



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
FACOLTÀ DI AGRARIA

Dipartimento di Biotecnologie Agrarie

TESI DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

SICUREZZA DEGLI ADDITIVI COLORANTI NEGLI ALIMENTI

Relatore:

Prof. Gabriella Pasini

Laureando:

Claudio Gazzaroli

Matricola n. 554188 STL

ANNO ACCADEMICO 2008-2009

INDICE:

1 RIASSUNTO	1
2 INTRODUZIONE.....	3
3 COSA SONO GLI ADDITIVI.....	5
3.1 DEFINIZIONE DI ADDITIVO COLORANTE	9
4 REAZIONI AVVERSE AGLI ALIMENTI	13
5 ORIGINE E REATTIVITÀ DEGLI ADDITIVI COLORANTI NATURALI	17
5.1 CARMINIO (E 120).....	18
5.1.1 Casi di reazioni avverse al carminio	18
5.2 ANNATTO (E 160b).....	20
5.2.1 Casi di reazioni avverse all'annatto	21
5.3 CURCUMA (E 100).....	23
5.3.1 Casi di reazioni avverse alla curcuma.....	24
5.4 CAROTENOIDI: BETA CAROTENE E CANTAXANTINA (E 160A / E 161G)	26
5.4.1 Casi di reazioni avverse ai carotenoidi.....	27
5.5 ZAFFERANO	29
5.5.1 Casi di reazioni avverse allo zafferano	30
5.6 ANTOCIANI (E 163).....	31
5.6.1 Casi di reazioni avverse agli antociani.....	33
6 ORIGINE E REATTIVITÀ DEGLI ADDITIVI COLORANTI SINTETICI.....	35
6.1 ERITROSINA (E 127).....	40
6.2 TARTRAZINA (E102).....	42
6.3 ROSSO CARMOISINA - AZORUBINA (E 122).....	45
6.4 BLUE BRILLANTE FCF (E 133).....	47
6.5 BROWN FK (E 154).....	49
7 CONCLUSIONI.....	51
8 BIBLIOGRAFIA.....	55
9 RINGRAZIAMENTI.....	61

1 RIASSUNTO

L'utilizzo di additivi coloranti rappresenta una soluzione a cui l'industria alimentare quotidianamente fa ricorso, al fine di poter ripristinare o ravvivare l'aspetto cromatico originale di un alimento. Questo aspetto è importante perché influisce sulle scelte del consumatore al momento dell'acquisto.

Al fine di soddisfare questa esigenza, l'industria alimentare utilizza sostanze naturali e artificiali con proprietà pigmentante. Per questo motivo, è particolarmente importante studiare e valutare tali sostanze, affinché non siano causa di potenziali problemi nel consumatore.

In questa ricerca bibliografica, ho raccolto molti studi relativi alla sicurezza d'uso di queste sostanze evidenziando che il rischio per il consumatore è sempre in agguato.

ABSTRACT

The use of additives colouring represents a solution to which the food industry used to restore or revive the original colour appearance of foods. This is an important aspect because it can influence the consumer buying the food product.

However, in order to meet this need, food industry uses natural or artificial substances with colouring properties.

For this reason, it is important to study and assess the safety of these additives colouring in order to protect the consumer.

In this literature search, I collected a lot of studies concerning the safe use of these substances, emphasizing that the risk to the consumer is always present.

2 INTRODUZIONE

L'esigenza di poter trasformare e conservare gli alimenti è da sempre una necessità che contraddistingue la storia dell'uomo. Per questo motivo l'uomo stesso, ha nel corso del tempo imparato a processare le varie derrate alimentari, in maniera sempre più efficiente e sicura. Oggigiorno infatti si può contare su un'ampia e diversificata gamma di tecniche che, se pur differenti nella loro applicazione permettono il raggiungimento dello scopo prefissato. Questo in definitiva permette di avere numerosi alimenti in grado di soddisfare le esigenze odierne, di avere sempre più spesso prodotti pronti all'uso, di facile preparazione e con caratteristiche organolettiche capaci di catturare l'attenzione del consumatore.

A tale scopo, oltre ai metodi di conservazione (fisici, chimici e biologici) l'industria alimentare utilizza additivi in grado di svolgere diverse funzioni negli alimenti ivi compreso il miglioramento delle caratteristiche organolettiche dei prodotti.

Con il presente lavoro si vuole porre l'attenzione sugli additivi alimentari, in particolare modo sugli **additivi coloranti**. Si tratta in definitiva di un approfondimento relativo al loro utilizzo negli alimenti valutando allo stesso tempo la funzione, il dosaggio e non ultimo per importanza la sicurezza d'uso di queste sostanze, nei confronti dell'organismo umano.

Detto questo bisogna pure sottolineare, come a seguito dello sviluppo continuo della scienza e delle tecnologie alimentari, oggi si disponga in definitiva di un'ampia gamma di nuove sostanze, che essendo in grado di garantire varie funzioni permettono il mantenimento nel tempo delle proprietà e delle caratteristiche delle derrate alimentari.

3 COSA SONO GLI ADDITIVI

Facendo riferimento al Decreto Ministeriale N. 209 del 27 Febbraio 1996 per **additivo** alimentare intendiamo: *qualsiasi sostanza normalmente non consumata come alimento in quanto tale e non utilizzata come ingrediente tipico degli alimenti, indipendentemente dal fatto di avere un valore nutritivo, che aggiunta intenzionalmente ai prodotti alimentari per un fine tecnologico nelle fasi di produzione, trasformazione, preparazione, trattamento, imballaggio, trasporto o immagazzinamento degli alimenti, si possa ragionevolmente presumere che diventi, essa stessa e i suoi derivati, un componente di tali alimenti, direttamente o indirettamente.*

Dalla definizione possiamo in definitiva comprendere, come a tale categoria appartengano gruppi di sostanze eterogenee, in grado di garantire importanti effetti relativi alla conservazione, consistenza, struttura e al colore degli alimenti stessi.

Gli additivi comprendono le seguenti categorie di sostanze, che dal punto di vista normativo vengono considerati additivi volontari.

- Coloranti
- Conservanti
- Antiossidanti
- Emulsionanti
- Sali di fusione
- Addensanti
- Agenti gelificanti
- Stabilizzanti
- Esaltatori di sapidità
- Acidi
- Regolatori di acidità
- Antiagglomeranti
- Amidi modificati
- Edulcoranti
- Agenti lievitanti
- Agenti antischiumogeni
- Agenti di rivestimento
- Agenti di trattamento delle farine
- Agenti di resistenza

- Agenti umidificanti
- Agenti sequestranti
- Enzimi
- Agenti di carica
- Gas propulsore e gas per imballaggio

Ovviamente il termine "volontario" è riferito alle sostanze che vengono addizionate al prodotto alimentare in una delle possibili fasi del processo, in funzione delle loro proprietà che li contraddistinguono, piuttosto che per le caratteristiche che a livello di prodotto si vogliono ottenere.

Bisogna pure precisare, che il ricorso all'utilizzo di tali sostanze è consentito dalla normativa ma, allo stesso tempo impone una serie di importanti parametri che necessariamente devono essere rispettati. A questo proposito possiamo dire che il ricorso all'utilizzo di tali sostanze può avvenire, garantendo il rispetto delle seguenti condizioni:

- 1) Qualora si possa dimostrare l'esistenza di una sufficiente necessità tecnologica e l'obiettivo ricercato non possa essere conseguito con altri metodi dal punto di vista tecnologico ed economico;
- 2) Se non presentano un pericolo per la salute del consumatore nelle dosi proposte, per quanto attualmente consentano di giudicare i dati scientifici a disposizione;
- 3) Se non inducono il consumatore in errore;

Questo in definitiva comporta che, tutti gli additivi prima di essere autorizzati all'uso, debbano essere sottoposti a valutazioni di sicurezza completa e rigorosa; allo stesso tempo però è da sottolineare che una volta approvate, tali sostanze sono comunque mantenute sotto controllo, e nel caso si acquisiscano nuove informazioni il parere relativo all'utilizzo di tali sostanze può essere rivisto, modificato e addirittura sospeso. Questa importante azione di controllo e di valutazione è garantita dal "Comitato Scientifico dell'Alimentazione Umana della Commissione Europea" (S.C.F.) il quale svolge la propria attività a livello di Comunità Europea, affiancato dal "Comitato congiunto di esperti sugli additivi alimentari" (JECFA), che altro non è che un ulteriore organismo a livello internazionale ottenuto dalla collaborazione tra l'Organizzazione Mondiale della Salute (OMS) e l'Organizzazione per l'Alimentazione e l'Agricoltura (FAO).

Lo scopo delle attività svolte da entrambi gli organismi è di ottenere delle valutazioni relative all'impiego degli additivi alimentari; vale a dire determinare per ogni singola sostanza la quantità massima ammissibile giornalmente (DGA), la loro non tossicità nei confronti dell'uomo determinata attraverso sperimentazioni a livello di campioni animali oppure osservazioni condotte su persone, prima di concedere il loro utilizzo a livello applicativo.

A tale proposito è sicuramente importante sottolineare il fatto che la *dose giornaliera ammissibile* (DGA), è quella quantità di una data sostanza, espressa in relazione alla massa corporea (mg/kg), che può essere introdotta giornalmente, nella vita quotidiana o anche per tutta la vita, senza che vi siano rischi per l'organismo stesso (o livello a effetto zero).

La certezza sulla sicurezza a tale dose è comunque garantita dal fatto che si tratta di quantitativi sicuri alla luce della conoscenza scientifica odierne, frutto di un'importante attività di ricerca, e determinate garantendo importanti margini di sicurezza. Ovviamente uno dei possibili compiti del comitato scientifico dell'alimentazione umana è di verificare che il consumo degli additivi, attraverso le varie derrate alimentari, non vada al di sopra di quanto stabilito; anzi possiamo dire ci sia da parte del comitato la volontà di suggerire l'impiego delle minori quantità possibili.

Nel caso in cui si verifichi l'utilizzo costante e in quantità superiori ai limiti stabiliti, il Comitato stesso può intervenire e se lo ritiene necessario ridurre i livelli di additivi nei prodotti in linea con i quantitativi necessari a garantire la conservazione del prodotto, oppure limitare la gamma degli alimenti contenenti tali sostanze, in maniera tale da eliminare i possibili effetti dannosi che tali sostanze, se consumate in eccesso e per lunghi periodi, potrebbero comportare.

Infine un importante vantaggio, che può essere garantito da una adeguata normazione sia a livello comunitario che a livello internazionale è la possibilità di facilitare il commercio tra i vari paesi, grazie ad una adeguata definizione dei limiti stabiliti uguali per tutti.

Tra gli altri requisiti che gli additivi devono necessariamente soddisfare al fine di poter essere utilizzati, dobbiamo sicuramente ricordare:

- l'additivo non deve essere utilizzato al fine di mascherare un'eventuale alterazione dell'alimento, traendo così in inganno il consumatore finale;

- L'additivo non deve essere utilizzato per nascondere un'eventuale frode commerciale; anzi è da ricordare che l'obiettivo per il quale si ricorre all'utilizzo di tali sostanze è il fatto di poter preservare nel tempo una derrata alimentare, garantendo un proprio valore nutrizionale, specifiche caratteristiche organolettiche, evitando il formarsi di eventuali molecole dannose o tossiche per l'organismo;
- Tutti gli additivi utilizzati devono essere permessi dai vari organismi competenti, rispettosi dei parametri relativi alla purezza (vedere quanto stabilito dalla direttiva 128/2008).

Dopo questa breve discussione generica relativa agli additivi alimentari, passiamo più nel dettaglio, trattando in particolare gli additivi coloranti.

Nella realtà è da sottolineare come l'aspetto cromatico di un qualsiasi oggetto (perché non pure di un alimento) sia di estrema importanza, al punto tale da avere importanti ripercussioni nella valutazione dell'oggetto stesso. Premesso che il colore è una caratteristica tipica di ogni singolo alimento, determinata dalla presenza di una serie di molecole di varia natura (cromofore), rappresenta la capacità che l'alimento stesso ha di riflettere, assorbire o omettere una certa quantità di energia, e proprio in funzione della quantità di energia non assorbita (ma diffusa), verrà determinato un colore specifico.

L'aggiunta di sostanze coloranti, ad un qualsiasi alimento, non deve essere inteso solo come un miglioramento dell'aspetto estetico - esteriore del prodotto stesso, ma si deve considerare che tale aspetto ha importanti ripercussioni nella percezione che il consumatore avrà dell'alimento stesso. Infatti, nella maggior parte dei casi, all'occhio umano un alimento ben colorato appare migliore, perché sinonimo di una maggiore qualità del prodotto, indice di ottima conservazione, indipendentemente si tratti di prodotto fresco o di prodotto stabilizzato (determinando un'importante ripercussione psicologica sul consumatore), oppure ancora perché ad un prodotto colorato spesso si associa una maggiore intensità di sapore e aroma e quindi una maggiore qualità di prodotto (sinestesia).

Per questo motivo, è di facile comprensione l'importanza delle sostanze coloranti, che possono essere addizionate a prodotti alimentari al fine di ripristinare il colore originale, ravvivare, intensificare il colore, che durante queste fasi di trasformazione e/o conservazione, è andato in parte perso. Inoltre un'ulteriore spiegazione che può essere data, per quanto riguarda l'utilizzo degli additivi con proprietà pigmentanti, è che da

parte dell'industria di trasformazione, possa essere garantita una certa standardizzazione del colore del prodotto, piuttosto che un'uniformità nella partita stessa, eliminando possibili variazioni riscontrabili sulla materia prima.

3.1 DEFINIZIONE DI ADDITIVO COLORANTE

Facendo riferimento alla vecchia Direttiva 94/36 CE, sostituita dal Regolamento 1333/2008, per *colorante* intendiamo, *«sostanze in grado di conferire colore ad un alimento, o di ricostituire la colorazione originale, includendo componenti naturali presenti nei prodotti alimentari e altri elementi di origine naturale, normalmente non consumati come alimento né utilizzati come ingrediente tipico degli alimenti»*.

Quindi sono da considerarsi coloranti, le preparazioni ottenute dai prodotti alimentari o da altri materiali di origine naturale, ottenuti mediante processi chimici/fisici che comportino l'estrazione selettiva del pigmento dal mezzo.

Tuttavia bisogna ricordare che oltre ai coloranti estratti da matrice naturale, oggi si dispone di coloranti di sintesi, sintetizzati dall'uomo al fine di imitare alcuni pigmenti naturali. Questo in definitiva permette di classificare gli additivi coloranti:

- Coloranti Organici naturali o di sintesi
- Coloranti Inorganici

La necessità di produrre per sintesi alcuni pigmenti in passato è stato inevitabile, al punto che negli ultimi decenni la loro produzione è stata particolarmente intensa, nonostante le proprietà positive che contraddistinguono i coloranti naturali. Il motivo è legato principalmente al fatto che questa tipologia di pigmenti è in grado di garantire una maggiore stabilità alle fluttuazioni termiche, alle variazioni di pH, maggiore resistenza al deterioramento dovuto alla luce e resistenti a eventuali processi di ossidazione che si potrebbero instaurare.

Sempre a tale proposito è da ricordare che, l'uomo al fine di soddisfare questa esigenza, è stato in grado di sintetizzare tali sostanze, ma alcune delle sostanze successivamente si sono dimostrate particolarmente nocive per l'uomo stesso (basti ricordare alcuni esempi: Rosso Sudan, Giallo Burro).

Detto questo, è pur vero che questa necessità oggi potrebbe essere meno marcata, per il fatto che in ambito tecnologico sono stati fatti importantissimi miglioramenti che

permettono un adeguato mantenimento del prodotto (ad esempio la catena del freddo, atmosfere protettive).

Quest'ultimo aspetto, in definitiva potrebbe essere un importante spunto per l'industria alimentare, vale a dire, ritornare ad utilizzare prevalentemente pigmenti naturali.

Come tutti gli additivi autorizzati all'uso e riconosciuti a livello di Comunità Europea (ben 43 tipologie di coloranti autorizzati oggi giorno), i coloranti sono classificati e identificati con una lettera E seguita da un numero compreso tra 100 e 180.

In questa maniera abbiamo che tutti i coloranti compresi tra il 100 e il 163 sono tutti coloranti organici naturali o di sintesi, mentre i restanti (dal 170 al 180) sono coloranti inorganici - minerali.

ALLEGATO I

ELENCO DEI COLORANTI ALIMENTARI AMMESSI

Nota: È autorizzato l'uso di pigmenti di alluminio preparati con le sostanze coloranti specificate in questo allegato.

N. CE	Nome comune	Numero CE (1) o descrizione
E 100	Curcumina	75300
E 101	i) Riboflavina ii) Riboflavina-5'-fosfato	
E 102	Tartrattina	19140
E 104	Giallo di chinolina	47005
E 110	Giallo tramonto FCF Giallo arancio S	15985
E 120	Cocciniglia, Acido carminico, vari tipi di Carminio	75470
E 122	Azzurro, Carmoisina	14720
E 123	Amaranto	16185
E 124	Porceau 4R, Rosso cocciniglia A	16255
E 127	Eritrosina	45430
E 128	Rosso 2G	18050
E 129	Rosso allura AC	16055
E 131	Blu patentato V	42051
E 132	Indigotina, Carminio d'Indaco	73015
E 133	Blu brillante FCF	42090
E 140	Clorofille e clorofiline i) clorofille ii) clorofiline	75810 75815
E 141	Complessi delle clorofille e delle clorofiline con rame i) complesso delle clorofille con rame ii) complessi delle clorofiline con rame	75815
E 142	Verde S	44090
E 150a	Caramello semplice (1)	
E 150b	Caramello solfito-caustico	
E 150c	Caramello ammoniacale	
E 150d	Caramello solfito-ammoniacale	
E 151	Nero brillante BN, Nero PN	28440
E 153	Carbone vegetale	
E 154	Bruno FK	
E 155	Bruno HT	20285

N. CE	Nome comune	Numero CI ⁽¹⁾ o descrizione
E 160a	Caroteni i) Caroteni misti ii) Beta-carotene	75130 40820
E 160b	Anatto, Bixina, Norbixina	75120
E 160c	Estratto di paprica, Capsantina, Capsorubina	
E 160d	Licopina	
E 160e	Beta-apo-8'-carotenale (C: 30)	40820
E 160f	Estere etilico dell'acido beta-apo-8'-carotenico (C: 30)	40825
E 161b	Luteina	
E 161g	Canthaxantina	
E 162	Rosso di barbabietola, betanina	
E 163	Antociani	Estratti dai prodotti orto- frutticoli con procedimenti fisici
E 170	Carbonato di calcio	77220
E 171	Biossido di titanio	77891
E 172	Ossidi e idrossidi di ferro	77491 77492 77499
E 173	Alluminio	
E 174	Argento	
E 175	Oro	
E 180	Litoleubina BK	

⁽¹⁾ I numeri CI sono ripresi dall'opera «Color Index», terza edizione, 1982, volumi 1-7, 1515, nonché dalle modifiche 37-40 (125), 41-44 (127-30), 45-48 (130), 49-52 (132-30), 53-56 (135).

⁽²⁾ La denominazione «Canthaxantina» indica le sostanze di colore bruno più o meno scuro destinate alla colorazione. Tale denominazione non indica il prodotto maccheronico e maccheronico essiccato riscaldando lo zucchero e utilizzato per aromatizzare alimenti (ad es. dolciari, prodotti di pasticceria e bevande analcoliche).

Figura 1: Allegato n. 1 della Direttiva Comunitaria 94/36, riguardante i coloranti autorizzati all'uso.

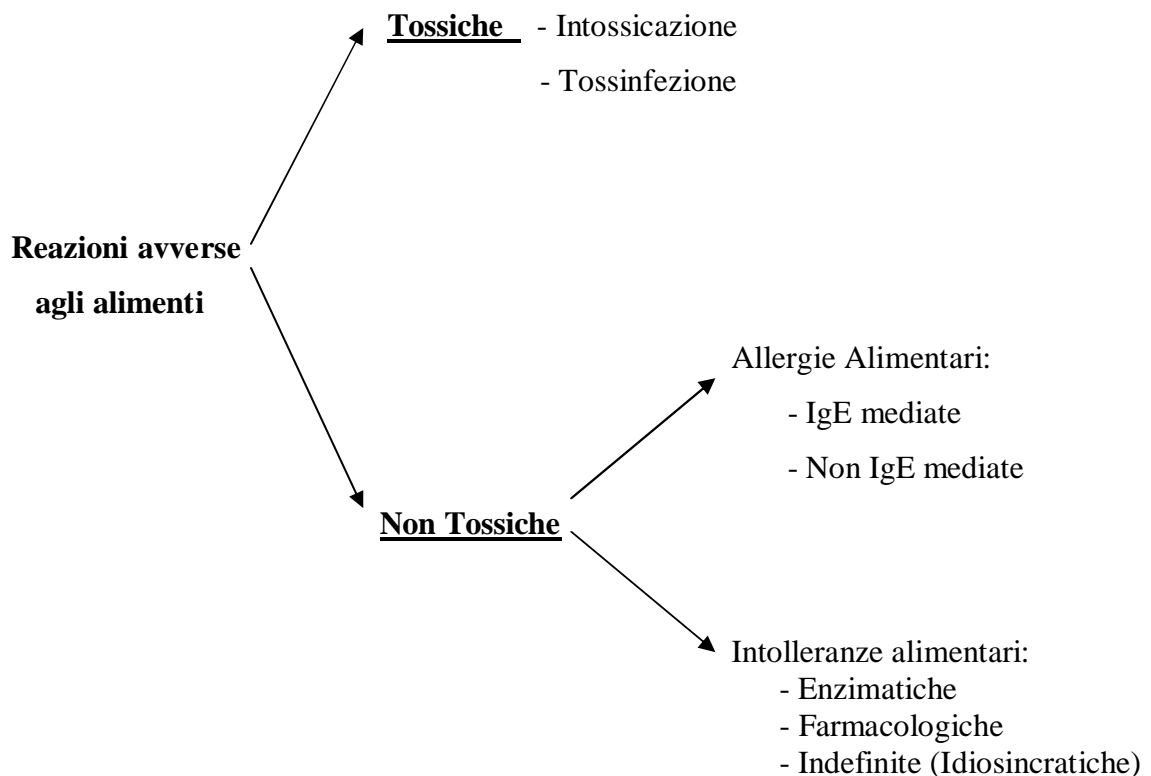
Sempre per quanto riguarda i coloranti, diventa fondamentale fare un'importante precisazione, relativamente al fatto che non sono da considerarsi additivi con proprietà pigmentante:

- 1) gli estratti e i succhi di vegetali e di frutta (ad esempio carota, sambuco, limone, fragola, prezzemolo);
- 2) i prodotti alimentari essiccati o concentrati;
- 3) le sostanze aromatiche dotate di effetto colorante secondario, come paprica, zafferano;
- 4) i pigmenti utilizzati per colorare le parti esterne non commestibili di prodotti alimentari (rivestimenti di insaccati o di formaggi).

4 REAZIONI AVVERSE AGLI ALIMENTI

Premesso il ruolo fondamentale dei vari alimenti nel conseguimento di una dieta sana, equilibrata, e in grado di soddisfare il fabbisogno energetico, è sicuramente da considerare il fatto che essi o alcuni loro componenti possano essere all'origine di possibili problematiche, più o meno gravi per l'uomo.

A questo proposito può essere interessante valutare il ruolo che tali sostanze possono avere nello scatenare possibili reazioni avverse, le quali si possono differenziare in reazioni avverse non tossiche e reazioni avverse tossiche.



Nel caso si considerino le reazioni avverse non tossiche, intendiamo allergie o intolleranze; le **allergie** sono determinate principalmente dalla suscettibilità degli individui coinvolti, dovute a predisposizione genetica dell'individuo, che per una data sostanza non dispone della Tolleranza Orale; cioè l'organismo non è in grado di riconoscere una data sostanza, determinando l'instaurarsi di una risposta immunitaria.

In questa maniera, abbiamo così l'intervento dei basofili (particolare categoria di globuli bianchi presenti nel flusso ematico) e mastociti, cellule non mobili fissate alla mucosa di cui si compongono i vasi capillari dell'organismo. Queste particolari tipologie di cellule, presentano sulla loro superficie anticorpi specifici di tipo IgE, i quali sono prodotti come conseguenza dell'esposizione ad una molecola, quasi sempre di natura proteica, con proprietà antigena da parte dei linfociti di tipo B (fase di sensibilizzazione).

Nel momento in cui abbiamo una successiva esposizione alla molecola con proprietà antigena (fase post- sensibilizzazione), si verifica il rilascio di mediatori chimici, principalmente istamina o serotonina, come diretta conseguenza della degranolazione dei mastociti, determinata dal verificarsi della reazione anticorpo-antigene, con il conseguente sviluppo di potenziali sintomi.

Diversamente si parla di **intolleranze**, per indicare reazioni avverse non tossiche dovute solitamente all'accumulo di specifiche sostanze dannose nell'organismo. Situazioni di intolleranza possono verificarsi a seguito di una carenza enzimatica, come nel caso dell'intolleranza al lattosio, in cui la molecola non venendo assorbita, si accumula a livello intestinale, con conseguenti problematiche gastrointestinali; oppure intolleranze farmacologiche, causate o dalla presenza di ammine vasoattive nell'alimento, prodotte da microrganismi durante una non adeguata conservazione (esempio istamina nel pesce, tiramina nei formaggi, vini rossi) o dalla presenza di specifici additivi nell'alimento, i quali possono stimolare la liberazione di istamina da parte dei mastociti (False allergia), oppure ancora intolleranze indefinite, cioè reazioni in cui le cause non sono ben comprese (reazioni idiosincratice).

L'interesse per allergie e intolleranze è, oggi, sempre di maggiore rilevanza, dovuto al fatto che, un numero sempre maggiore di persone è coinvolto; si stima infatti che circa il 3-5% della popolazione adulta e il 6-8% dei bambini siano coinvolti in situazioni allergiche (Sicherer. H and Sampson. A).

Per questo motivo è fondamentale poter determinare quali siano i possibili agenti scatenanti, in maniera da poter porvi rimedio (ad esempio comprendendo attraverso una vasta gamma di possibili test diagnostici, quale sia la sostanza alla base della reazione) evitando o minimizzando lo sviluppo delle problematiche nei soggetti suscettibili, che i vari sintomi possono comportare.

I possibili sintomi che lo sviluppo di reazioni allergiche può comportare, riguardano vari organi o apparati:

- la cute (edemi, orticarie, dermatiti atopiche);
- il tratto gastrointestinale (vomito, nausea, crampi addominali);
- problematiche a livello di orofaringe, naso, testa (cefalee), occhi (rinite), polmoni (asma bronchiale);
- shock anafilattici nei casi più gravi.

Nel caso invece delle reazioni tossiche agli alimenti, la tossicità in questo caso è legata a microrganismi che si possono sviluppare o a tossine che possono essere presenti nell'alimento stesso. Da considerare a tal proposito, che uno degli obiettivi della conservazione degli alimenti, indipendentemente dalla tecnica utilizzata, è appunto di inibire il loro sviluppo, piuttosto che la loro presenza, in funzione della loro patogenicità o della loro azione deteriorante.

Allo stesso tempo il discorso relativo alla tossicità è interessante se inteso sulla quantità di additivi presenti in un dato alimento, in particolare se le loro concentrazioni sono sensibilmente superiori a quanto stabilito (oltrepassando i limiti stabiliti), oppure se considerati gli eventuali effetti sinergici che due o più sostanze potrebbero comportare. Non a caso, la normativa fissa limiti quantitativi ben precisi per ogni singola sostanza; il loro vigore diventa necessario al fine di evitare lo svilupparsi di eventuali effetti nocivi, anche se bisogna ricordare che i quantitativi fissati sono stabiliti con importanti margini di sicurezza (generalmente la quantità che è indicata, corrisponde alla centesima parte, della massima quantità di una data sostanza *ad effetto zero* testata su campioni animali).

Inoltre, è da sottolineare il fatto che per una qualsiasi sostanza, prima che ne venga deliberato il suo utilizzo, dovrà essere testata su campioni, valutando i possibili effetti che si potrebbero verificare nel breve e nel lungo periodo, piuttosto che eventuali danni riscontrati nelle generazioni future (tossicità acuta, tossicità cronica).

Questa accurata meticolosità nella valutazione di ogni singola sostanza, è divenuta necessaria dopo le spiacevoli situazioni che si sono verificate negli anni passati, in cui si è potuto verificare come alcuni additivi coloranti si sono dimostrati tossici, agenti con spiccate proprietà cancerogene, mutagene, teratogene nei confronti dell'uomo.

Oltre al possibile coinvolgimento in reazioni avverse agli alimenti, un ulteriore effetto presunto e attribuibile agli additivi alimentari è *l'iperattività nei bambini* che in alcuni soggetti si è potuto constatare. Tale sindrome si presenta con predominanza in persone di giovane età, e una delle ipotesi più plausibili riguarda il loro maggiore coinvolgimento per il fatto che il loro organismo, non essendo ancora pienamente sviluppato, non è in

grado di garantire una adeguata e sufficiente azione detossificante nel confronto di sostanze dannose. Nonostante non vi siano ancora dati certi, secondo studi fino a d'ora condotti, pare che alcune molecole appartenenti agli additivi possano essere coinvolte con questo disturbo. I sintomi tipici che si presentano sono: facilità nella distrazione, poca tolleranza alle frustrazioni, nervosismo, ansia, impulsività e aggressività che tendono poi ad essere mantenuti con il passare degli anni.

Alla base di questa sindrome, si ipotizzano varie cause, come ad esempio di natura genetica, disfunzioni del sistema nervoso centrale, inadeguato sviluppo embrionale, ma pure composti a basso peso molecolare, presenti nelle sostanze coloranti artificiali; la loro azione a questo proposito pare non essere basata su un meccanismo immunologico, ma piuttosto di tipo tossicologico/farmacologico.

Dagli studi effettuati presso il Dipartimento di Allergologia di San Francisco, da parte dell'equipe diretta dal Dottor Benjamin F. Feingold, si è arrivati alla conclusione di una possibile correlazione tra l'iperattività riscontrata in alcuni bambini e la dieta da essi seguita. Questa ipotesi, oggi riconosciuta come *l'ipotesi di Feingold* è stata provata e confermata presso l'Ospedale dei Bambini di Melbourne, il cui studio, durato 6 settimane, ha coinvolto bambini con sospetta situazione di iperattività (Katherine S. Rowe e Kenneth J Rowe, 1994). I soggetti studiati furono 55, tra i 2 e i 14 anni, e 8 dei 14 bambini sospetti, reagirono ai coloranti organici di sintesi, quali Tartrazina e Carmosina, e per 2 di essi fu riscontrata una chiara associazione tra il loro comportamento irrequieto e la assunzione dei suddetti coloranti in quantità superiori ai 50 mg/giorno.

In definitiva quindi, possibili rimedi da implementare nei confronti di questa sindrome, potrebbero essere:

- Eliminare o aggiungere minori quantità di additivi alimentari, in particolar modo coloranti, in modo da ridurre sensibilmente i possibili effetti;
- Per tutti gli alimenti destinati all'alimentazione di bambini o giovani, vietare l'utilizzo di sostanze coloranti.

5 ORIGINE E REATTIVITÀ DEGLI ADDITIVI COLORANTI NATURALI

Le componenti pigmentanti degli additivi coloranti, sono piccole molecole a basso peso molecolare, generalmente di natura non proteica, che non dovrebbero in questo modo essere coinvolte nello scatenamento di allergie. Questi componenti possono eventualmente stimolare il sistema immunitario, solo quando legati a proteine, agiscono come un complesso ad attività antigena.

Gli additivi coloranti naturali sono estratti da materiale naturale, e quindi possono contenere molti altri componenti, inclusi zuccheri, proteine addizionate/legate ai componenti coloranti, i quali possono indurre ad una reazione avversa.

Reazioni agli additivi coloranti naturali, sono riportate occasionalmente e sono da attribuirsi a residui proteici, in coloranti come Annatto o Carminio (Taylor e Dormedy, 1998b).

I livelli di proteine residue presenti in carminio e annatto, dipendono molto dal processo di estrazione a cui si ricorre; infatti negli additivi coloranti naturali, e negli alimenti che li contengono, si dovrebbero eliminare tutti i residui proteici o renderli per lo più non allergenici a livello di prodotto finale, in modo tale da eliminare lo sviluppo di ogni possibile problematica in seguito alla loro ingestione.

Benché i meccanismi coinvolti nei casi riportati di reazioni avverse, causate dagli additivi coloranti naturali, non siano stati approfonditi, si ritiene che la maggior parte siano dovute a reazione IgE mediate, dove anticorpi di tipo IgE reagiscono legandosi ai residui proteici che le componenti coloranti presentano. Per contro non esiste un'evidenza che suggerisca il coinvolgimento degli additivi coloranti naturali in alcuni tipi di intolleranze.

La discussione, affrontata in seguito riguarderà la possibile correlazione tra reazioni allergiche sviluppatasi in seguito all'ingestione di additivi coloranti naturali mediante alimenti, e studi in cui alcuni dei coloranti presi in considerazione vengono somministrati per via orale, verificando se, anche in questo caso possono essere causa di eventuali problematiche più o meno pericolose per l'uomo.

Esistono pure casi di allergie occupazionali, dove in conseguenza ad inalazione o al contatto con additivi coloranti naturali, si possono scatenare reazioni allergiche; nei casi trattati e di cui si discuterà di seguito, si considereranno solo casi in cui la

sensibilizzazione avviene solo dopo l'ingestione da parte dell'individuo di coloranti naturali.

5.1 CARMINIO (E 120)

Carminio è un additivo colorante naturale, che presenta una colorazione rossa, ottenuto mediante l'estrazione acquosa o alcolica dal corpo femminile essiccato dell'insetto appartenente alla specie *Dactylopius coccus*.

L'acido carminico è un idrossi antrachinone, legato ad una unità di glucosio, rappresentate circa il 10% della cocciniglia e il 2-4% dell'estratto (Marmion, 1991).

Può essere estratto da altre specie di insetti, come *Coccoidea*, *aphidodea*, *Kermes ilicis*, *Margaroides colonica*, *Dactylopius tormentosum*; quest'ultima specie per gran tempo è stata allevata su grande scala pure in Italia, al fine di poter recuperare il colorante.

Le preparazioni commerciali di carminio, contengono circa un 20-50% in acido carminico e sono disponibili prevalentemente allo stato liquido, ma pure in polvere se sottoposti ad essiccazione.

La cocciniglia, per la quale è stata stabilita una DGA per l'uomo, in via provvisoria di 2,5 mg/Kg di peso corporeo, non sembra essere coinvolta in particolari problemi sanitari, in considerazione del fatto che trova un importante impiego nell'industria alimentare nella produzione di prodotti per la prima colazione, patè, terrine, trattamento di croste di alcune tipologie di formaggi.

Analogo discorso può essere fatto pure per il carminio, in considerazione del suo utilizzo nella produzione di una serie di bevande alcoliche e analcoliche aromatizzate.

5.1.1 Casi di reazioni avverse al carminio

Benché il carminio sia largamente utilizzato nella preparazione di cibi e bevande, è stato raramente coinvolto in reazioni avverse testimoniate dai consumatori.

Il basso livello di carminio nei cibi e nelle bevande, limita l'esposizione orale a questo additivo. Così la probabilità di sensibilizzazione attraverso l'ingestione, è estremamente rara.

Il più probabile meccanismo coinvolto nello sviluppo di reazioni avverse al carminio sono le reazioni mediate da anticorpi di tipo IgE. La sensibilizzazione, affinché possa

avvenire, necessita della presenza di un residuo proteico, presente nel carminio (Acero 1998), dove gli anticorpi specifici agiranno direttamente in uno o più punti proteici associati al carminio; tuttavia va ribadito che il contenuto in proteine è particolarmente limitato e di conseguenza sono anche limitati i casi di sensibilizzazione nei consumatori. La sensibilizzazione più probabile, può avvenire laddove l'esposizione è più elevata come nel caso di esposizione occupazionale o mediante cosmetici.

Gli allergeni presenti nel colorante, sono stati già identificati; al contrario la loro stabilità ai processi produttivi, compresi i trattamenti termici non è stata ancora determinata; si ritiene che l'allergenicità del carminio possa essere influenzata durante i processi di conservazione, specialmente se gli allergeni sono instabili al calore o influenzata dal mezzo in cui sono dispersi il quale può comprometterne la solubilità delle proteine integrate al carminio.

I casi riportati in bibliografia fanno emergere una certa differenza di risposta tra il colorante contenuto nell'alimento con il prodotto commerciale. Generalmente i casi noti di allergia al carminio, sono riconducibili all'ingestione di Campari (Kagi 1994), o altre bevande alcoliche colorate (Wuthrich, 1997), all'ingestione di yogurt contenente mix di frutta (Beaudouin 1995) e al consumo di ghiaccioli colorati di rosso (Baldwin 1997).

In alcuni casi la sensibilizzazione al colorante aveva origine dall'uso di cosmetici contenenti tale additivo in ombretto e rossetto.

Occasionalmente, anche l'esposizione occupazionale può determinare la fase di sensibilizzazione al carminio che può portare anche in questo caso ad una allergia alimentare vera e propria. Burge (1997) identificò 2 individui con asma associata alla loro occupazione, i quali lavoravano uno in un'azienda produttrice vernici e l'altro era impiegato in un'azienda di cosmetici. Altri casi riportati in bibliografia indicano un uomo sensibilizzato al carminio, la cui occupazione era presso un'azienda di stoccaggio spezie.

5.2 ANNATTO (E 160b)

La pianta da cui si estrae l'annatto è la *Bixa orellana*; si presenta come un grande arbusto dal rapido accrescimento, tipico delle zone a clima tropicale. L'arbusto produce grandi grappoli, di colore variabile tra il marrone e il rosso, al cui interno sono contenuti semi rivestiti con un sottile strato resinoso, particolarmente colorato.

L'annatto, infatti è ricavato diluendo il seme, mediante l'utilizzo di una delle soluzioni estraenti che in ambito alimentare sono consentite, come ad esempio l'utilizzo di solventi, solventi di oli vegetali, soluzioni alcaline o alcoliche (Marmion 1991).



Figura 2: immagine rappresentativa della pianta *Bixa Orellana*.

Il principale colorante ottenuto durante l'estrazione in soluzione apolare (come ad esempio metanolo, acetone, esano) dal rivestimento esterno dei semi dell'annatto, è la bixina (un carotenoide); diversamente se l'estrazione avviene in soluzione alcalina l'estratto dell'annatto è la norbixina, prodotto per idrolisi alcalina dalla bixina.

Fondamentale sottolineare come sia la bixina che la norbixina, sono abbastanza stabili a contatto con ossigeno, solubili in solventi sia polari che apolari, resistenti al trattamento termico durante il quale avviene l'isomerizzazione di tali molecole (dall'isoforma cis all'isoforma trans), permettendo il raggiungimento di una maggiore

stabilità; al contrario sono estremamente instabili alla luce, dove tendono invece a perdere la propria tonalità con estrema facilità.

L'estratto di annatto, oggi prodotto sia naturalmente che per sintesi, si presenta come una miscela di coloranti, le cui tonalità variano dal giallo, al rosso, e all'arancione, trovando quindi impiego nel settore alimentare nella produzione di: margarine, formaggi stagionati dal colore giallo-arancione, formaggi fusi, gelati, prodotti da forno e come agente colorante nelle decorazioni.

5.2.1 Casi di reazioni avverse all'annatto

A seguito di una ricerca bibliografica sono stati individuati alcuni casi, seppur limitati, di potenziali reazioni avverse all'annatto. In particolare, significativo è il caso di un uomo di 62 anni, che dopo ingestione di un prodotto contenente cereali, crusca di grano, aspartame, sciroppo di mais, vitamine A, C, D e del gruppo B, tiamina e annatto, sviluppò i tipici segni di una reazione avversa (Nish, 1991). In seguito ad accertamenti tramite skin prick test, i risultati portarono ad un riscontro negativo per latte, mais e grano, mentre positivo per quanto riguarda l'annatto. A confermare la validità del test, furono le analisi del sangue del paziente, che permisero l'individuazione di alti livelli di anticorpi IgE, confermando una reazione allergica all'annatto.

Un ulteriore caso in cui è ritenuto coinvolto l'annatto, è da collegarsi allo sviluppo di una reazione asmatica, in seguito a ingestione di un medicinale contenente il colorante in questione, in una donna cinquantatreenne (Van Assendelt 1984).

In un recente studio clinico, venne valutata la capacità di indurre reazione avversa agli additivi alimentari condotto su un gruppo di 271 bambini (98 di controllo e 173 con sintomi atopici), sofferenti di rigetto orale, come conseguenza dell'ingestione di una soluzione, composta da: conservanti, coloranti naturali e sintetici, aromi e acidi.

Di tutti i soggetti coinvolti, 17 reagirono al test di scatenamento. Successivamente, 12 dei 17 soggetti positivi, svilupparono sintomi, dopo essere stati sottoposti al test doppio cieco, in cui vennero loro somministrati una miscelanza di additivi alimentari. Solamente 5 soggetti dei 12 testati, ebbero un'ulteriore reazione, indotta dai coloranti sintetici, mentre nessuno reagì ai coloranti naturali, rappresentati da curcuma, annatto, beta carotene, canthaxantina (Fuglsang 1993).

Un ennesimo studio, avente come oggetto la determinazione del ruolo degli additivi coloranti nello scatenamento di reazioni avverse, coinvolse 132 soggetti (Young 1987).

Ad essi vennero somministrati, in maniera completamente causale, quantità variabili di additivi, compreso l'annatto, in cui le dosi variavano da un massimo di 10 mg a un minimo di 1 mg. Durante questa fase furono condotti test, come test di scatenamento, test a doppio cieco; i risultati ottenuti portarono i medici a stimare che la probabilità di reazione avverse determinate dall'annatto sono estremamente ridotte (inferiori a 1%).

5.3 CURCUMA (E 100)

La curcuma è un additivo di origine naturale, che non può essere propriamente considerato un colorante, (come definito all'articolo numero 1, paragrafo 3 della vecchia Direttiva 94/36 CE oggi sostituita dal Regolamento 1333/2008), dato che tale sostanza è in grado di garantire sia un effetto colorante (tonalità gialla), sia un effetto aromatizzante; nonostante questa precisazione, la curcuma trova impiego nell'industria alimentare come sostanza pigmentante.

Si presenta prevalentemente sottoforma di polvere, ottenuta dalla macinazione di rizomi essiccati della pianta *Curcuma longa*, coltivata principalmente in paesi come Cina, Perù, India, dove viene particolarmente utilizzata in forma macinata, nonostante il suo caratteristico e pungente gusto.



Figura 3A: immagine dei rizomi ottenuti alla coltivazione della *Curcuma longa*

Figura 3B: curcuma in polvere ottenuta dalla macinazione dei rizomi essiccati.

Il prodotto è costituito fondamentalmente da curcumina (il colorante principale), e dagli oli volatili che rappresentano il 3-5% della curcuma grezza. L'oleoresina, è un'ulteriore prodotto ottenibile dalla curcuma, mediante l'utilizzo di solventi organici, come acetone, acetato d'etile, anidride carbonica, etanolo ed esano, che ne permettono la sua estrazione dalla materia prima stessa; l'eliminazione del solvente avviene principalmente per evaporazione, permettendo la concentrazione dell'oleoresina, e

raggiungendo un contenuto in curcumina variabile tra il 15-40%, a cui vanno sommati tutti gli altri componenti estratti dalla pianta (Marmion, 1991).

Importante a questo proposito, sono le caratteristiche che contraddistinguono tale molecola:

- scarsa solubilità in solventi organici e in acqua (nella fase di estrazione, che avviene per mezzo di solventi organici, diventa necessario ricorrere all'utilizzo di emulsionanti al fine di massimizzare la resa);
- estremamente sensibile alla luce (perdita d'intensità del colore);
- variazioni del pH possono avere importanti ripercussioni sul colore del pigmento stesso.

Da ricordare inoltre, che all'utilizzo della curcuma, piuttosto che dei suoi derivati, non sono attribuibili particolari effetti nocivi; un'importante conferma a questa supposizione è data dal fatto che nei paesi in cui la curcuma viene prodotta e consumata abitualmente, non sono riscontrate particolari problematiche in tal senso.

Una conferma ulteriore, relativa alla sua non tossicità, è garantita dal fatto che a livello comunitario sono concessi specifici quantitativi, che variano da 0,1 mg/Kg peso corporeo per la curcumina, a 2,5 mg/Kg peso corporeo per la curcuma, tenendo in considerazione quelle che ad ora, sono le informazioni disponibili relative alla sicurezza e non tossicità di tali sostanze.

Infine, tale pigmento trova impiego nell'industria alimentare per la colorazione di specifici prodotti, quali mostarde, dadi, preparati per minestre, torte e gelati.

5.3.1 Casi di reazioni avverse alla curcuma

Da ricerche bibliografiche sono stati individuati possibili situazioni di reazione avversa dopo ingestione della curcuma.

In una prima sperimentazione il pigmento della curcuma (curcumina) fu aggiunto ad una miscelanza di coloranti naturali (2,5 mg in 100 ml) e somministrato durante i test a doppio cieco e nel test di scatenamento (Fullsang 1993-1994) ad una serie di pazienti sui quali però non fu riscontrato alcun effetto positivo (Fuglsang 1993); in un secondo studio invece, furono riportati 2 casi di positività, ovvero si riscontrarono reazioni dell'organismo (eczema e orticaria) all'ingestione della miscela di coloranti (Fuglsang 1994); nonostante si ottennero situazioni di positività, non fu possibile determinare

quale fosse stato il ruolo che la curcuma somministrata avrebbe avuto nello sviluppare i sintomi sopra riportati.

In un altro caso riportato in letteratura, viene indicata l'esecuzione della prova di somministrazione orale, in cui una miscelanza di additivi coloranti, contenente una quantità definita di curcuma (circa il 11%), venne somministrata ad un gruppo di pazienti. Il numero delle reazioni ottenute in seguito all'ingestione della miscela non fu da ritenersi significativamente rilevante, se comparato al numero di soggetti coinvolti nel test (Veien 1987).

Questo in definitiva permise di puntualizzare, in virtù dei risultati ottenuti, che la probabilità di coinvolgimento della curcuma, nello scatenarsi di una reazione avversa, sia altamente improbabile e remota.

5.4 CAROTENOIDI: BETA CAROTENE E CANTAXANTINA (E 160A / E 161G)

Il beta carotene è l'isomero più ricorrente in natura, appartenente alla categoria dei caroteni; presente abbondantemente in natura, è il responsabile del colore di numerosi prodotti ottenuti in natura, sia di origine vegetale come carote, arance, zucca, pomodori, peperoni, cereali, sia di prodotti di origine animale, come latte, burro, formaggio, in cui la sua presenza è determinata dalla dieta a cui l'animale è sottoposto.

Da punto di vista chimico, i carotenoidi sono idrocarburi altamente insaturi, cioè molecole costituite da carbonio e idrogeno e presentanti numerosi doppi legami all'interno della molecola; in natura si ottengono per condensazione di più unità isopreniche (molecole a forma di anello, generalmente a 5 atomi di Carbonio) e proprio per questa loro composizione si differenziano dalle xantofille, le quali presentano in più l'ossigeno all'interno della molecola.

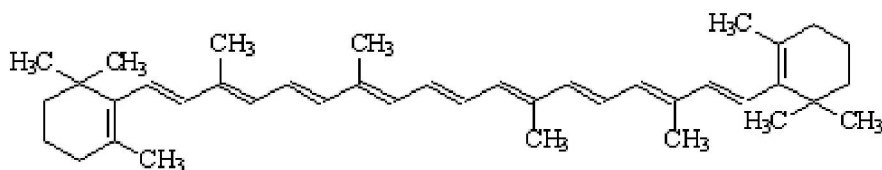


Figura 4: struttura chimica del beta carotene.

I caroteni oggi possono essere prodotti sia naturalmente (estratti prevalentemente dalla carota, principalmente per macerazione con solventi apolari), per sintesi microbica (da un fungo appartenente *Blakeslea trispora*, in cui il beta carotene si accumula a livello di biomassa) o per sintesi chimica; se la loro produzione avviene mediante sintesi chimica, la molecola di partenza è l'acetone, ed è da ricordare che in questa maniera prevarranno le isoforme di tipo *trans*, rispetto all'isoforma di tipo *cis* che è preponderante nei carotenoidi presenti in natura.

Questo in definitiva, può condurre ad un'interessante considerazione, vale a dire che i carotenoidi oggi possono essere utilizzati come importanti additivi coloranti, e in funzione del loro stato, determinare specifiche colorazioni. Infatti, allo stato puro, il beta carotene può presentarsi sotto forma di cristalli rosso rubino, mentre se diluito assumere la tipica colorazione arancione.

La cantaxantina, è invece un esempio di xantofilla (la molecola si caratterizza per la presenza di 2 ossigeni); fu isolata per la prima volta nel 1950 da un fungo edibile

(*Cantharellus cinnabarinus*), mentre oggi è isolata da altre fonti, come alghe, salmone, gambero di mare, ed è il principale artefice della tipica colorazione rosa dei funghi, garantita da un'adeguata dieta.

Può essere isolata in altre tipologie di alimenti, come trota salmonata, carni di pollame, ma in questi casi la sua presenza dipenderà dalla dieta a cui gli animali sono sottoposti. Anche la cantaxantina, come il beta carotene, può essere prodotta per sintesi, (come oggi avviene prevalentemente), partendo in questo caso da una molecola di beta carotene.

Per concludere le caratteristiche che contraddistinguono le molecole in questo caso considerate, sono:

- limitatamente solubili in solventi polari come l'acqua, fatta eccezione per alcune molecole come la luteina (principale carotenoide dell'annatto);
- presentano una discreta resistenza al calore;
- estremamente sensibili all'ossigeno, determinate principalmente dalle numerose insaturazioni che le molecole presentano;
- particolarmente sensibili alle variazioni di pH (più stabili a pH acidi) e all'esposizione alla luce; questi due fattori possono favorire il passaggio dalla forma trans alla forma cis, determinando un'importante perdita d'intensità della pigmentazione (maggiore è il numero dei legami di tipo cis, maggiore è l'entità della decolorazione che i caroteni subiranno).

5.4.1 Casi di reazioni avverse ai carotenoidi

Premesso che reazioni avverse indotte da caroteni o da molecole appartenenti alla famiglia dei carotenoidi sono estremamente rare, in funzione della natura, in letteratura sono riportate alcune situazioni di possibili reazioni avverse indotte da tali molecole.

Un primo caso riguarda la valutazione dei possibili effetti indotti da una miscela di coloranti naturali, che nel corso dello svolgimento del test a doppio cieco furono somministrati (Fulgsang 1993-1994). In questo caso, furono effettuati una serie di studi, i quali portarono a risultati abbastanza contrastanti; infatti nel primo studio (Fulgsang 1993) tutti i soggetti a cui venne somministrata la miscela dei vari coloranti, ebbero esito negativo, mentre in uno studio successivo si ottennero risultati di positività in 2 soggetti (Fulgsang 1994). I disturbi che i soggetti coinvolti presentarono, furono in un

caso di dermatite atopica, mentre nel caso successivo il soggetto presentava sintomi tipici dell'orticaria.

In realtà, pure in questo caso non fu possibile individuare quale fosse il ruolo che i carotenoidi avevano avuto nello scatenare le reazioni nei 2 soggetti coinvolti; questo dovuto principalmente al fatto che venne somministrata una miscelazione di coloranti.

Un secondo studio, invece prevedeva il coinvolgimento di 112 pazienti sofferenti di angioedema e orticaria ricorrente; ad essi venne somministrato, una quantità variabile sia di beta carotene sia di cantaxantina per valutare, mediante il test di scatenamento, la loro capacità di indurre reazione. Come risultato, si ottenne che circa il 10% dei soggetti interessati, reagì positivamente al beta carotene, mentre il 14% reagì con esito positivo alla cantaxantina (Juhlin 1981).

Nonostante i risultati ottenuti, non fu possibile evidenziare una possibile correlazione tra l'assunzione delle due molecole considerate e l'evolversi della reazione avversa, perché è da sottolineare come nel test erano coinvolti soggetti con problematiche ricorrenti; per questo motivo i risultati ottenuti erano estremamente questionabili e non particolarmente veritieri (Juhlin 1981).

Un ultimo caso, di possibile coinvolgimento dei caroteni in possibili reazioni, è documentata in letteratura (Greenbaum 1979); in questo caso viene riportato il coinvolgimento di un bambino di soli nove mesi; egli presentava sintomi, come dermatite atopica, vomito, colite, apparendo particolarmente irrequieto in seguito all'assunzione di vitamine in gocce e altri alimenti.

Dai risultati ottenuti dai test condotti, i medici conclusero che la sorgente di sensibilizzazione era la vitamina A, e che con estrema probabilità pure i carotenoidi erano coinvolti nella reazione avversa (i carotenoidi sono precursori della vitamina A), anche se non fu possibile determinare quale fosse effettivamente il ruolo svolto da quest'ultimi.

5.5 ZAFFERANO

Per quanto riguarda l'utilizzo dello zafferano, sono necessarie alcune semplici ma importanti precisazioni. Si tratta infatti di una spezia, che oltre a garantire un'importante influenza per quanto riguarda il profilo aromatico-gustativo, determina pure un effetto pigmentante. Quindi, facendo riferimento alla vecchia Direttiva comunitaria 94/36, che disciplina l'utilizzo delle sostanze coloranti in ambito alimentare, lo zafferano non è da considerarsi propriamente un additivo colorante, dato che tale sostanza ha principalmente effetto aromatizzante, con effetto secondario pigmentante.

Lo zafferano è ottenuto dalla coltivazione del vegetale *Crocus sativus*; in realtà ciò che effettivamente interessa per i fini commerciali sono i pistilli che compongono il fiore (prevalentemente il fiore si compone di 3 pistilli).



Figura 5: immagine del fiore prodotto da *Crocus sativus* da cui si ricava lo zafferano.

La materia pigmentante, rappresentata principalmente dalla crocina, è contenuta all'interno dei pistilli e stimmi essiccati; la molecola considerata è in questo caso un carotenoide, una molecola idrocarburica altamente insatura, legata solitamente ad una molecola di zucchero, che determina la tipica colorazione gialla-arancione.

La crocina, responsabile della proprietà pigmentante, presenta un legame estere tra il gruppo ossidrilico dello zucchero (ad esempio gentobiosio) e il gruppo carbossilico del carotenoide; può incorrere a degradazione e in questo caso se il legame estere viene rotto, otteniamo la crocetina, sempre appartenente alla categoria dei carotenoidi.

In campo alimentare lo zafferano trova un importante impiego, grazie ad una serie di caratteristiche che lo rendono particolarmente versatile e di facile utilizzo.

Tra le principali caratteristiche che lo contraddistinguono ricordiamo:

- un'ottima stabilità alla luce;
- una buona resistenza contro possibili ossidazioni;
- resistente ad attività microbica;
- particolarmente stabile anche a importanti variazioni di pH.

Infine, è estremamente importante sottolineare come il prezzo di tale prodotto sia elevato, ma il tutto è da collegarsi al fatto che la produzione dello zafferano non sia particolarmente elevata in termini quantitativi, dato che un grammo di prodotto si compone di circa 140-150 pistilli.

5.5.1 Casi di reazioni avverse allo zafferano

Un caso di reazione avversa allo zafferano, documentato a livello bibliografico, riguarda un giovane agricoltore di 21 anni sofferente di moderata dermatite atopica, il quale presentò alcuni sintomi tipici di reazione anafilattica, in seguito all'ingestione di riso con funghi e zafferano (Wurthrich 1997).

Dallo skin prick test successivamente condotto, utilizzando riso, cipolla, aglio, funghi e zafferano, si ottennero risultati negativi, ad eccezione che per lo zafferano. Per ottenere un'ulteriore conferma della sua possibile capacità di indurre reazioni allergiche, fu condotto un'ennesimo test che permetteva di determinare il livello di anticorpi di tipo IgE specifici allo zafferano. Il risultato ottenuto anche in questo caso, fu positivo, e da analisi successivamente condotte (analisi mediante elettroforesi), fu possibile scoprire come gli anticorpi presenti, erano specifici per piccole proteine (caratterizzate dal presentare un peso molecolare compreso tra 40 e 90 kDalton) associate allo zafferano.

5.6 ANTOCIANI (E 163)

Gli antociani, sono molecole largamente diffuse nel regno vegetale, presenti sia in forma glicosilata (cioè la molecola è associata a uno o più zuccheri, solitamente in posizione del carbonio 3, quali glucosio, galattosio, ramnosio, arabinosio, ottenendo *antocianine*), sia in forma A-glicosilata (*antocianidine*), generalmente meno stabili.

La molecole delle antocianidine ha una struttura di derivazione dallo ione flavilio, vale a dire una molecola a 15 atomi di Carbonio, in cui è presente il gruppo cromoforo che conferisce alla molecola la capacità pigmentante.

Sono di estrema importanza, perchè in definitiva contribuiscono alla determinazione della colorazione dei vari prodotti vegetali, quali frutta e verdura, il cui colore è spesso determinato da una combinazione di vari pigmenti, cioè una combinazione di più molecole appartenenti a questo gruppo, che nel loro complesso determinano l'effetto cromatico. Per questa loro caratteristica di determinare una specifica colorazione, gli antociani trovano impiego come additivo colorante naturale, nella colorazione di specifici prodotti, come bevande analcoliche, yogurt, confetture di frutta, o nel ravvivare alcune tipologie di alimenti.

L'obbiettivo a tale proposito sarebbe di poter aumentare il loro contenuto, magari in sostituzione di alcuni coloranti analoghi ma sintetici, dato che non presentano problematiche di tossicità per l'uomo; allo stesso tempo sfruttare le proprietà che contraddistinguono tali molecole (ad esempio importante attività antiossidante, attività di prevenzione delle malattie cardiovascolari).

L'estrazione degli antociani, può avvenire in soluzione acquosa solfitata, in soluzione acidificata sfruttando la loro caratteristica idrofilia, oppure ricorrendo all'utilizzo di etanolo, metanolo e anidride carbonica; oggi esistono più tecniche per la loro estrazione, che prevedono il recupero degli antociani presenti nelle bucce, nelle vinacce fresche ottenute dalla fase di pigiatura (sottoprodotto dell'industria enologica), oppure ancora da prodotti ortofrutticoli commestibili, come indicato da una specifica direttiva europea. Tra i prodotti consentiti, citiamo ad esempio: fragole, lamponi, mirtilli, more, ciliegie, melanzane, cipolle rosse, cavolo rosso, radici di radicchio.

Successivamente la soluzione ottenuta, viene sottoposta a concentrazione; se il prodotto desiderato sarà in polvere, la soluzione concentrata verrà sottoposta a disidratazione, mentre se si vorrà ottenere un prodotto in forma liquida, dopo la fase di concentrazione,

verrà sottoposto a sedimentazione in maniera tale da eliminare tutte le impurità presenti (Philip 1974, Metivier 1980, Hang 1988).

Sicuramente è importante sottolineare, come nella soluzione ottenuta a partire dai prodotti sopra indicati, siano presenti più molecole, che naturalmente sono presenti nel prodotto di partenza, quali: acidi organici, zuccheri, componenti azotate in quantità variabili, minerali e ovviamente gli antociani, il tutto in diverse proporzioni in funzione della materia prima di partenza.

Tra le antocianine possibilmente presenti nelle soluzioni, ottenute dall'estrazione, prevalgono molecole mono-glicosilate, o di-glicosilate come:

- malvidina, presente nelle uve rosse;
- delphinidina presente nelle uve, ribes nero;
- cianidina presente in numerosi prodotti, come pesche, ciliegie, prugne, cavolo rosso;
- petunidina presente nell'uva americana;
- pelargonidina presente nelle fragole, more, radici di radichio, ma completamente assente in qualsiasi varietà d'uva;
- peonidina presenti nell'uva, mango;
- oppure i loro derivati acilati (la molecola delle antocianine presenta un legame con composti fenolici, formato tra un gruppo funzionale dello zucchero presente e l'acido caffeico), che nel complesso determinano importanti ripercussioni sulla tonalità e intensità della colorazione (Marmion 1991).

In conclusione, possiamo sottolineare come la categoria di molecole considerate, sia di estrema importanza, in virtù delle caratteristiche che le contraddistinguono, e che quindi dovrebbero essere fruttate nel miglior modo.

Allo stesso tempo, è necessario considerare il fatto che tali molecole, dispongono di specifiche proprietà, che in un certo senso ne hanno influenzato l'utilizzo:

- Instabilità del colore; a questo proposito bisogna sottolineare come l'effetto pigmentante, piuttosto che la sua intensità nella pigmentazione, dipendano strettamente dal pH del mezzo. Infatti, è facilmente verificabile, come a pH acidi, gli antociani conferiscano una colorazione rossa, tanto più intensa quanto più acido sarà il mezzo; al contrario, all'aumentare del valore di pH, verso valori di basicità, la colorazione si presenterà con una pigmentazione di colore blue.

- Instabilità al calore; le molecole degli antociani, sono estremamente sensibili alle alte temperature, e il verificarsi di tale situazione può determinare una importante decolorazione del prodotto considerato.
- Instabilità del colore; l'instabilità del colore può essere pure determinata dalla presenza nel mezzo di anidride solforosa (SO₂), che interagendo in maniera reversibile con le molecole degli antociani, può determinare un effetto decolorante.

5.6.1 Casi di reazioni avverse agli antociani

Numerose reazioni di sensibilizzazione, e reazioni allergiche vere e proprie sono state verificate, confermate e documentate in letteratura, in seguito all'ingestione di uva o dei loro prodotti derivati (Eyermann 1935; Kahn 1942; David 1984; Eriksson 1984; Frankland e Aalberse 1987; Ortolani 1988; Moyer 1990; Parker 1993; Steinman e Potter 1994; Garcia Ortiz 1995 Fernandez-Rivas 1997).

Al contrario, non è riportata in letteratura, nessuna situazione di possibili reazioni avverse scatenatesi in seguito all'ingestione di soli antociani.

Questo in definitiva, fa pensare che le reazioni allergiche verificate come conseguenza all'ingestione dell'uva, siano verosimilmente dovute alle componenti proteiche, che se pur limitate in termini quantitativi, sono presenti nell'uva; invece se si fa riferimento alle sole componenti antocianiche, indipendentemente dalla materia da cui sono state estratte, abbiamo che la probabilità di causare l'insorgenza di una reazione avversa è estremamente limitata e improbabile.

6 ORIGINE E REATTIVITÀ DEGLI ADDITIVI COLORANTI SINTETICI

Per quanto riguarda tutte le sostanze coloranti che rientrano in questa categoria, bisogna fare alcune considerazioni.

La loro produzione nel corso del tempo è diventata sempre più imponente, infatti negli ultimi trent'anni sia la produzione che il loro impiego nell'industria tessile e nell'industria alimentare, è stata particolarmente elevata; oggi infatti si stima che circa il 70% dei coloranti utilizzati in ambito industriale abbiano appunto tale origine.

Il motivo principale è legato al fatto che attraverso l'utilizzo di tali molecole, è stato possibile sostituire in parte o rimpiazzare completamente i coloranti di origine naturale, che a differenza delle sostanze ora considerate, non sono particolarmente stabili - resistenti nel tempo.

A tale proposito, le caratteristiche che contraddistinguono questa categoria di sostanze, e che hanno contribuito alla loro diffusione sono:

- elevata stabilità alle variazioni termiche;
- elevata stabilità alle variazioni di pH del mezzo;
- elevata resistenza ai fenomeni ossidativi;
- buona solubilità in solventi polari;
- una più ampia gamma di tonalità presenti;
- costi di produzione sensibilmente inferiori rispetto ai costi che l'estrazione di coloranti naturali comporta;
- possibilità di disporre di tonalità particolarmente intense.

Tra i coloranti appartenenti a questa categoria, sicuramente una delle tipologie di maggiore interesse, e che merita un'importante considerazione, è la tipologia dei coloranti azoici.

Caratteristica fondamentale e che contraddistingue i coloranti azoici, è il fatto di presentare, all'interno della struttura chimica, il gruppo azo (cioè 2 atomi di azoto, legati attraverso un doppio legame) da cui prendono il nome i coloranti stessi.

Il gruppo azo è di estrema importanza, infatti rappresenta la porzione cromofora della molecola, cioè quella parte della molecola che determina il colore (in funzione della quantità di luce non assorbita, cioè diffusa), piuttosto che la brillantezza e intensità della colorazione.

Nella maggior parte dei casi, i coloranti azoici presentano un unico doppio legame all'interno della molecola, ma possiamo avere molecole in cui sono anche presenti 2-3 doppi legami tra atomi di azoto, ottenendo in questo caso coloranti di-triazoici.

La sintesi di questi coloranti prevede, il trattamento di una ammina aromatica o di un fenolo con una molecola di acido nitroso, tramite una *reazione di diazotazione*, ottenendo uno ione diaconio intermedio, specie povera di elettroni (elettrofilo) e alquanto instabile, che successivamente reagisce con un composto ricco in elettroni (nucleofilo) per dare un diazocomposto.

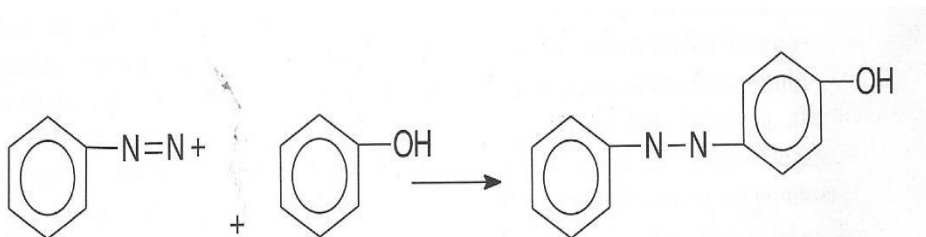


Fig. 33. Schema di sintesi dei composti azoici.

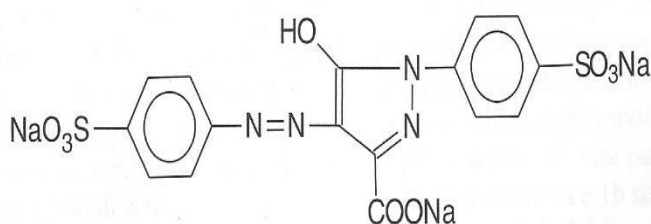


Fig. 34. Struttura della tartrazina.

Figura 6.33: schema di sintesi di un colorante azoico generico.

Figura 6.34: esempio di colorante di sintesi (tartrazina).

I composti aromatici maggiormente utilizzati per questo tipo di reazione sono le aniline e i fenoli; questi a causa della loro struttura, sono più nucleofili (ricchi in elettroni) sull'anello aromatico, a cui il gruppo amminico e il gruppo ossidrilico sono legati.

Tutti i coloranti azoici sono sintetizzati a partire dalle aniline e da composti aromatici, come benzene, naftalene, antracene, contenuti nel catrame del carbon fossile, materiale grezzo proveniente dalla distillazione del carbone; oggi inoltre, le molecole sopraindicate possono essere ottenute pure dal petrolio, come sottoprodotti della distillazione della benzina.

Quindi, oggi giorno questi composti ottenuti mediante sintesi chimica, sono una realtà importante sia a livello di industria tessile, piuttosto che dell'industria alimentare, e proprio per quest'ultimo caso, diventa fondamentale determinare specifici quantitativi, che giornalmente possono essere utilizzati senza possibili ripercussioni all'organismo.

Infatti, i coloranti presenti in un alimento, una volta introdotti nell'organismo umano, vengono sottoposti ad azione dei succhi gastrici e della microflora intestinale, come i vari macro e micronutrienti, di cui un alimento si compone.

Il problema in questo caso è determinato dal fatto che, da alcuni studi condotti, si è potuto verificare la capacità di alcuni microrganismi (batteri azo-riduttori) componenti la microflora intestinale, di ridurre e rompere il legame diazo, che in definitiva è da considerarsi la porzione più instabile della molecola.

Come conseguenza della degradazione, si ottengono ammine cicliche, che possono essere facilmente assorbite a livello intestinale, quindi essere trasportate mediante il flusso ematico e giungere a livello del fegato, dove si potrebbero verificare ulteriori degradazioni; da questa ennesima reazione, si possono formare composti con azione potenzialmente cancerogena oppure ad azione mutagena (inducendo la modificazioni del materiale genetico contenuto nelle cellule).

Per questo motivo, diventa di estrema importanza poter determinare con precisione e accuratezza, come tutti i coloranti di sintesi concessi all'utilizzo siano sicuri nei confronti dell'organismo, ma diventa ancor più importante poter sorvegliare costantemente la loro non tossicità, in funzione delle informazioni che nel tempo vengono acquisite.

A questo proposito, un esempio particolarmente interessante, e che allo stesso modo da una chiara dimostrazione di come queste sostanze coloranti siano costantemente sottoposte a valutazione, riguarda la modificazione del parere relativo all'utilizzo del colorante E 128 (Rosso 2G).

Infatti, l'utilizzo di questo colorante era stato autorizzato in un quantitativo ben definito (0,1 mg/Kg peso corporeo) nel 1975, ritenendo fosse una quantità adeguata, in funzione delle informazioni tossicologiche che in quel periodo erano disponibili.

Oggi giorno, a seguito di una necessaria rivalutazione dei quantitativi concessi all'uso e delle informazioni tossicologiche disponibili, l'Autorità Europea sulla sicurezza degli alimenti (EFSA), ha considerato la necessità di escludere completamente l'utilizzo di tale colorante, in virtù del fatto che, con le nuove informazioni disponibili si è potuto verificare, come uno dei prodotti principali ottenuti dalla degradazione da parte del

nostro organismo del colorante in questione, sia l'anilina, una molecola con riconosciute proprietà cancerogena e con probabile proprietà mutagena.

In conclusione, a seguito del parere negativo, rilasciato dall'EFSA, si è giunti a ritenere necessario il divieto di utilizzare tale sostanza presa in considerazione, fino a quando non saranno disponibili ulteriori dati che dimostrino l'effettiva tossicità, a partire solo da certi quantitativi (vedere il Regolamento CEE 884/2007, riguardante le misure di emergenza volte a sospendere l'utilizzo del colorante E 128).

A tale proposito, vanno ricordati alcuni casi in cui i coloranti appartenenti alla serie dei coloranti azoici, in un primo momento concessi ad essere utilizzati, si dimostrarono successivamente essere la causa di reazioni tossiche per l'organismo.

Fra i composti che si sono dimostrati pericolosi, spiccano i coloranti quali, il rosso Sudan, il giallo burro; il primo veniva addizionati a vari alimenti sottoforma di spezie (alimento contenente rosso Sudan fu prevalentemente peperoncino al fine di ravvivare la propria tonalità, oppure altre miscele composte da più spezie, come ad esempio il curry), mentre il secondo veniva addizionato alla crema di latte, al fine di standardizzare il colore del burro finale anche nei mesi invernali, dove la concentrazione di carotenoidi presenti nella razione giornaliera somministrata agli animali è sensibilmente inferiore.

Il problema relativo alla tossicità di questi coloranti, è dovuto alla loro natura, prevalentemente liposolubile; questo comportava un loro possibile accumulo nell'organismo nel corso del tempo, in particolar modo a livello di alcuni organi, come il fegato, dove si è potuto verificare il loro effetto cancerogeno.

Fondamentale a tale proposito è evidenziare come oggi, dopo questi casi verificatisi, siano autorizzati all'utilizzo solamente coloranti azoici di natura idrosolubile, in maniera tale da evitare il loro accumularsi nell'organismo, garantendo una loro eliminazione nel breve periodo, e allo stesso tempo evitare il ripetersi di situazioni potenzialmente pericolose e dannose per l'uomo.

Allo stesso tempo un'ulteriore considerazione, fatta da numerosi esperti e che lascia qualche perplessità riguarda il fatto che, confrontando le formule chimiche sia dei coloranti autorizzati all'utilizzo, sia di quelli oggi banditi perché ritenuti particolarmente pericolosi per la salute, è possibile notare un'estrema somiglianza; questo in un certo senso può far riflettere e potrebbe in parte far rivedere il parere sull'effettiva sicurezza di buona parte dei coloranti azoici concessi all'utilizzo.

Di seguito verranno presi in considerazione alcuni esempi di coloranti organici di sintesi, valutando oltre alla dose giornaliera ritenuta accettabile, pure il loro impiego,

nonché le possibili problematiche che potrebbero verificarsi in seguito ad un loro eccessivo utilizzo.

un'azione inibitoria nei confronti della dopamina (ammina biogena con importante funzione di neurotrasmettitore), esercitante un importante funzione regolatrice sul sistema nervoso sinaptico (Lafferman and Silbergeld).

Un secondo possibile effetto attribuibile all'eritrosina, è di essere coinvolta nella sindrome di iperattività riscontrata in alcuni soggetti di giovane età, presumibilmente determinabile in seguito all'ingestione del colorante considerato, associato con benzoati. La possibile conseguenza è il fatto che le molecole sopra indicate, possano essere coinvolte rallentando in maniera importante il ricambio naturale a cui i vari neurotrasmettitori sono soggetti (Shaywitz, Cohn and Bowers 1977).

Un terzo possibile effetto attribuibile alla molecola considerata, è di essere un agente potenziale nello scatenamento di reazioni allergiche (Falsa allergia); in particolar modo nei soggetti in cui è presente una sensibilizzazione all'acetilsalicilico (ad esempio aspirina), che introducendo quantità eccessive del colorante considerato, possono evidenziare lo svilupparsi di tipici sintomi asmatici.

Infine un ennesimo effetto, ancora una volta attribuibile a questa molecola, è di avere importanti ripercussioni a livello di tiroide; infatti l'eritrosina è caratterizzata da un elevato contenuto in iodio. La conseguenza di questo elevato livello di iodio, è un'eccessiva produzione di ormoni tiroidei (Ipertiroidismo), con aumento sia in dimensioni sia in peso della tiroide, lo svilupparsi di numerosi e variabili sintomi che si presenteranno nei soggetti coinvolti e con tutte le conseguenti problematiche del caso.

L'elevato contenuto in iodio di cui la molecola dispone, sembra essere inoltre una possibile causa dello sviluppo di tumori alla tiroide, come è stato dimostrato da studi condotti a livello di cavie animali, in cui è evidenziata una maggiore incidenza nello sviluppo di problematiche tumorali.

Per questo motivo, in conclusione sarebbe sicuramente importante ridurre il consumo in generale di questo colorante, in considerazione delle possibili conseguenze che un suo utilizzo in maniera eccessiva può comportare.

6.2 TARTRAZINA (E102)

Si tratta di un additivo colorante di sintesi, caratterizzato dal presentare una tipica colorazione gialla, solitamente disponibile in commercio in forma granulare oppure in polvere.

Dal punto di vista chimico, si tratta di una molecola particolarmente complessa, composta da trisodio 5-idrossi-1-(4 Solfonafenil)-4-(Solfonatofenilazo)-H-pirazol-3-carbossilato, da coloranti accessori, accompagnati da cloruro sodico e solfato sodico i quali sono i principali componenti non colorati.

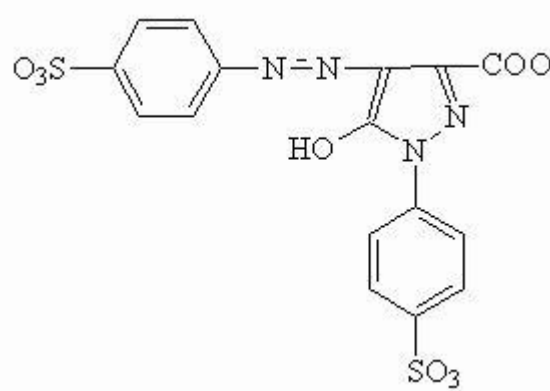


Figura 8: struttura chimica del colorante tartrazina (E 102)

Caratterizzato dal presentare una buona solubilità sia in acqua che in etanolo, presenta inoltre una particolare stabilità alle alte temperature, alla luce, e alle variazioni di pH. Trova un importante impiego nell'industria farmaceutica, di cosmesi e alimentare, in particolar modo nella produzione di bevande analcoliche, confetti, caramelle, gelati, prodotti dolciari in generale, sciroppi, surimi e senape.

Oggigiorno la tartrazina è da considerarsi il principale additivo colorante utilizzato nella produzione di bevande analcoliche, nonostante sia spesso implicato in situazioni di intolleranze.

Infatti da studi condotti, è stato possibile scoprire come la molecola in questione sia particolarmente coinvolta nello scatenamento di reazioni avverse, in particolar modo questa sua attitudine è tanto maggiore e tanto più evidenziabile nei soggetti che presentano sensibilizzazione all'acetilsalicilico.

Si ritiene infatti, che circa un 10-40 % dei soggetti allergici all'acetilsalicilico, possono incorrere in reazioni di tipo allergico in seguito all'ingestione di tartrazina,

sviluppando sintomi come: asma, orticaria, rinite (Freedman 1977; Juhlin, Michaelson and Zetterstrom 1972; Juhlin 1981; Noid, Schulze and Winkelman 1974).

Va ricordato inoltre che anche questo colorante è ritenuto essere coinvolto nella sindrome di iperattività riscontrabile in alcuni soggetti di giovane età (Feingold 1976; Feingold 1981).

I possibili motivi, che possono spiegare il coinvolgimento della tartrazina in reazioni di tipo allergico, hanno una spiegazione ben precisa; la struttura molecolare della tartrazina è particolarmente simile, come del resto anche i benzoati (categoria di additivi conservanti), alla struttura degli acidi idrossi-aromatici, categoria nella quale è incluso l'acetilsalicilico, il quale può indurre reazione nell'organismo umano.

Un ulteriore motivo, che può spiegare il coinvolgimento della tartrazina nelle reazioni avverse, è legato al fatto che tale molecola come tutte le altre appartenenti alla classe degli azocomposti, è soggetta ad attività di degradazione dal parte di alcuni microrganismi che compongono la microflora intestinale (azo-riduttori).

Risultato di tale attività è la formazione di molecole di piccole dimensioni (apteni), che legandosi a molecole di maggiore grandezza, determinano la formazione di un complesso con attività antigena, cioè una molecola in grado di stimolare il sistema immunitario, e quindi la reazione avversa nell'organismo.

A dimostrazione della capacità di indurre una reazione allergica da parte della tartrazina, in seguito vengono riportati alcuni studi.

In un primo studio, vennero coinvolti 122 pazienti, i quali presentavano tipiche problematiche allergiche. Durante questo studio, vennero loro somministrati 50 mg di tartrazina, i quali portarono in seguito allo svilupparsi di sintomi come, sensazione di soffocamento, debolezza, palpitazioni, orticaria, rinite e prurito generalizzato. In questo caso, si ebbe una chiara dimostrazione della capacità della tartrazina di determinare l'evolversi di una reazione allergica; allo stesso tempo va sottolineato che la quantità somministrata era sicuramente importante, ma che una situazione analoga è comunque verificabile nella realtà, nel momento in cui un soggetto ingerisce una certa quantità di soft drink contenete il colorante considerato (Neuman, Elian and Nahum 1978).

Per questo motivo, la dose giornaliera temporanea concessa, per quanto riguarda questa tipologia di colorante è di 7,5 mg/Kg di peso corporeo, tenendo ben presente che il quantitativo concesso è costantemente mantenuto sottocontrollo, in modo da evitare lo svilupparsi di possibili problematiche nell'uomo.

Un secondo studio, invece riguarda il coinvolgimento di 76 bambini in cui era stata loro diagnosticata la sindrome di iperattività (Egger, Carter, Graham, Gumley and Soothil 1985). Il risultato che si ottenne, dimostrò che il 79% dei soggetti implicati nel test, in seguito all'introduzione dell'additivo considerato, mostrarono lo svilupparsi di un comportamento anomalo (soggetti irritabili, presentanti problematiche di insonnia). Fu possibile inoltre evidenziare, un ennesimo effetto attribuibile alla tartrazina, e cioè la sua capacità di sottrarre lo zinco (effetto chelante) nell'organismo, attraverso una notevole secrezione urinaria ricca in zinco.

In definitiva l'esaurimento o la sensibile riduzione della biodisponibilità di tale elemento, potrebbe essere considerata una delle potenziali cause alla base della sindrome di iperattività che in alcuni soggetti di giovane età è riscontrabile, se sottoposti ad una dieta ricca in sostanze coloranti (Ward, Soulsbury, Zeittel 1990).

6.3 ROSSO CARMOISINA - AZORUBINA (E 122)

Additivo di sintesi, appartenete alla categoria dei coloranti azoici, caratterizzato dal presentare una discreta solubilità in acqua.

Trova un discreto impiego sia a livello di industria farmaceutica, sia di industria alimentare, grazie alla pigmentazione rossa con sfumature blue che è in grado di garantire. Viene utilizzata prevalentemente per restituire o ravvivare il colore di marmellate o confetture, oppure come agente pigmentante per la produzione di bevande, caramelle, gelati, budini, marzapane e prodotti dolciari.

Anche per questa molecola, è necessario fare alcune precisazioni; si tratta di una molecole piuttosto complessa, costituita essenzialmente da disodio 4- idrossi-3-naftelen-1- solfonato e da coloranti accessori accompagnati da cloruro sodico e solfato sodico che sono le componenti principali non coloranti.

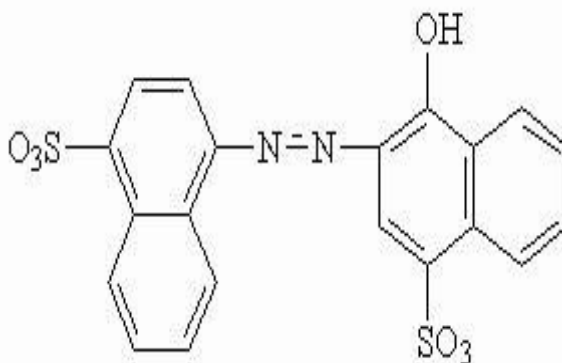


Figura 9: struttura chimica del colorante Rosso Carmoisina (E 122)

Come tutti gli additivi prodotti per sintesi chimica, la normativa fissa precisi limiti d'uso al fine di evitare lo svilupparsi di problematiche per l'uomo; la dose giornaliera consigliata (DGA) è di 4 mg/Kg peso corporeo.

Tra i possibili effetti negativi che si possono verificare in seguito all'ingestione in quantità eccessive del colorante considerato, sono da ricordare:

- il possibile coinvolgimento di soggetti in giovane età nella sindrome di iperattività;
- in soggetti suscettibili (allergici all'acetilsalicilico), è possibile verificare lo svilupparsi di problematiche di tipo asmatico;

- possibili problematiche a livello renale, come è stato evidenziato dai risultati ottenuti da studi condotti su cavie animali (Miller 1985).

6.4 BLUE BRILLANTE FCF (E 133)

Importantissimo additivo alimentare prodotto per sintesi, trova impiego a livello industriale grazie alla pigmentazione di colore blue che è in grado di conferire; si tratta in definitiva di un prodotto ottenuto dalla distillazione di un sottoprodotto nell'industria di lavorazione del carbone.

Anche in questo caso, siamo di fronte ad una molecola particolarmente complessa, costituita essenzialmente da disodio alfa 4-(N-etil- solfonatobenzilammino) fenil- alfa-(4-N-etil-sulfonatobenzilammino) cicloesa 2,5 dieniliden ó toluen-2-sulfonato, dai suoi isomeri, dai coloranti accessori accompagnati da cloruro sodico e solfato sodico quali sono i principali componenti non coloranti.

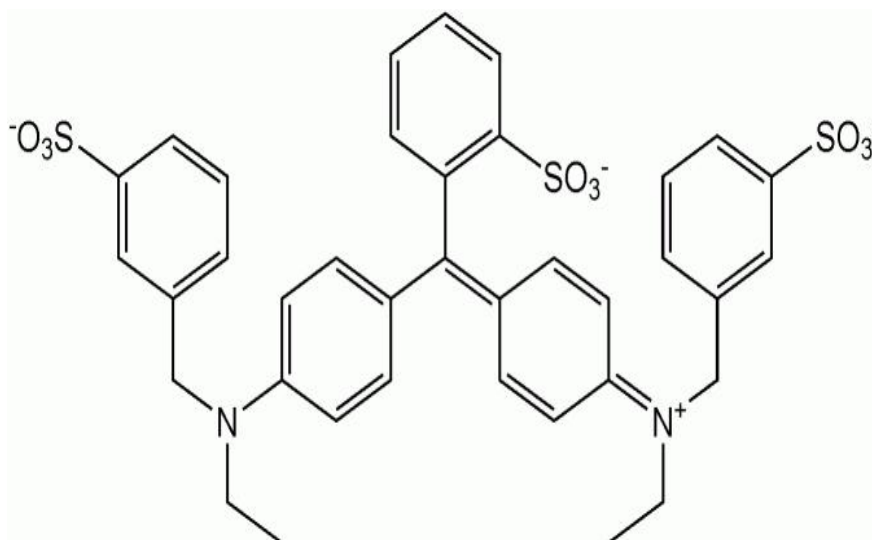


Figura10: struttura chimica del colorante blue brillante FCF (E 133)

La molecola in oggetto differisce dalle altre precedentemente considerate, relativamente al fatto che in questo caso siamo di fronte ad una molecola che non appartiene alla classe dei coloranti azoici, ma alla classe del triarilmetano, un'ulteriore classe di molecola appartenente al gruppo dei coloranti sintetici.

Nella realtà odierna dell'industria alimentare, questa tipologia di colorante trova un importante impiego, sia utilizzato singolarmente (ottenendo una colorazione azzurra - blu), sia in combinazione con altre molecole coloranti, come ad esempio la tartrazina, al fine di ottenere una pigmentazione di colore verde del prodotto.

Per questo motivo, il suo utilizzo nell'industria alimentare, ha nel corso del tempo acquisito sempre maggiore rilevanza, e oggi trova impiego come agente pigmentante

nella produzione di alimenti come gelati, dolci, per la decorazione di prodotti di pasticceria e conserva di prodotti vegetali (ad esempio conserve vegetali in scatola).

Tale molecola non ha evidenziato particolare coinvolgimento nello sviluppo di una reazione allergica; infatti, a differenza di altri coloranti, il Blu Brillante FCF è raramente agente scatenante di una reazione allergica.

Prendendo in considerazione quanto appena detto, la dose giornaliera concessa è pari a 10 mg/ Kg di peso corporeo, anche se va comunque sottolineato che tale quantità deve essere ridotta sensibilmente per tutti gli alimenti destinati a soggetti di giovane età, dato il suo potenziale coinvolgimento nella sindrome di iperattività.

6.5 BROWN FK (E 154)

Per concludere, come ultima tipologia di colorante di sintesi, prendiamo in considerazione l'additivo E 154; si tratta sicuramente di una molecola estremamente complessa, che si presenta verosimilmente come una miscela di coloranti:

- 1) monoazoici (ad esempio sodio 4-(2,4-diamminofenilazo) benzensolfonato;
sodio 4-(4,6-diammino-m-tolilazo) benzensolfonato
- 2) diazoici (ad esempio disodio 4,4'-(4,6-diammino-1,3-fenilenbiazo) di
(benzensolfonato);
disodio 4,4'-(2,4-diammino-1,3-fenilenbilazo) di (benzensolfonato);
disodio 4,4'-(2,4-diammino-5-metil-1,3-fenilenbiazo) di
(benzensolfonato)
- 3) triazoici (ad esempio trisodio 4,4'-(2,4-diamminobenzen-1,3,5-triazo) tri
(benzensolfonato)

e da coloranti accessori accompagnati da acqua, cloruro sodico e solfato sodico quali principale componenti non coloranti, che nel complesso ne determinano un'importante solubilità in acqua.

Questa tipologia di colorante trova impiego presso l'industria alimentare, come agente colorante nella produzione di prodotti ittici (aringhe salate e affumicate), in conserve, al fine di migliorare l'aspetto cromatico del prodotto stesso.

Si tratta comunque di un additivo a cui è necessario porre particolare attenzione e che è costantemente sorvegliato dagli organismi competenti, in funzione dei possibili effetti indesiderati che si possono sviluppare come conseguenza di un suo eccessivo utilizzo; ad esempio nella maggior parte dei soggetti che presentano sensibilità all'acetilsalicilico, il colorante considerato può creare problematiche di tipo asmatico.

Altri possibili effetti collaterali verificabili, possono essere l'iperattività che coinvolge soggetti di giovane età, oppure ancora il possibile effetto mutageno - cancerogeno e cardio-tossico di alcuni elementi che nel complesso compongono la molecola, a livello dell'organismo umano (Miller 1985; Miller and Millstone 1987).

Per questo motivo, in definitiva l'utilizzo di questo colorante è stato concesso, ma si cerca di utilizzarlo nella maniera più restrittiva.

7 CONCLUSIONI

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di raccogliere tutte le informazioni bibliografiche relative alla sicurezza d'uso dei **coloranti alimentari**, che rappresentano una categoria di additivi molto utilizzati dall'industria alimentare.

Allo stesso tempo, nella stesura di questo elaborato sono stati presi in considerazione, in maniera distinta gli additivi coloranti naturali e gli additivi coloranti sintetici, valutando le differenze che contraddistinguono queste due categorie, come ad esempio:

- la loro origine;
- le caratteristiche chimiche delle molecole considerate;
- la dose giornaliera concessa all'utilizzo (DGA);
- le possibili conseguenze riscontrabili nell'organismo in seguito ad un loro utilizzo in maniera inadeguato.

In definitiva da questa ricerca bibliografica, è stato possibile evidenziare, come gli additivi coloranti naturali, salvo alcune eccezioni come nel caso dell'annatto e del carminio, possano essere utilizzati senza particolari conseguenze alle DGA consigliate, da tutti i soggetti, dato il loro limitato coinvolgimento nello sviluppare reazioni avverse. A tale proposito, un'importante considerazione riguarda la natura chimica delle molecole sopra indicate (non si tratta mai di proteine, quindi molecole che non hanno proprietà antigena) e dall'eventuale metodo di estrazione del pigmento dalla materia prima di partenza che può determinare la presenza di eventuali residui proteici associati al pigmento stesso.

Diversamente nel caso dell'annatto e del carminio, invece, sono state riscontrate situazioni problematiche in seguito al consumo di prodotti alimentari contenenti questi coloranti. Nel caso del carminio, infatti sono emersi casi di reazioni allergiche indotte da tale molecola, la cui fase di sensibilizzazione però non dipendeva dalla quantità di colorante presente nell'alimento, ma piuttosto dall'esposizione al carminio acquisita presso il luogo di lavoro, oppure dalla dose contenuta in numerosissimi cosmetici.

Inoltre, anche in questo caso, la reazione allergica era determinata da residui proteici associati al carminio, capaci di stimolare il sistema immunitario.

Facendo riferimento alla categoria degli additivi coloranti di sintesi, è importante sottolineare il loro consistente utilizzo, per una serie di caratteristiche vantaggiose che li differenziano da quelli naturali.

Allo stesso tempo è pur vero che queste molecole devono essere viste con occhio critico, in virtù del fatto che il loro utilizzo in maniera inadeguata o impropria, potrebbe essere la causa di possibili problematiche nell'organismo. Va ricordato che la normativa impone limiti precisi al loro impiego, in funzione degli eventuali effetti dannosi che questa categoria di additivi coloranti può comportare.

Diversamente, per buona parte dei coloranti di origine naturale, la normativa (precisamente la Direttiva 94/36 all'allegato 3) non definisce limiti quantitativi precisi di additivi coloranti da aggiungere ai vari alimenti, ma nella maggior parte dei casi adotta l'utilizzo della definizione "quantum satis", vale a dire che non vi è la definizione di un livello massimo, ma che la quantità utilizzata dipenderà dal prodotto o processo implicato, al fine di permettere il raggiungimento delle qualità prefissate.

Tra i possibili effetti collaterali attribuibili a queste sostanze, vanno sicuramente ricordati:

- 1) la capacità di indurre possibili reazioni allergiche, in particolar modo in soggetti che presentano sensibilità all'acido acetilsalicilico, determinando problematiche di tipo asmatico o a livello di cute;
- 2) il considerevole ruolo che queste molecole possono avere nell'indurre situazioni di iperattività in soggetti di giovane età (a tale proposito fondamentale è eliminare tali additivi da tutti gli alimenti destinati a questa categoria di soggetti), con importanti conseguenze al sistema nervoso;
- 3) il potenziale effetto cancerogeno o mutageno che alcune tipologie di coloranti considerati possono avere se consumati in eccesso, in particolar modo a livello di alcuni organi (ad esempio fegato), maggiormente esposti a questo pericolo.

Per i motivi sopra citati (che rappresentano solo alcuni dei possibili effetti negativi), credo che varrebbe la pena rivedere il parere relativo all'utilizzo dei coloranti naturali, in sostituzione dei coloranti prodotti per sintesi chimica.

A questo proposito, inoltre ritengo che il ritorno all'utilizzo dei coloranti naturali dovrebbe essere favorito, nonostante sia vero e facilmente evidenziabile l'instabilità a valori di pH e temperatura inadeguata o la facile deteriorabilità delle molecole considerate; è pur vero che oggi sono disponibili importanti mezzi tecnologici che in qualche maniera possono sopperire a questi aspetti critici.

Se questo dovesse avvenire, diventerebbero necessarie alcune considerazioni:

- probabilmente non sarebbero più disponibili prodotti con colorazioni particolarmente vivaci - intense, ma allo stesso tempo saremmo di fronte

a prodotti più naturali e sicuri per l'uomo. Questo potrebbe determinare il fatto che la valutazione della qualità di un prodotto non sia principalmente legata alla valutazione del suo aspetto esteriore e cromatico;

- sarebbe necessario reperire nuove fonti naturali, da cui poter estrarre nuove e in quantità sufficienti le sostanze coloranti in grado di rimpiazzare i coloranti di sintesi. Quest'aspetto potrebbe creare problemi, in funzione degli enormi quantitativi di coloranti utilizzati, che comporterebbero la necessità di valutare o scoprire nuove fonti naturali disponibili (basti pensare che ad oggi sono stati esaminati e studiati solo il 30% dei vegetali presenti sulla terra), con un aumento dei costi di produzione che dovrebbero essere sopportati (Tulp 1995);
- il ricorso all'utilizzo di sostanze coloranti naturali, permetterebbe di soddisfare le esigenze relative all'aspetto cromatico di una data derrata alimentare, ma allo stesso tempo sarebbe possibile usufruire delle proprietà positive di cui alcune molecole considerate dispongono (proprietà antiossidante degli antociani);
- come ultima considerazione, la possibilità di utilizzare prevalentemente additivi coloranti naturali, permetterebbe di limitare sensibilmente i possibili effetti negativi e pericolosi che i coloranti di sintesi comportano, come è stato evidenziato nelle pagine precedenti, dato che la probabilità di indurre reazioni avverse nell'uomo è particolarmente limitato, e non presentano possibili effetti tossici per l'uomo.

8 BIBLIOGRAFIA

Acero S., Tabar A., Alvarez M. J., Garcia B.E., Olaguibel J. M and Moneo I. 1998. Occupational asthma and food allergy due to carmine. *Allergy* 53, 897-901.

Baldwin J.L., Chou A. and Solomon W. 1997. Popsicle ó induced anaphylaxis due to carmine dye allergy. *Allergy Asthma Immunol* 79, 415-419.

Beaudouin E., Kanny G., Lamber H., Fremont S and Moneret ó Vautrin D. 1995. Food anaphylaxis following ingestion of carmine. *Allergy asthma Immunol* 74, 427-430.

Bridle P and Timberlake C.F. 1997. Anthocianins as natural food colours- selected aspects. *Food Chemistry*, Vol 58, N 1-2, pp 102-109.

Burge P.S., OøBrien I.M ., Harries M.G and Pepys J. 1979. Occupational asthma due to inhaled carmine. *Clin. Allergy* 9, 185-189.

Cabras P. e Martelli A. 2004. *Chimica degli alimenti*. Padova: Piccin Nuova Libreria.

Cerutti G. 2006. *Residui, additivi e contaminanti degli alimenti*. Milano: Tecniche Nuove.

Decreto Ministeriale 1996/209. Regolamento concernente la disciplina degli additivi alimentari consentiti nella preparazione, e per la conservazione delle sostanze alimentari in attuazione delle Direttive N°94/34 CE, N°94/35 CE, N°94/36 CE, N°95/2 CE e N°95/31 CE.

Direttiva 89/107 CE dicembre 1988. Additivi autorizzati nei prodotti alimentari destinati al consumo umano.

Direttiva 94/36 CE Sostanze coloranti destinate ad essere utilizzate nei prodotti alimentari.

Direttiva 2008/128 CE, Requisiti di purezza specifici per le sostanze coloranti per uso alimentare.

Egger J., Carter C.M., Graham P.J., Gulley D and Soothill J.F. 1985. Controlled trial of oligoantigenetic treatment in the hyperkinetic syndrome. *The Lancet*, 540-545.

Eriksson N.E. 1984. Birch pollen associated with food hypersensitivity. *Nordic Aerobiology*.

Eyermann C.H. 1935. Allergic purpura. *South Med J.* 28. 341-345.

Farrel K.T. 1985. *Spices, Condiments and Seasoning*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

Feingold B.F. *Why your child is hyperactive*. New York: Random House, 1975.

Feingold B.F. 1973. Adverse Reactions of Hyperkinesia and Learning Disabilities, *Congressional Record*, 39-42.

Feingold B.f. 1981. Dietary Management of Behavior and Learning Disabilities. In *Nutrition and Behavior*.

Fernandez ó Rivas M, Van Reer and Cuevas M. 1997. Allergy to Rosaceae fruits without related pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 100, 728-733.

Food Intolerance and Food Aversion: A Joint Report of the Royal College of Physicians and the British Nutrition Foundation. *J Royal College of Physicians of London*, Vol 18, N. 2 April 1984.

Frankland A W and Aalberse R C. 1987. Silver birch pollen allergy and fresh fruit allergy. *Clin Ecol* 5, 55-58.

Freedman B.J. 1977. Asthma induced by sulphur dioxide, benzoate, and tartazine contained in orange drinks. *Clin Allergy* 7, 407- 415.

Fulgsang G., Madsen C., Saval P and Osterballe O. 1993. Prevalence of intolerance to food additives among Danish school children. *Pediatr allergy Immunol* 4, 123-129.

Garcia óOrtiz J C., Cosmes- Martin P. and Lopez Asunsolo A. 1995. Melon sensitivity share allergens with *Plantago* and grass pollens. *Allergy* 50, 269-273.

Greenbaum J. 1979. Vitamin A sensitivity. *Ann. Allergy* 43, 98-99.

Hang Y.D. 1988. Recovery of food ingredients from grape pomace. *Process Biochem.*, Feb, 2-4.

Juhlin L. 1981. Recurrent urticaria: clinical investigation of 330 patients. *Br. J Dermatol.* 104, 369-381.

Juhlin I., Michaelson G., and Zetterstrom O. 1972. Urticaria and asthma induced by food and drug additives in patients with aspirin sensitivity. *J Allergy and Clin Immunol* 50, 92-98.

Kagi M k., Wuthrich B and Johansson S.G. 1994. Campari - Orange anaphylaxis due to carmine allergy. *Lancet* 344, 60-61.

Kahn I S. 1942. Fruit sensitivity. *South Med J* 35, 858-859.

Lafferman J.A and Silbergeld E.K. 1979. Eritrosin B inhibits dopamine transport in rat caudate synaptosomes. *Science* 109, 410-412.

Lucas C., Hallgan J. e Taylor S. 2001. The role of natural colour additives in food allergy. *Advances in food and nutrition research*, Vol 43.

Madigan M., Martino J. e Parker J. 2003. *Brock, biologia dei microrganismi* Vol 1. Milano: Casa Editrice Ambrosiana.

Marmion, D.M. *Handbook of US colorants: Foods, Drugs, Cosmetics and Medical Devices*, terza edizione, John Wiley, New York.

Mattes J and Gittelman-Klein RA. 1978. A crossover study of artificial food coloring in hyperkinetic children. *Journal Psychiatry* 1978; 135:987-8.

Miller M. 1985. *Danger! Additives at Work*, London Food Commission.

Miller M and Millstone E. 1987. *Food Additives Campaign Team: Report on Colour Additives*.

Moyer D.B. 1990. Utility of food challenges in an unexplained anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 85, 272.

Nish W., Whisman B., Goetz D, and Ramirez D. 1991. Anaphylaxis to annatto dye: a case report. *Ann. Allergy* 66, 129-131.

Neuman I., Elian R. and Nahum. 1987. The Danger of yellow dyes (tartazine) to allergic subjects. *Clin Allergy* 8, 65-68.

Noid H.E., Schulze T.W and Winkelman R.K. 1974. Diet plan for patients with salicylate induced urticaria. *Arch Dermatology* 109, 866 -868.

Ortolani C. e Pastorello E. 2005. Food allergy and food intolerances. Best practice and research *Clinical Gastroenterology* Vol 20 No 3 (pp 467 483).

Ortolani C., Ispano M., Pastorello E., Bigi A and Ansaloni R. 1988. The oral allergy syndrome. *Ann. Allergy* 61, 47- 52.

Parker S.L., Kronl M and Coleman P. 1993. Foods perceived by adults as causing adverse reactions. *J Am. Diet Assoc.* 93, 40-46.

Regolamento CE N°1333/2008, Additivi Alimentari.

Regolamento CE N°884/2007, Misure di emergenza volte a sospendere l'uso del colorante alimentare E 128 Rosso 2G.

Rowe K e Rowe K. 1994. Synthetic food coloring and behavior: a dose response effect in double ó blind, placebo ó controlled, repeated-measure study. *The Journal of Pediatrics* Vol 125, Number 5, Part 1. November 1994.

Rowe KS. Synthetic food coloring and hyperactivity: a double blind crossover study. *Aust Paediatr J* 1988 ; 24: 143-7.

Shaywitz B.A., Cohn D.J., and Bowers M.B. 1977. CSF monoamine metabolites in children with minimal brain dysfunction: evidence for alterations of brain dopamine. A preliminary report. *J Pediatr* 90, 67 ó 71.

Sicherer S. e Sampson H. 2006. Food allergy. *Journal allergy Clin Immunol* Vol. 117, N° 2 470 - 475.

Steinman H.A and Potter P.C. 1994. The precipitation of symptoms by common foods in children with atopic dermatitis. *Allergy Proc.* 15, 203-210.

Taylor S.L and Dormedy E.S. 1998b. Flavorings and colorings. *Allergy* 53 (suppl. 46) 80-82.

Tuula E. Tuormaa. 1994. The Adverse Effects of Food Additives on Health: A Review of the Literature with Special Emphasis on Childhood Hyperactivity. *Journal of Orthomolecular Medicine* Vol 9, N 4 (225-243).

Van Assendelft A.H.W. 1984. Bronchospasm induced by vanilla and lactose. *Eur J respire. Dis.* 65, 468-472.

Vaswani S.K., Hamilton R.G., Carey R.N., and Chang B.W. 1998. Anaphylaxis, recurrent urticaria and angioedema from grape hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 101, 31.

Veien N.K., Hattel T., Justesen O and Norhom A. 1987. Oral challenge with food additives Contact Derm. 17, 100-103.

Ward N.I., Soulsbury K A., Zeittel V.H. 1990. The influence of the chemical additive tartazine on the zinc status of hyperactive children ó a double óblind placebo ó controlled study. J Nutr Med 1, 51-57.

Wesley B., Barbara K. e Batimer W. 2000. Food Allergy Review. Journal Pediatr Gastroenterol Nutr, Vol 30.

Wissgott U e Bortilik K 1996. Prospects for new natural food colorants. Trends in Food Science and Technology Vol 7.

Wuthrich B., Schmid - Grendelmeyer P., and Lundberg M. 1997b. Anaphylaxis to saffron. Allergy 52, 476-477.

Wuthrich B., Kagi M.K., and Stucker .W. 1997a. Anaphylactic reactions to ingested carmine (E120). Allergy 52, 1133-1137.

Young E., Patel S., Stoneham M., Rona R., and Wilkinson J.D. 1987. The prevalence of reaction to food additives in a survey population. J Royal Coll. Physicians Lond. 21, 241-247.

SITI INTERNET:

<http://europa.eu.int/eur-lex/>

www.parlamento.it

www.ministerodellasalute.it

www.eufic.org

9 RINGRAZIAMENTI

Arrivato a questo punto, significa essere arrivato alla conclusione degli studi che circa tre anni fa ho intrapreso; a questo proposito devo sicuramente fare dei ringraziamenti a tutte quelle persone che durante questo periodo mi sono state vicino e che hanno creduto in me, nonostante le varie difficoltà che ho dovuto affrontare.

Sicuramente un grande ringraziamento lo devo ai miei genitori, che mi hanno dato la possibilità di continuare gli studi e affrontare così un'importante esperienza sia formativa, sia umana, (la necessità di confrontarsi con nuove persone, la necessità di vivere in un nuovo ambiente diverso da quello familiare).

Un ulteriore ringraziamento lo devo a tutti i miei professori delle Scuole Superiori, e in particolar modo al Prof. Filippi, che per primo (già dalla terza superiore!!) ha insistito sul fatto che dovessi continuare gli studi dopo essermi diplomato; a questo proposito infatti devo dire che se non fosse stata per la sua insistenza, molto probabilmente quest'esperienza non l'avrei affrontata.

Ringrazio pure tutti i miei familiari (zii, cugini) che mi sono sempre stati a fianco, e che anche in questo caso mi hanno sostenuto durante questa importante esperienza.

Devo ringraziare tutti i miei amici più cari, che durante questi tre anni mi hanno sopportato, dato che dal momento in cui iniziavano le lezioni, per non parlare durante le sessioni d'esame, io ero difficilmente reperibile e uscivo di casa raramente; nonostante questo, ogni fine settimana loro erano pronti a chiamarmi per vedere se fosse il giorno in cui anch'io uscivo per andare a divertirmi o a passare la serata in loro compagnia. Tra gli amici, a cui devo un grande ringraziamento, non posso dimenticare Marco (se ho continuato gli studi in parte lo devo anche a lui), Luisa, Alessandro, Andrea e Sara, con i quali ho trascorso importanti momenti, in particolar modo durante i numerosi viaggi tra Padova e la zona in cui abitiamo.

Ringrazio tutte le persone con cui ho fatto amicizia durante questa esperienza padovana, a partire dagli amici che ho incontrato a lezione, e in particolar modo Michele, con cui ho affrontato buona parte degli esami, e durante il quale ci siamo presi delle belle soddisfazioni. Tra le altre persone che ho conosciuto durante questa esperienza universitaria, non posso dimenticare gli amici Katia, Romano, Laura.

Infine un grande e sentito ringraziamento lo devo assolutamente fare ai miei coinquilini, tra cui Valentina, Mary, Margherita, Marica, Lorena, Elisa, Paolo, Riccardo ed in ultimo

Alberto, con cui ho passato una bella esperienza di convivenza e di amicizia, nella speranza che questa amicizia possa continuare anche in futuro.

Nella speranza di non aver dimenticato nessuno, rivolgo un sentito grazie a tutti quanti.