazionali degli Stati Membri dell'UE, ha pubblicato un'infografica, cioè un insieme di disegni e grafici che in maniera sintetica rappresentano fenomeni complessi, sull'acrilammide negli alimenti per sensibilizzare i consumatori in merito alla questione.



Figura 9a: Prima parte dell'infografica EFSA (fonte: <https://www.efsa.europa.eu/it>)



Figura 9b: Seconda parte dell'infografica EFSA (fonte: <https://www.efsa.europa.eu/it>)

Quest'infografica (Fig. 9a e 9b) spiega brevemente cos'è l'acrilammide, come si forma negli alimenti e quindi in maniera semplificata illustra la reazione di Maillard, illustra quali sono i cibi con più alto contenuto dei suoi precursori e quali sono le azioni per limitarne lo sviluppo in ambiente domestico.

4.2.11 Opinione scientifica dell'EFSA sull'acrilammide negli alimenti 2015

-CONSIDERAZIONI INIZIALI

Nel 2015 viene pubblicata sulla gazzetta ufficiale dell'EFSA la prima valutazione completa dei rischi derivanti dal consumo di alimenti che contengono acrilammide in cui gli esperti concludono che la sostanza aumenta potenzialmente il rischio di sviluppare il cancro nei consumatori di tutte le fasce d'età.

Il CONTAM panel di EFSA ha valutato 43.419 risultati analitici di indagini alimentari e ha concluso che i livelli più elevati di acrilammide sono stati ritrovati nel caffè, nei sostituti del caffè e nei prodotti fritti a base di patate. Dopo l'assunzione orale l'acrilammide viene assorbita dal tratto gastrointestinale e distribuita a tutti gli organi dopo essere stata metabolizzata per coniugazione con il glutatione ed epossidazione in glicidammide. Si ritiene che quest'ultima (glicidammide) è alla base della genotossicità e cancerogenicità dell'acrilammide, mentre gli effetti negativi sul riproduttore maschile e sulle neuropatie sono stati identificati come possibili conseguenze della tossicità della sostanza solo negli animali, in quanto gli attuali valori di esposizione dettati dall'acrilammide e gli studi umani ancora inadeguati non hanno destato troppa preoccupazione.

-CAMPIONAMENTO E METODO DI ANALISI

Si ritiene che una descrizione dettagliata delle procedure di campionamento e dei metodi di analisi per la determinazione di acrilammide negli alimenti, siano di particolare importanza per l'interpretazione dei risultati, in quanto la stagionalità, i metodi di conservazione e le diverse lavorazioni dei prodotti possono incidere in maniera significativa sui livelli della sostanza. La determinazione di acrilammide negli alimenti viene, solitamente, eseguita mediante separazione cromatografica liquida ad alte prestazioni (HPLC) o gas cromatografia (GC) con rilevamento spettrometrico di massa (MS).

-CONCLUSIONI

Le fasce d'età che risultano essere più esposte a questi rischi sono certamente i neonati, i bambini e gli adolescenti, poiché il consumo di prodotti a base di cereali, biscotti, cracker, pane e prodotti fritti e non a base di patate, attraverso le indagini su fasce d'età e consumi alimentari, è risultato molto frequente.

Questi gruppi di alimenti sono stati anche i principali che hanno contribuito all'esposizione totale negli adulti e negli anziani insieme al consumo eccessivo di prodotti a base di caffè e succedanei.

L'acrilammide è ampiamente assorbita dal tratto gastrointestinale sia negli uomini che negli animali da laboratorio, dopodiché viene trasferita nei diversi tessuti e può attraversare la

placenta e passare, in piccola parte, nel latte materno. La sostanza nell'organismo può seguire due vie diverse, o viene metabolizzata, dopo una reazione di epossidazione, sotto forma di glicidammide con l'aiuto dell'enzima CYP2E1, oppure può coniugarsi con il glutatione, reazione mediata dall'enzima glutatione-S-transferasi, ed essere convertita in acidi mercapturici che successivamente vengono escreti con le urine; quest'ultima via è considerata una via di disintossicazione. Sia la glicidammide che gli acidi mercapturici possono essere utilizzati come biomarcatori in laboratorio, cioè come sostanze che se presenti nell'organismo, indicano la predisposizione a sviluppare una certa malattia.

Gli studi tossicologici sull'acrilammide sono stati condotti su diversi tipi di animali da laboratorio utilizzando vari protocolli di dosaggio e diverse vie di esposizione; i principali risultati non-neoplastici riguardano effetti negativi sul sistema nervoso periferico, danni ad alcuni parametri riproduttivi maschili e in alcuni casi anche una riduzione dell'accrescimento somatico. Tutti gli effetti non-neoplastici ancora non sono stati affermati negli umani per la carenza di informazioni, ma solo in animali da laboratorio.

Per quanto riguarda gli studi di genotossicità, l'acrilammide è stata definita come un mutageno debole nelle cellule dei mammiferi ma un clastogeno molto efficace. L'effetto mutageno è generato durante la conversione dell'acrilammide in glicidammide, quindi durante il suo metabolismo, oppure attraverso la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) che, attraverso una reazione di ossidazione, modificano il DNA alterandone la sua stabilità. Oltre alle caratteristiche tossiche e genotossiche, l'acrilammide è anche stata definita come una sostanza cancerogena, in quanto dagli studi effettuati negli anni è stato osservato lo sviluppo di alcune tipologie di tumore correlato al consumo di alimenti contaminati dalla sostanza. I principali tumori negli animali da laboratorio sono stati quelli osservati in tessuti quali ghiandole mammarie, cellule della tiroide, ghiandole di Harder, bronchioli polmonari e, tumori benigni, sono stati osservati anche nelle ovaie e nello stomaco.

Le associazioni tra l'esposizione all'acrilammide attraverso gli alimenti e il rischio di cancro sono state analizzate in almeno 36 pubblicazioni sulla base di studi epidemiologici che prendono in considerazione diversi siti di cancro; per la maggior parte di questi non è risultata una correlazione evidente tra l'esposizione e il rischio. Alcuni studi hanno osservato un aumento del rischio di cancro alle cellule renali, all'endometrio, alle ovaie e, in alcune donne non fumatrici, anche al seno ma viene comunque riconfermata la necessità di ulteriori studi per confermare questi risultati. Altri studi riguardanti i lavoratori periodicamente esposti all'acrilammide hanno evidenziato anche un aumento di alterazioni neurologiche sia al

nervoso periferico che a quello centrale, tuttavia nella maggior parte dei casi i sintomi erano reversibili.

Il gruppo CONTAM ha concluso che nonostante gli studi disponibili non abbiano dimostrato che effettivamente l'acrilammide sia cancerogeno per l'uomo, i MOE basati sui livelli attuali di esposizione alimentare indicano comunque una preoccupazione riguardo questi effetti e che, quindi, l'acrilammide è una sostanza potenzialmente cancerogena per l'uomo.

Infine, sempre il gruppo di esperti scientifici sui contaminanti ha stimato l'intervallo di dosaggio entro il quale è probabile che l'acrilammide causi una lieve ma misurabile incidenza degli effetti neoplastici o di altri potenziali effetti. Il limite inferiore di questo intervallo viene detto "BMDL10" ed è stato stimato a 0.17 mg/kg di peso corporeo al giorno per gli effetti neoplastici, e di 0.43 mg/kg per gli altri effetti.

4.2.12 Regolamento (UE) 2017/2158

Tenuto conto delle conclusioni dell'EFSA in merito agli effetti potenzialmente cancerogeni dell'acrilammide, e in assenza di misure obbligatorie che le imprese del settore alimentare devono applicare per ridurre la presenza di questa sostanza negli alimenti, la Commissione Europea nel 2017 emana il primo regolamento che istituisce misure di attenuazione e livelli di riferimento per la riduzione della presenza di acrilammide negli alimenti. Questo regolamento entra in vigore nel dicembre 2017 e si applica a decorrere dall'11 aprile 2018, questo per dare modo a tutte le aziende del settore di adeguarsi alle norme prescritte dallo stesso.

L'istituzione di questo regolamento da parte della Commissione Europea fa capire l'importanza e la centralità dell'argomento "acrilammide negli alimenti", che fin dal 2002 è stato oggetto di discussioni e ricerche non solo a livello europeo ma a livello mondiale.

CONSIDERAZIONI INIZIALI

Le misure di attenuazione di questo regolamento sono fondate sulle conoscenze scientifiche e tecniche disponibili fino a quel momento, e hanno dimostrato di poter ridurre il tenore di acrilammide senza compromettere la qualità del prodotto e la sua sicurezza. Il regolamento fissa dei livelli di riferimento massimi del tenore di acrilammide in ogni categoria alimentare presa in considerazione, essi vengono periodicamente riesaminati, ogni tre anni, dalla Commissione al fine di stabilire livelli sempre più bassi, come prova della continua riduzione della sostanza negli alimenti. I livelli di riferimento sono, quindi, indicatori da utilizzare per verificare l'efficacia delle misure di attenuazione.

L'efficacia delle misure di attenuazione dovrebbe essere verificata periodicamente mediante campionatura ed analisi dagli stessi operatori del settore alimentare tranne, da quelli che

svolgono attività di vendita al dettaglio e/o forniscono direttamente esercizi locali di vendita al dettaglio, in quanto questo sarebbe un onere sproporzionato alla loro attività. Oltre alle verifiche da parte degli operatori stessi, il REG.882/2004 impone tutti gli Stati Membri di eseguire periodicamente controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa.

AMBITO DI APPLICAZIONE

Il regolamento deve essere applicato obbligatoriamente da tutti gli OSA che operano in aziende del settore alimentare e che producono:

- a) Patate fritte tagliate a bastoncino, altri prodotti tagliati fritti e patatine, ottenuti da patate fresche;
- b) Patatine, snack, cracker e altri prodotti a base di patate ottenuti a partire da pasta di patate;
- c) Pane;
- d) Cereali per la prima colazione escluso il porridge;
- e) Prodotti da forno fini, quali biscotti, gallette, fette biscottate, barrette ai cereali, coni, cialde, pane con spezie, pani croccanti e sostituti del pane;
- f) Caffè sia torrefatto che solubile;
- g) Succedanei del caffè;
- h) Alimenti per la prima infanzia e alimenti a base di cereali destinati ai lattanti e ai bambini nella prima infanzia.

MISURE DI ATTENUAZIONE

Di seguito sono riportati solo alcuni esempi di misure di attenuazione elencate nel regolamento per ogni categoria alimentare, considerando che alcune di esse sono le stesse già state descritte in precedenza nei documenti ad applicazione volontaria come il CAC e le TOOLBOX.

I. PRODOTTI A BASE DI PATATE CRUDE

- Durante i contratti di fornitura di patate, gli OSA sono tenuti a specificare il tenore massimo di zuccheri riducenti e la quantità massima di patate ammaccate, macchiate o danneggiate, se queste quantità vengono superate gli operatori possono accettare comunque la fornitura, a patto che successivamente adottino misure tali per cui i livelli di acrilammide nel prodotto finito non superino quelli di riferimento;
- Durante l'immagazzinamento gli OSA sono tenuti a sopprimere la germinazione delle patate anche con l'impiego di agenti appropriati ove possibile, e a controllare per tutta la durata dell'immagazzinamento il tenore degli zuccheri riducenti;
- Per le patatine fritte a fette, durante la progettazione del prodotto, gli OSA devono specificare le temperature dell'olio all'uscita della friggitrice, e se questo supera i 168°

devono presentare dati che dimostrano che il tenore di acrilammide non supera, comunque, i livelli di riferimento;

- Per le patatine fritte a bastoncino gli OSA, prima dell'uso, provvedono ad una prova di frittura per stabilirne il tenore zuccherino utilizzando il colore come indicatore di un'elevata quantità di zuccheri e che viene valutato con una scala colorimetrica USDA/Munsell o scale colorimetriche specifiche dell'azienda;
- Gli OSA sono tenuti a sbollentare i bastoncini di patate prima della frittura, per eliminare alcuni degli zuccheri riducenti presenti in superficie inoltre, se necessario, dopo la sbollentatura è possibile aggiungere il destrosio che oltre a consentire un ottimo colore del prodotto finito determina un abbassamento del contenuto di acrilammide;
- Per gli utilizzatori finali, gli OSA, sono tenuti ad indicare sulla confezione in modo chiaro e visibile, come previsto dal regolamento sull'etichettatura dei prodotti 1169/2011, la temperatura, il tempo e la quantità di prodotto in caso di preparazione al forno o frita;
- Inoltre, gli OSA raccomandano gli utilizzatori di mantenere la temperatura tra 160/175°, preriscaldare l'apparecchio di cottura secondo le istruzioni sulla confezione e cuocere le patate fino ad un colore giallo-dorato e non cuocerle troppo;

II. PATATINE CHIPS, CRACKER E ALTRI PRODOTTI A BASE DI PASTA DI PATATE

- Per ogni prodotto gli operatori devono specificare i valori massimi di zuccheri riducenti presenti negli ingredienti a base di patate e, dove possibile, ricorrono ad una sostituzione parziale di questi ingredienti o all'aggiunta di sostanze quali asparaginaso o acidi o loro Sali per ridurre il livello di pH dell'impasto;
- Per ogni tipo di prodotto gli operatori devono specificare il tenore di umidità successivo alla cottura che deve essere mantenuto il più alto possibile e non può scendere al di sotto dell'1%;

III. PRODOTTI DA FORNO FINI

- Per prodotti da forno ottenuti da farina di cereali è importante che gli OSA, quando comprano direttamente dai loro produttori, si accertino che siano state seguite le buone pratiche agricole in materia di concimazione, in particolare per zolfo e azoto, e quelle fitosanitarie atte a prevenire le infezioni fungine;
- Nei prodotti, ove la progettazione lo consente, gli OSA si impegnano a sostituire gli zuccheri riducenti con quelli non riducenti e la farina di frumento con altre farine di

cereali come quella di riso, tenendo conto del fatto che queste modifiche hanno un impatto sulla qualità organolettica del prodotto finito;

- Durante la preparazione dei prodotti, gli OSA si impegnano ad utilizzare la migliore combinazione possibile dei parametri tempo-temperatura che consentono di ridurre con maggiore efficacia la formazione di acrilammide;
- Inoltre, gli operatori, durante lo sviluppo di un nuovo prodotto, devono tener conto nella valutazione dei rischi delle dimensioni e della superficie di un determinato prodotto, in quanto un prodotto di piccole dimensioni, potenzialmente, presenta un tenore di acrilammide più elevato a causa del diverso impatto di calore;

IV. CEREALI PER LA PRIMA COLAZIONE

- In questa categoria di alimenti è molto importante, nella valutazione dei rischi, tener conto dell'impatto che alcuni ingredienti trattati termicamente in precedenza quali noci tostate e frutti essiccati, possono avere sul tenore di acrilammide finale del prodotto;
- Gli OSA inoltre, si impegnano a ridurre il riutilizzo dei prodotti, in quanto l'esposizione ripetuta a trattamenti termici può generare elevati livelli di acrilammide;

V. CAFFÈ

- Nella valutazione dei rischi gli OSA devono tener conto del fatto che i prodotti a base di chicchi di caffè Robusta, presentano tenori di acrilammide più elevati rispetto a quelli della varietà Arabica;
- Gli OSA devono individuare le condizioni di torrefazione critiche al fine di ridurre al minimo la formazione di acrilammide e il controllo di queste condizioni è integrato nelle GMP;

VI. SUCCEDANEI DEL CAFFÈ CON TENORE DI CICORIA SUPERIORE AL 50%

- Gli OSA sono tenuti ad acquistare solo cultivar a basso contenuto di asparagina e ad aggiungere ingredienti quali fibre di cicoria e cereali torrefatti, quando il contenuto di cicoria è inferiore al 100% ma superiore al 50%, per ridurre il contenuto di acrilammide nel prodotto finale;

VII. BISCOTTI PER LA PRIMA INFANZIA E CEREALI PER LATTANTI

- Gli OSA durante l'elaborazione della ricetta devono cercare di scegliere materie prime con bassi tenori di precursori dell'acrilammide effettuando una valutazione di queste e valutando la possibilità di aggiungere asparaginasi;

- Anche in questa categoria è molto importante valutare le diverse combinazioni di tempo-temperatura e scegliere quella che comporta livelli di acrilammide più bassi possibili;
- Risulta essere molto utile il monitoraggio e il controllo del tenore di umidità per ridurre al minimo la formazione della sostanza;

VIII. ALIMENTI PER LA PRIMA INFANZIA IN VASETTO (A BASSA ACIDITÀ E A BASE DI PRUGNE SECICHE)

- Anche in questo caso gli OSA devono scegliere materie prime a basso contenuto di precursori dell'acrilammide e nei contratti d'acquisto di prugne secche, essi devono garantire che nel processo di produzione sono stati applicati regimi di trattamento termico adeguati;
- I tempi e le temperature di cottura devono essere calibrati periodicamente e le condizioni di funzionamento delle apparecchiature devono essere controllate in rapporto a limiti prefissati, entrambe le operazioni devono essere integrate nelle procedure HACCP;

IX. PANE

- Oltre alle procedure di controllo delle materie prime, gli OSA devono accertarsi che il pane non superi un certo tipo di colorazione per evitare la formazione di una quantità elevata di acrilammide;
- È necessario che gli OSA allungano i tempi di fermentazione del lievito, vista l'azione positiva dei lieviti sui precursori dell'acrilammide;
- Gli OSA sono tenuti, inoltre, a fornire indicazioni chiare su temperatura e tempo di cottura quando la cottura del prodotto deve essere completata dal consumatore in ambito domestico, nei punti vendita o nelle strutture di ristorazione.

Oltre a tutte queste misure, nel regolamento, si trovano anche delle norme supplementari sia per il commercio al dettaglio di suddetti prodotti che per gli operatori che operano sotto un marchio o una licenza commerciale come parte o come franchising controllate da un'azienda di grandi dimensioni.

Nell'allegato III del regolamento vengono discusse le prescrizioni generali relative a campionatura ed analisi per il monitoraggio dell'acrilammide negli alimenti che, fondamentalmente, sono state descritte in precedenza nei documenti ufficiali pubblicati dall'EFSA. Infine, gli operatori del settore alimentare sono obbligati a disporre, su richiesta delle autorità competenti, dei risultati analitici osservati nei propri prodotti.

Nell'ultimo allegato del regolamento, invece, si trova la tabella, riportata di seguito, con i livelli di riferimento per la presenza di acrilammide nei prodotti alimentari di cui si è già discusso in precedenza.

Alimento	Livello di riferimento [µg/kg]
Patate fritte a bastoncino pronte per il consumo	500
Patatine (chips) a base di patate fresche e a base di pasta di patate Cracker a base di patate Altri prodotti a base di pasta di patate	750
Pane morbido	
a) Pane a base di frumento	50
b) Pane morbido diverso dal pane a base di frumento	100
Cerali per la prima colazione (escluso il porridge)	
— prodotti a base di crusca e cereali integrali, cereali soffiati	300
— prodotti a base di frumento e segale (1)	300
— prodotti a base di granturco, avena, spelta, orzo e riso (1)	150
Biscotti e cialde	350
Cracker esclusi i cracker a base di patate	400
Pane croccante	350
Pane con spezie (panpepato)	800
Prodotti simili agli altri prodotti di questa categoria	300
Caffè torrefatto	400
Caffè (solubile) istantaneo	850
Sucedanei del caffè	
a) succedanei del caffè contenenti esclusivamente cereali	500
b) succedanei del caffè costituiti da una miscela di cereali e cicoria	(2)
c) succedanei del caffè contenenti esclusivamente cicoria	4 000
Alimenti per la prima infanzia, alimenti trasformati a base di cereali destinati ai lattanti e ai bambini nella prima infanzia, esclusi biscotti e fette biscottate (3)	40

Biscotti e fette biscottate destinate ai lattanti e ai bambini nella prima infanzia (3)	150
(1) Cereali non integrali e/o non a base di crusca. Il cereale presente nella quantità maggiore determina la categoria.	
(2) Il livello di riferimento da applicare ai sucedanei del caffè costituiti da una miscela di cereali e cicoria prende in considerazione la proporzione relativa di questi ingredienti nel prodotto finale.	
(3) Secondo la definizione del regolamento (UE) n. 609/2013.	

Table 1 Tabella dei livelli di riferimento riportata nel Reg.2158

4.2.13 Indagine scientifica su banca dati Scopus

A conclusione di questa illustrazione sulle tappe più importanti della ricerca sull'acrilammide negli alimenti, è stata effettuata un'indagine sugli studi, condotti dalla comunità scientifica, volti ad individuare le tendenze nei tenori di questa sostanza, in un arco temporale che ricopre gli ultimi 20 anni. L'indagine è stata eseguita all'interno della banca dati Scopus, attraverso l'utilizzo di diversi termini chiave che hanno portato, in totale, a 56 studi riguardanti il contenuto di acrilammide negli alimenti, così suddivisi:

- **CONTENUTO DI ACRILAMMIDE NEGLI ALIMENTI:** 25 studi totali, di cui 9 sul contenuto di acrilammide in alimenti tradizionali di alcune zone del mondo, 2 sul contenuto in patatine fritte e snack, 7 sul contenuto in alimenti cotti generici e 7 che riguardano misure di mitigazione e fattori che influenzano il contenuto di acrilammide;
- **CONTENUTO DI ACRILAMMIDE IN PATATINE FRITTE:** 10 studi totali, di cui 5 sul contenuto di acrilammide in patatine fritte e 5 su misure di mitigazione e sviluppo di metodi di previsione applicabili alle patatine fritte;
- **CONTENUTO DI ACRILAMMIDE NEL CAFFÈ:** 8 studi totali, di cui 5 su misure di mitigazione, fattori che influenzano lo sviluppo e metodi per valutare il contenuto di acrilammide nel caffè, 1 sul contenuto di acrilammide in caffè tradizionali del mondo e 2 sul contenuto di acrilammide nel caffè in generale;
- **CONTENUTO DI ACRILAMMIDE NEL PANE:** 13 studi totali, di cui 12 su misure di mitigazione, effetti di alcuni pretrattamenti e fattori che influenzano lo sviluppo di acrilammide e, solo 1, sul contenuto di acrilammide nel pane comunemente consumato in alcune zone del mondo.

Tutti gli studi sopra citati, nonostante l'arco temporale di ricerca comprendesse gli anni dal 2000 al 2020, sono stati effettuati dal 2004 fino ad oggi. Questo risultato dimostra che il monitoraggio di questa sostanza, è stato effettuato subito dopo il primo workshop dell'EFSA sull'acrilammide negli alimenti, mentre dalla scoperta fino al 2004 la ricerca scientifica si era concentrata sulla ricerca di informazioni che spiegassero il meccanismo di formazione di questa sostanza e i fattori che ne favorivano lo sviluppo. Inoltre, l'indagine mette anche in evidenza un'altra questione importante, cioè che nonostante il monitoraggio risulta essere molto importante per verificare l'andamento dei tenori di questa sostanza, la comunità scientifica nel corso dell'ultimo ventennio è stata orientata molto di più sulla ricerca di misure che potessero, in qualche modo, mitigare la presenza di acrilammide negli alimenti.

Capitolo 5

MITIGAZIONE DELL'ACRILAMMIDE

La ricerca scientifica dell'ultimo decennio è stata incentrata, per la maggior parte, sulla mitigazione della formazione di acrilammide negli alimenti attraverso diverse strategie che prevedono o l'aggiunta di composti che riducono la formazione della sostanza o i suoi precursori, oppure strategie basate su nuove tecniche di cottura, ad esempio la frittura ad aria che sfrutta la circolazione di aria calda per la propagazione del calore nell'alimento e non un olio ad alte temperature, senza modificare in maniera sostanziale le caratteristiche organolettiche del prodotto finale. Questo perché la formazione di questa sostanza, durante i trattamenti termici ad alte temperature come la cottura, è inevitabile ma anche perché gli effetti positivi della reazione di Maillard sono importantissimi per il flavour degli alimenti stessi, quindi è utile trovare dei meccanismi che riescano a bilanciare gli effetti positivi e quelli negativi senza incidere sulla salute dei consumatori.

La mitigazione di questa sostanza è stata studiata maggiormente nei prodotti a base di amido che, oltre a contenere le quantità più elevate di precursori dell'acrilammide, sono anche gli alimenti più consumati da tutte le fasce d'età. A questo proposito sono stati analizzati 3 studi scientifici, che sulla base delle misure di mitigazione delineate dal regolamento 2158, hanno dimostrato l'effetto di alcune strategie basate su 3 diversi punti di applicazione, cioè pretrattamenti alla materia prima, aggiunta di ingredienti prima del trattamento termico e valutazione di nuovi metodi di cottura, tutti con l'unico obiettivo di ridurre l'acrilammide nel prodotto finito.

5.1 IDROCOLLOIDI COME INIBITORI PER LA FORMAZIONE DI ACRILAMMIDE

Nel 2010 Xiaohui Zeng et al. hanno studiato l'effetto di otto diversi idrocolloidi, quali agar, acido alginico, gomma di carruba, carragenina, gelatina, amido idrossipropil fosfato, pectina e gomma di Xhantan, sulla formazione di acrilammide in patate fritte a bastoncino.

Gli idrocolloidi sono delle sostanze molto conosciute in campo alimentare, perché sono comunemente utilizzati come additivi negli alimenti per diversi scopi quali antiagglomeranti,

emulsionanti, gelificanti, addensanti e stabilizzanti; gli idrocolloidi più conosciuti sono, certamente, le pectine.

Nella prima parte di questo lavoro viene osservato l'effetto di questi idrocolloidi su sistemi modello liquidi e solidi, entrambi contenenti sia asparagina che zuccheri riducenti.

Il sistema modello liquido è stato preparato in fiale, secondo il modello Gokmen e Senyuva del 2007, con 1mmol di asparagina, 1mmol di glucosio, 2ml di acqua Milli-Q e con l'aggiunta di un idrocolloide al 2%. Le fiale sono poi state inserite in un blocco riscaldante che conteneva 2ml di olio di silicone preriscaldato a 170° C per un tempo di riscaldamento totale di 30 minuti, controllando la temperatura ogni 10 minuti. Successivamente le fiale sono state raffreddate in un bagno di acqua ghiacciata, inserite in provette Falcon da 50ml e centrifugate a 8000 g per 10 minuti; infine sono stati prelevati 0.2 ml del surnatante dalla provetta Falcon e trasferiti insieme a 1ml di acqua deionizzata in provette per cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) per essere analizzate.

Nel sistema modello liquido, dopo il trattamento termico, è stato osservato che gli unici idrocolloidi che avevano mostrato un tasso di inibizione (fig. 10) significativa sull'acrilammide di oltre il 50%, erano l'acido alginico e la pectina in concentrazione al 2%.

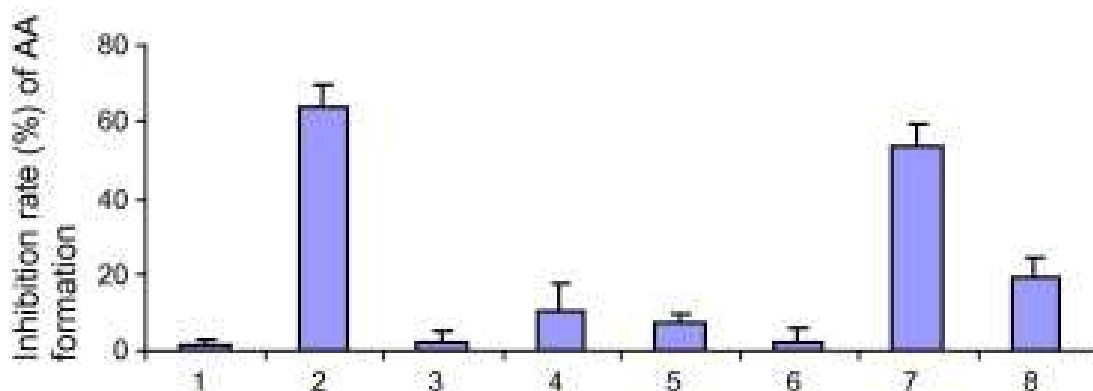


Figura 10 Percentuale di riduzione dell'acrilammide in un sistema modello formato da 1mmol di glucosio, 1mmol di asparagina e 2ml di acqua; (1) agar; (2) acido alginico; (3) gomma di carruba; (4) carragenina; (5) gelatina; (6) amido idrossipropil fosfato; (7) pectina; (8) gomma di Xhantan.

Oltre all'indagine su modello liquido, lo stesso esperimento è stato impiegato in un sistema modello cracker per valutare se gli idrocolloidi mostravano lo stesso effetto modulante anche nei sistemi solidi. Il modello snack è stato preparato con il 64.5% di farina di frumento, 1% di glucosio, 0.5% di asparagina e con l'aggiunta di un idrocolloide; gli ingredienti sono stati

premiscelati per 5 minuti, successivamente è stato aggiunto il 34% di acqua, poi sono stati miscelati per altri 20 minuti e l'impasto è stato trasformato in una sfoglia tonda. La sfoglia è stata lasciata a riposo a temperatura ambiente per 1 ora, poi essiccata a 70° C per 4 ore ed infine frita a 160° circa per 5 minuti su ciascun lato. L'estrazione di acrilammide dai campioni è stata eseguita secondo il modello Mastovska e Lehotay del 2006; lo snack è stato polverizzato e trasferito in provette Falcon da 50ml, sono stati aggiunti 40 ml di acqua deionizzata e le provette sono state sigillate per 1 minuto prima di una sonicazione per 30 minuti. Dopo la filtrazione, 10 ml di ciascun filtrato sono stati trasferiti in un'altra provetta e sono stati aggiunti 10 ml di acetonitrile (MeCN) e 2 ml di esano. Successivamente alla miscela sono stati aggiunti 4g di solfato di magnesio anidro (MgSO₄) e 0.5 g di cloruro di sodio (NaCl). Dopo agitazione e centrifugazione ad alta velocità per 5 minuti, lo strato di esano è stato scartato e 5 ml dell'estratto è stato essiccato in un evaporatore rotante sottovuoto. Il campione essiccato è stato poi ridisciolto con 2 ml di acqua deionizzata, caricato in una colonna di estrazione in fase solida (SPE); infine il primo ml dell'eluato è stato scartato, mentre quello rimanente è stato raccolto e analizzato mediante HPLC.

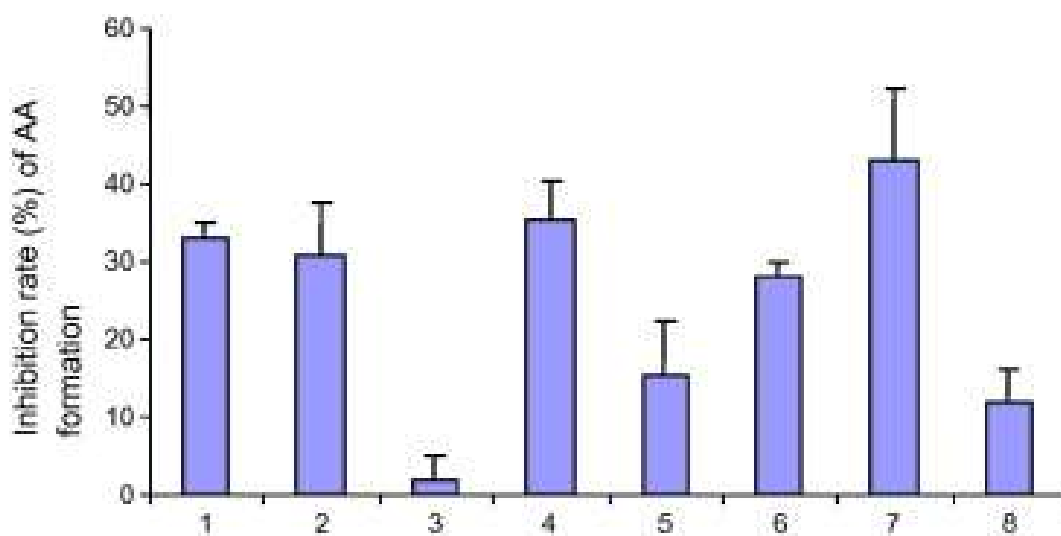


Figura 11 Percentuale di riduzione dell'acrilammide in un sistema modello cracker; (1) agar; (2) acido alginico; (3) gomma di carruba; (4) carragenina; (5) gelatina; (6) amido idrossipropil fosfato; (7) pectina; (8) gomma di Xhantan.

In questo caso gli idrocolloidi non avevano prodotto nessun tasso di inibizione significativo né all'1% di concentrazione, né al 2.5%, ma soltanto ad una concentrazione del 5% (fig. 11) quasi tutti gli idrocolloidi hanno prodotto una risposta significativa all'inibizione di acrilammide, con la pectina come il più efficace di tutti.

Nella seconda parte del lavoro, invece, l'effetto degli idrocolloidi viene osservato su patatine fritte a bastoncino. Considerando il fatto che i campioni di patatine fritte hanno profili chimici molto più complessi dei modelli di laboratorio, l'acrilammide negli estratti è stata derivatizzata a 2-bromopropenamida e le analisi qualitative e quantitative sono state eseguite con gascromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC-MS).

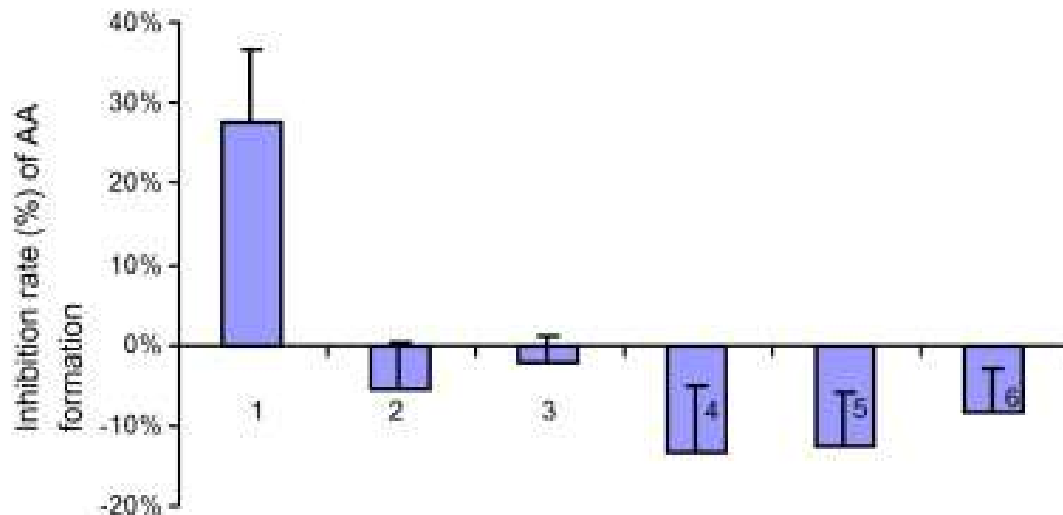


Figura 12 Percentuale di riduzione dell'acrilammide in patate fritte a bastoncino; (1) acido alginico; (2) gomma di carruba; (3) carragenina; (4) amido idrossipropil fosfato; (5) pectina; (6) gomma di Xhantan.

L'analisi quantitativa dell'acrilammide (fig. 12) ha mostrato che, dopo l'immersione dei bastoncini nelle soluzioni di idrocolloidi all'1%, prima della frittura, la formazione della sostanza è stata inibita soltanto dall'acido alginico, mentre gli altri hanno causato, addirittura, un aumento della sostanza.

Tra gli otto idrocolloidi testati, l'acido alginico è stato, quindi, l'unico in grado di inibire la formazione di acrilammide, anche se all'1% di concentrazione la percentuale era solo del 20%. Per comprendere meglio l'effettiva riduzione di acrilammide, la prova è stata ripetuta a concentrazioni diverse e con diversi tempi di immersione sia con l'acido alginico che con la pectina, che aveva dimostrato buone attività inibitorie nei due sistemi modello. I risultati hanno dimostrato che l'immersione dei bastoncini di patate immersi in una soluzione all'1% di acido alginico per 5 ore portava ad una inibizione di acrilammide pari al 60% circa, mentre quella in una soluzione di pectina all'1% per 5 ore ha prodotto un tasso di inibizione pari al 38% circa.

I risultati hanno dimostrato sia che la durata dell'immersione gioca un ruolo cruciale nella successiva formazione di acrilammide, sia che i comportamenti degli agenti chimici potrebbero essere completamente diversi tra i modelli chimici e i sistemi alimentari reali, e che prima di utilizzare una sostanza nella preparazione degli alimenti è necessaria una vera e propria indagine alimentare basata su diversi studi.

5.2 VINACCE D'UVA UTILIZZATE PER LA RIDUZIONE DELL'ACRILAMMIDE

Nel 2015 Changmou Xu et al. hanno dimostrato, con uno studio, che i polifenoli estratti dalle vinacce d'uva, della varietà *Vitis Rotundifolia* detta anche uva Muscadine, possono mitigare la formazione di acrilammide durante la reazione di Maillard il che fornisce una nuova applicazione e un valore aggiunto agli scarti delle lavorazioni dell'uva. La *Vitis Rotundifolia* è un'uva originaria degli Stati Uniti sudorientali e la maggior parte degli scienziati divide questo genere in due sottogeneri; l'Euvtis e l'uva Muscadinia, in italiano uva Moscatina. L'uva Moscatina è diversa dall'altro sottogenere, e contiene una grande varietà di polifenoli, in particolare l'acido ellagico, un polifenolo presente in altri frutti come mora, fragola e lampone, ma assente in tutte le altre specie di *Vitis* e la miricetina, un flavonolo non presente nelle altre specie di uva bianca. I polifenoli alimentari sono già stati proposti come promettenti additivi alimentari funzionali in studi precedenti, grazie alla loro potente capacità antiossidante e ad altre attività benefiche per la salute. Il meccanismo alla base di questo tipo di mitigazione è che i polifenoli, che sono sostanze antiossidanti presenti nella maggior parte dei vegetali, agiscono neutralizzando i radicali liberi che si formano durante il metabolismo dell'acrilammide in glicidammide, quindi ne diminuiscono il suo effetto genotossico.

Prima di estrarre i polifenoli sia le bucce che i semi sono stati liofilizzati. 20 g di buccia d'uva è stata macinata con un macinacaffè per 1 minuto e poi setacciata con un setaccio, le polveri ottenute sono poi state conservate a -20° C per essere utilizzate successivamente. 20g di semi d'uva sono stati prima schiacciati e sgrassati con esano in un rapporto di 1:10 per 24 ore a temperatura ambiente; dopo 24 ore l'estratto è stato filtrato sottovuoto ed il residuo è stato distribuito uniformemente su un vassoio e mantenuto nella cappa sottovuoto per far evaporare l'esano rimasto. La polvere ottenuta è stata rimacinata con il macinino, setacciata e conservata a -20°C per utilizzarla successivamente.

Per l'estrazione dei composti fenolici da ciascun campione è stata estratta 0.5 g di polvere con 10 ml di metanolo al 70%; le boccette di estrazione sono state agitate su vortex per 30 s,

sonicate per 10 minuti, mantenute a temperatura ambiente per 60 minuti e sonicate ulteriormente per altri 5 minuti. Gli estratti sono stati trasferiti in provette, centrifugati per 10 minuti, e il surnatante è stato raccolto in provette di vetro, ripetuta l'operazione per due volte il surnatante ottenuto viene filtrato per le ulteriori analisi. Gli estratti nobili, dei semi e della buccia, sono stati separati mediante HPLC e le frazioni sono state raccolte ogni 10 minuti per 50 minuti, quindi sono state raccolte 5 frazioni per ciascuna. Per ottenere un volume sufficiente per lo studio sono state eseguite più separazioni di ciascun estratto, le frazioni raccolte sono state evaporate in un evaporatore rotante a pressione ridotta a 40°, per rimuovere il solvente. Il contenuto fenolico totale nei semi e nelle bucce dell'uva è stato determinato con il metodo di Singleton e Rossi (1965) utilizzando uno spettrofotometro. All'estratto sono stati aggiunti 3900 µl di acqua distillata, 250 µl di reagente Folin-Ciocalteu e 750 µl di carbonato di sodio (Na₂CO₃) al 20% e sono stati miscelati in una provetta. Dopo 30 minuti a bagnomaria a 40°C, è stata misurata l'assorbanza a 760 nm usando come standard l'acido gallico, ed espressa come equivalenti di acido gallico (mg di acido gallico/g di sostanza secca).

In questo studio, gli effetti dei polifenoli sulla riduzione dell'acrilammide sono stati effettuati in un modello chimico di asparagina e glucosio e in un modello di patatine fritte. Il modello chimico era composto da una miscela di 1ml di asparagina, 1 ml di glucosio e 0.5 ml di polifenoli a diverse concentrazioni (50, 100, 200 µg/ml); la miscela dopo essere stata inserita in una fiala di reazione con tappo a vite viene riscaldata in un modulo riscaldante a 180°C circa per 60 minuti, successivamente, dopo essersi essiccate e leggermente bruciate, le fiale sono state immediatamente raffreddate in un bagno di ghiaccio e ridisciolte in 5 ml di acqua distillata seguita da bromurazione e analisi attraverso gascromatografia con rivelatore a cattura di elettroni (GC-ECD) o con cromatografia liquida ad alte prestazioni accoppiata a spettrometria di massa (HPLC-MS).

I polifenoli che avevano ridotto in maniera significativa la presenza di acrilammide nel modello chimico, erano soprattutto i polifenoli nobili della buccia con una riduzione quasi al 100% a differenza di quelli contenuti nei semi che erano risultati meno significativi, probabilmente a causa del loro livello più alto in acido ellagico (fig.13). Inoltre, è possibile osservare dal grafico che segue, che i polifenoli complessi dell'uva e la miscela standard, hanno mostrato una maggiore inibizione della formazione di acrilammide, indicando che i composti fenolici potrebbero avere effetti maggiori quando combinati tra loro.

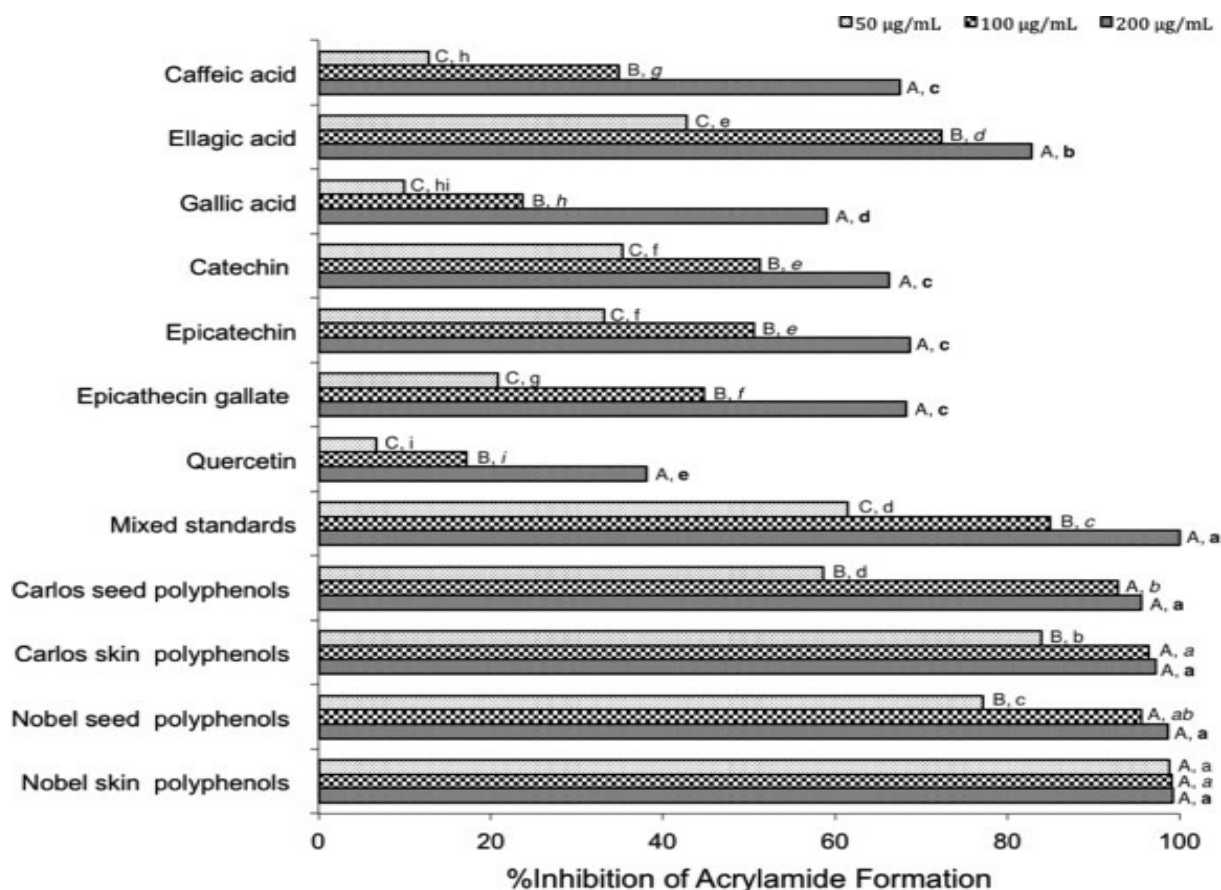


Figura 13 Effetto di diverse concentrazioni di composti fenolici sulla formazione di acrilammide in modelli chimici contenenti 0.8 mM ciascuno di asparagina e glucosio in 2.5ml di acqua, e riscaldati a 180° per 60 min.

Contrariamente a questa varietà d'uva specifica, l'uva utilizzata per il controllo dei dati (varietà comune di rosso da tavola) aveva mostrato una maggiore inibizione per i polifenoli del seme rispetto a quelli della pelle (dati non mostrati). Ciò potrebbe essere attribuito ai bassi livelli di acido ellagico e dei suoi coniugati nella pelle delle altre specie di vite.

Nella seconda parte dello studio, l'inibizione dei polifenoli dell'uva è stata osservata su un modello di patatine fritte. In questo caso le patatine, dopo essere state tagliate a 2 mm di spessore, sono state immerse in soluzioni allo 0.025%, allo 0.05% e allo 0.1% di polifenoli della buccia per 60 minuti a temperatura ambiente, e le patatine per il controllo, invece, sono state immerse in acqua. Successivamente, le patatine sono state scolate per 2 minuti prima della frittura in olio di canola a 175°C per 5 minuti, con una friggitrice elettrica a doppia vasca; le patatine dopo essere state fritte e raffreddate, sono state macinate in polvere. 10 g di questa polvere è stata poi, estratta con 100 ml di soluzione di acido formico allo 0.1% mescolando con uno shaker da polso per 20 minuti, refrigerata per rimuovere lo strato superiore oleoso e

filtrata con un filtro per siringa in nylon da 0.45 μm per raccogliere il surnatante seguito da bromurazione, per consentire una facile identificazione dell'acrilammide, e analisi. I risultati hanno mostrato una riduzione significativa del livello di acrilammide da parte dei polifenoli delle bucce, che in concentrazione allo 0.1% causava una riduzione del 60% circa, risultati molto incoraggianti alla quale si aggiungeva la consapevolezza che la riduzione poteva essere aumentata ancora di più aumentando le concentrazioni dei polifenoli nella soluzione di immersione (fig. 14).

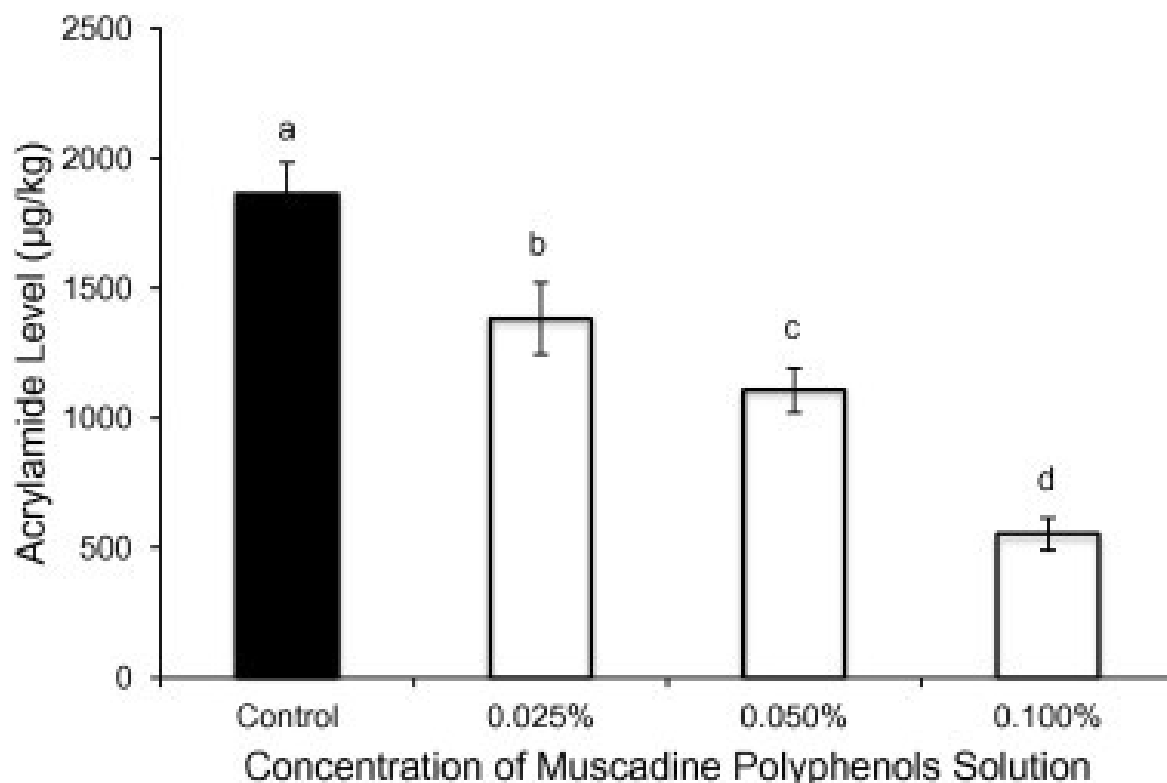


Figura 14 *Relazione tra i livelli di acrilammide e diverse soluzioni di immersione di polifenoli dell'uva per le patatine prima della frittura (tempo di immersione 60 min).*

In conclusione, il meccanismo con cui i polifenoli riescono a ridurre l'acrilammide è ancora incerto, ma sembra che essi riescano ad intrappolarla durante la sua formazione ad alte temperature, inserendola tra i loro gruppi funzionali. Anche in questo caso è confermata la necessità di indagare ulteriormente su questo meccanismo, ma comunque questo studio ha messo in luce un nuovo potenziale per gli scarti delle lavorazioni in cantina e ha dimostrato che polifenoli e antiossidanti potrebbero essere utilizzati come ingredienti alimentari funzionali in una grande varietà di cibi, soprattutto quelli amidacei.

5.3 EFFETTO DEI PRETRATTAMENTI E DELLA FRITTURA AD ARIA SULLA GENERAZIONE DI ACRILAMMIDE

Sempre nel 2015 Sansano M. et al. hanno condotto uno studio basato sulle strategie di mitigazione applicate alla materia prima e alle tecniche di cottura, a differenza degli altri due studi che prevedevano strategie con aggiunta di ingredienti prima del trattamento termico.

Come è già stato detto, la frittura come altre tecniche di cottura ad alte temperature, è una delle principali cause della formazione di acrilammide negli alimenti e l'influenza delle principali variabili di frittura quali la temperatura dell'olio, il tempo di cottura e il rapporto superficie volume, è stato ampiamente studiato negli anni; i risultati di questi studi hanno indicato la temperatura di frittura come il principale fattore di influenza sulla formazione di acrilammide negli alimenti amidacei fritti, infatti, maggiore è la temperatura di frittura, minore è il contenuto di umidità nella patata e maggiore è il contenuto di acrilammide nel prodotto finito. Per questo motivo, sono sempre state studiate alternative alla frittura in olio come la frittura sottovuoto oppure la frittura assistita da microonde, sia per ridurre il contenuto di grassi che per ridurre la formazione di sostanze tossiche come l'acrilammide. Altra strategia molto interessante nella mitigazione di acrilammide è l'applicazione di pretrattamenti prima della frittura attraverso l'immersione del prodotto in soluzioni con agenti chimici che, agiscono riducendo il contenuto dei precursori, o idrolizzando enzimaticamente l'asparagina, o aggiungendo amminoacidi che competono con l'asparagina o controllano la velocità cinetica della reazione di Maillard abbassando il pH. L'obiettivo di questo studio è stato, quindi, quello di valutare la combinazione di alcuni pretrattamenti con agenti chimici con la nuova tecnica di frittura ad aria calda ed il loro effetto su colore, sviluppo di acrilammide o riduzione dei suoi precursori.

I campioni (le fette di patate) sono stati sottoposti a diversi pretrattamenti per abbassare il contenuto di zuccheri riducenti iniziali: sbollentatura a 85° per 5 minuti, immersione in soluzioni di acido citrico, glicina, lattato di calcio, cloruro di sodio e acido nicotinico all'1 e al 2% per 60 minuti o immersione in acqua distillata a temperatura ambiente per 60 min. Successivamente i campioni sono stati asciugati con carta assorbente e poi fritti ad una temperatura di frittura fissa di 180° C in 2 l di olio ogni 100g di patate, per la friggitrice normale, mentre per la friggitrice ad aria sono stati utilizzati 0.3g di olio per la stessa quantità di patate. Le determinazioni del contenuto di acrilammide sono state effettuate utilizzando il metodo di estrazione in fase solida dispersiva detto QuEChERS, originariamente progettato per l'analisi di pesticidi negli alimenti e modificato per l'estrazione di acrilammide, seguendo il metodo descritto da Al-Tasher nel 2011 con alcune modifiche. Tre dischi di patate sono stati

macinati in un frullatore e un sottocampione di patate da 2g, è stato posto in una provetta Falcon da 50ml insieme a 5 ml di esano, e la provetta è stata agitata in un vortice per 30 secondi. Successivamente, sono stati aggiunti alla provetta 10 ml di acqua bidistillata, 10 ml di acetonitrile, 4 g di solfato di magnesio ($MgSO_4$), 0.5 g di cloruro di sodio ($NaCl$) e agitati nel vortice per 1 minuto. La sospensione è stata, poi, centrifugata con una centrifuga che ha una forza di sedimentazione (RCF o Relative Centrifugal Force) di 2026 per 5 minuti, lo strato di esano posto in superficie è stato scartato e 1 ml della fase acetonitrile, contenente l'acrilammide, è stato trasferito in un tubo di polipropilene contenente 50 mg di PSA (primary and secondary amine) e 150 mg di solfato di magnesio, entrambi sali assorbenti, e agitato per 30 secondi. L'omogenato è stato nuovamente centrifugato a 2697 RCF per 1 minuto e il surnatante è stato trasferito in una fiala per l'analisi mediante cromatografia liquida abbinata a spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS)

I risultati hanno mostrato che la tecnologia di frittura ha un'influenza visibile sul colore del prodotto finito, quindi sul grado di imbrunimento enzimatico, infatti la reazione di Maillard è stata molto più rapida nella frittura in olio che in quella ad aria, risultato dovuto alle differenze tra le due tecnologie in termini di cinetica di trasporto di massa e calore, anche se la temperatura del mezzo esterno era di $180^{\circ}C$ in entrambi i casi. Nella figura che segue (fig. 15) sono mostrati, invece, gli effetti dei diversi pretrattamenti sulla diminuzione di zuccheri riducenti, strategia per diminuire lo sviluppo di acrilammide nella successiva frittura.

Pretrattamento	Ridurre	Variazione di
	contenuto di zuccheri (g / 100 g di patate fresche)	riduzione iniziale zuccheri (%)
Patate crude	0,203 (0,005) d	
Controllo	0,20 (0,03) d	-6,54 (1,03)
Sbollentare	0,15 (0,03) bc	-26 (5)
Acido nicotinico 1%	0,146 (0,016) bc	-31 (6)
Acido nicotinico 2%	0,156 (0,009) bc	-23 (5)
Acido citrico 1%	0,133 (0,013) abc	-35 (6)
Acido citrico 2%	0,1237 (0,0112) abc	-39 (6)
Glicina 1%	0,13 (0,02) bc	-39 (5)
Glicina 2%	0,118 (0,013) ab	-42 (6)
NaCl 1%	0,21 (0,02) d	1,3 (1,4)
NaCl 2%	0,097 (0,015) a	-55 (5)
Lattato di calcio 1%	0,158 (0,006) c	-22 (3)
Lattato di calcio 2%	0,130 (0,005) abc	-36 (2)

Figura 15 Riduzione del contenuto di zucchero (g/100g di patate fresche) dei campioni dopo i pretrattamenti e variazione degli zuccheri riducenti iniziali come conseguenza.

Dalla tabella è possibile osservare che quasi tutti i pretrattamenti effettuati, compresa la sbollentatura, hanno prodotto risultati statisticamente significativi che superano il 22% tranne l'immersione in sola acqua per 60 min (controllo) e la soluzione di NaCl all'1%.

Nella seconda parte dello studio sono stati osservati, anche, i ruoli che agenti chimici e tecniche di frittura hanno sulla formazione di acrilammide. Come mostrato nella figura che segue (fig. 16), la frittura ad aria ha determinato una riduzione del 77% nella formazione di acrilammide, anche senza l'applicazione di pretrattamenti con agenti chimici.

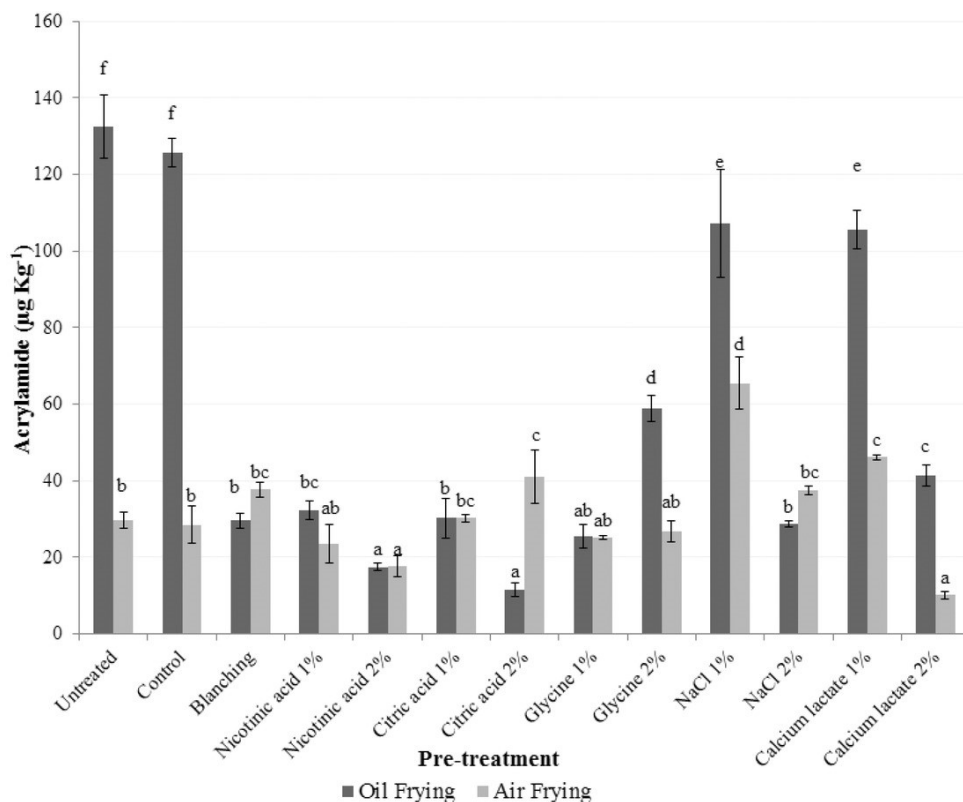


Figura 16 *Contenuto di acrilammide di patate fritte sottoposte ai diversi pretrattamenti studiati e al tempo di frittura di riferimento in olio e in aria.*

Sorprendentemente, i campioni pretrattati con NaCl all'1% o con lattato di calcio presentavano un contenuto di acrilammide più alto rispetto al controllo e ai campioni fritti ad aria non pretrattati, a differenza di quanto ci si aspettava come conseguenza dei risultati sugli zuccheri riducenti. Si può notare anche che il pretrattamento con acido citrico causava una riduzione del 77% e del 91%, rispettivamente all'1 e al 2 % di concentrazione della soluzione, effetto attribuito, probabilmente, a un importante calo del pH. Inoltre, è possibile osservare che il pretrattamento più efficace in entrambe le tecniche di frittura è sicuramente quello con l'acido nicotinic al 2% e, come dimostrato da studi precedenti, l'utilizzo di questo agente come pretrattamento non aveva dimostrato nessuna influenza sulle caratteristiche organolettiche del prodotto finito, quindi un risultato molto promettente.

In conclusione, dai risultati ottenuti in questo studio è stato dimostrato che, l'efficacia della nuova tecnologia di frittura è risultata molto importante per la mitigazione di acrilammide negli alimenti fritti anche senza pretrattamenti e che, per quanto riguarda la frittura convenzionale in olio, i pretrattamenti giocano, al contrario, un ruolo importantissimo nella mitigazione della sostanza anche se risulta essere utile valutare la ripercussione sensoriale di qualsiasi strategia prima dell'applicazione.

CONCLUSIONI

L'elaborato in analisi si propone di illustrare i processi che portano allo sviluppo di acrilammide negli alimenti, sostanza considerata tossica e potenzialmente cancerogena, a partire dallo studio della reazione coinvolta nella sua formazione, fino alla ricerca di possibili strategie per la sua mitigazione.

La formazione di acrilammide negli alimenti è permessa dalla reazione di Maillard, considerata una delle più importanti a livello alimentare che non può essere eliminata ma solo controllata, in quanto gli effetti positivi che essa provoca sono considerati fattori molto importanti nella valutazione del consumatore.

Nel corso della discussione viene analizzata l'influenza della temperatura sui processi alterativi degli alimenti e delle diverse tipologie di cottura fino al ruolo che essa possiede nella formazione di acrilammide. Si è visto come questa sostanza, analizzata negli studi scientifici condotti dalle principali autorità in campo alimentare, incida in maniera negativa sulla salute dei consumatori causando potenzialmente conseguenze anche molto gravi, quali l'aumento del rischio di sviluppo del cancro e altri effetti neurotossici e genotossici.

Attraverso l'illustrazione delle principali tappe avvenute nel corso dell'ultimo ventennio che descrivono la formazione, gli effetti e la mitigazione dell'acrilammide negli alimenti, si è giunti all'emanazione del Regolamento 2178/2017 da parte della Commissione Europea, che sancisce delle vere e proprie regole che tutti gli operatori del settore alimentare devono applicare durante la lavorazione degli alimenti per ridurre al livello minimo accettabile il contenuto di acrilammide in essi.

In seguito all'emanazione di questo regolamento, la ricerca scientifica si è focalizzata, principalmente, su un unico obiettivo, quello di ridurre al minimo la formazione di questa sostanza tossica senza incidere negativamente sulle qualità organolettiche dell'alimento stesso e di non permettere lo sviluppo di altre alterazioni.

Gli studi presi in considerazione nell'elaborato si propongono di valutare l'effetto di alcuni agenti chimici, di sostanze naturali e di un'innovativa tecnica di cottura sulla riduzione percentuale di acrilammide o dei suoi precursori. I risultati ottenuti sono stati reputati molto incoraggianti dal punto di vista della mitigazione e, per questo motivo i ricercatori sono

orientati a continuare la sperimentazione di nuove sostanze e nuove tecniche da applicare in tutta la catena alimentare per arrivare all'eliminazione completa di questa sostanza negli alimenti.

Alla luce dei risultati osservati nel corso delle ricerche si consiglia a tutti in consumatori di condurre una dieta sana ed equilibrata e di privilegiare metodi di cottura che aiutino a limitare la perdita delle proprietà nutrizionali degli alimenti e a ridurre al minimo la formazione di sostanze tossiche come l'acrilammide.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- <https://www.apincu.it/approfondimento/sicurezza-alimentare/tecniche-conservazione/>
- <https://www.alimentehaccp.com/2017/08/13/misurare-la-sicurezza/>
- <https://login.ezproxy.cad.univpm.it/login>
- <https://www.my-personaltrainer.it/alimentazione/tecniche-di-cottura.html>
- <https://www.efsa.europa.eu/it>
- <http://www.fao.org/home/en/>
- <https://www.fooddrinkeurope.eu/>
- Nigel G. Halford, Tanya Y. Curtis, Nira Muttucumaru, Jennifer Postles, J. Stephen Elmore, Donald S. Mottram, The acrylamide problem: a plant and agronomic science issue, *Journal of Experimental Botany* , Volume 63, Issue 8, May 2012 , Pagine 2841–2851
- Processing strategies to decrease acrylamide formation, reducing sugars and free asparagine content in potato chips from three commercial cultivars [Dilumi W.K.](#) et al.
- Contemporary and controversial aspects of the Maillard reaction products(Review) [Bastos, D.H.M.^a](#), [Gugliucci, A.^b](#),
- Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods Hans Lingnert, Spiros Grivas, Margaretha Jägerstad, Kerstin Skog, Margareta Törnqvist & Per Åman
- LIBRO FOOD CHEMISTRY 4th edizione di H.-D. Belitz
- Acrylamide in food M. LÜTZOW Manfred Lützow is FAO Secretary of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).
- Effect of Pretreatments and Air-Frying, a Novel Technology, on Acrylamide Generation in Fried Potatoes. M. Sansano M. Juan-Borrás I. Escriche A. Andrés A. Heredia
- Activities of hydrocolloids as inhibitors of acrylamide formation in model systems and fried potato strips [XiaohuiZeng^a](#)[Ka-WingCheng^a](#)[YegangDu^a](#)[RickyKong^b](#)[CliveLo^a](#)[Ivan K.Chu^b](#)[FengChen^a](#)[MingfuWang](#)

-Application of muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.) pomace extract to reduce carcinogenic acrylamide.

[ChangmouXu^aYavuzYagiz^aSaraMarshall^aZhengLi^aAmaratSimonne^bJiangLu^cMaurice R.Marshall^a](#)

-Functional properties of melanoidins: In vitro antioxidant, antimicrobial and antihypertensive activities. [José A.Rufián-Henares^aFrancisco J.Morales^b](#)

-The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. [MajidNooshkamMehdiVaridiMoeinBashash](#)

-Dehydrated foods, Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. Hodge, J.E

RINGRAZIAMENTI

C'è una frase che mi ha accompagnata durante tutto il percorso universitario: “la felicità è reale solo se condivisa”. Molti di noi non ci pensano, ma è davvero così, in questi anni l'ho capito, ogni piccolo traguardo raggiunto, dal primo esame fino all'ultimo, non vedevo l'ora di dividerlo con qualcuno che sia da vicino, sia da lontano mi ha aiutato a raggiungerlo. Per questo motivo non potevo che condividere con voi questo mio grandissimo traguardo e ringraziarvi per tutto il supporto che ognuno di voi mi ha dato in questi anni, perché senza di voi non sarei arrivata fin qui. Vi ringrazio perché avete creduto in me più di quanto ci credessi io, vi ringrazio perché nei momenti difficili, e ce ne sono stati tanti, anche quando tutto sembrava andare storto, voi ci siete stati, voi mi avete spinto a riprovare sempre e vi ringrazio soprattutto perché avete condiviso con me tutti i momenti belli che questo percorso mi ha regalato e che custodirò per sempre.

Ringrazio la mia relatrice, la prof. Pacetti per il supporto che, da lontano, mi ha dato nonostante il brutto periodo che stiamo vivendo, e la ringrazio soprattutto perché è stata uno dei pochi motivi per cui non ho smesso di credere in questo percorso anche quando tutto andava per il verso sbagliato, una Persona oltre che una Professoressa capace di essere dolce e allo stesso tempo autorevole ma mai autoritaria.

Ringrazio voi, mamma e papà, per avermi supportato in primis economicamente ed in secundis, moralmente. Grazie perché senza di voi non sarei la donna che sono oggi, grazie per tutti i valori che mi avete trasmesso e grazie per l'amore che mi avete donato. Grazie perché avete fatto di tutto per non farmi mancare mai nulla, spero di essere in grado, un giorno, di ricambiare in qualche modo tutti i vostri sacrifici per me, intanto prometto di amarvi per sempre più di qualsiasi altra cosa.

Ringrazio voi, sorellone mie, per tutto quello che fate ogni giorno per me, per tutto l'amore che mi date e per tutti i nostri momenti. Grazie perché se sono così è anche grazie a voi, grazie

perché avete sempre creduto in me e grazie per avermi dato sempre un posto sicuro in cui tornare.

Ringrazio i miei cognati, i miei due uomini, per aver ascoltato tutti i miei sfoghi e per tutti i passaggi che in questi anni mi avete dato. Grazie perché anche voi mi avete supportato e sopportato durante questo percorso, grazie perché avete reso felici le mie sorellone e grazie perché mi avete regalato la cosa più bella di tutta la mia vita, i miei Nipoti.

Grazie anche a voi piccoli miei, perché senza di voi non sarei arrivata fin qui, grazie perché mi avete donato un amore immenso e grazie perché avete riempito la mia vita ed il mio cuore di gioia, questo traguardo lo dedico anche a voi.

Grazie a tutta la mia big family, gli zii, i cugini e tutti gli altri nipotini. Grazie perché ognuno di voi mi ha dato il sostegno di cui avevo bisogno e grazie per esserci sempre stati, siete la famiglia che tutti vorrebbero avere e che io ho la fortuna di avere.

Grazie a te Pas, grazie per essere stato il mio esempio, ho fatto tutto ciò che potevo per essere un po' come te, grazie per essere stato il mio fratello maggiore quando ne avevo bisogno e il mio migliore amico quando volevo ridere. Grazie per avermi ascoltata, grazie per le risate, grazie per le cazzate fatte da piccoli, grazie per tutti i bei momenti, grazie per tutte le nostre cene e i nostri aperitivi infiniti. Ti voglio un bene dell'anima.

Grazie a voi, ANNAMARIA, ALESSANDRA E LUCIA, le coinquiline migliori di tutto il mondo, niente sarebbe stato lo stesso senza di voi. Quante ne abbiamo fatte insieme? Siete state una parte fondamentale di questo percorso, vi porterò dentro me per sempre. Grazie per tutte le risate, per tutti i pianti e per tutti i brindisi insieme, grazie per avermi sopportato anche quando ero insopportabile, grazie perché mi avete insegnato tanto in questi anni, grazie per tutti gli abbracci che mi avete dato e grazie per essere state sempre presenti sia quando ne avevo bisogno che quando non ne avevo e grazie per tutte le avventure e disavventure insieme. Grazie perché mi avete fatto scoprire il vero significato della parola amicizia e grazie per aver condiviso con me gli anni più belli di tutta la mia vita. Giuro che farò di tutto per non perderci mai perché per me siete IMPORTANTI.

Ringrazio te, la Mia Persona, Geny. Grazie per tutto quello che abbiamo vissuto insieme da quel maledetto esame fino ad oggi. Grazie perché nonostante i caratteri diversi ci siamo capite da subito. Grazie per tutte le avventure insieme, grazie per gli abbracci, le risate, i pianti e le bevute insieme. Grazie a te e alle altre tre per avermi rialzata ogni volta che cadevo, nel vero senso della parola. Grazie anche per le litigate che mi hanno fatto crescere e grazie per questo Nostro percorso insieme, sei diventata una persona fondamentale nella mia vita che porterò sempre con me. Anche a te prometto che farò di tutto per non perderci mai.

Poi ringrazio tutti i compagni di viaggio, la mia seconda famiglia, Gianluca, Nicholas, Valentina, Paolo, Pistolino, Pupetta, Giada, Ivan, Laura, Giuseppe, Tommaso, Giorgio e tutti gli altri che hanno contribuito a rendere questo percorso meraviglioso, grazie per tutte le serate insieme, per tutte le risate, per tutte le cene e i pranzi che non mi hanno mai fatto sentire sola.

Grazie agli amici di una vita Giovanni e Camilla che nonostante tutto sono sempre rimasti al mio fianco.

Grazie anche agli amici lontani Fulvio e Tommaso, i miei due fratelli e Roberta e Antonella, che nonostante le distanze ho sempre portato nel cuore.

Infine, voglio ringraziare me stessa per avercela fatta nonostante tutto.

Grazie ancora a tutti voi, spero di avervi reso, almeno un po', più orgogliosi di me.

VI VOGLIO UN BENE IMMENSO

Alessia