

Le basi molecolari del gusto dolce: breve storia.

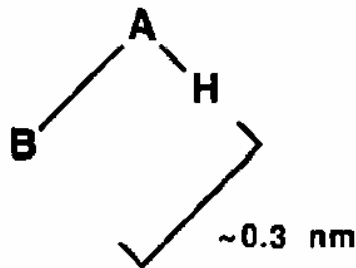
Georg Cohn (Germania, 1914): per elicitare la risposta sensoriale una molecola deve contenere un motivo strutturale (sapoforo). Nota che molecole a basso peso molecolare contenenti più gruppi ossidrilici e/o atomi di cloro sono dolci.

Oertly e Myers (1919): per essere dolce una sostanza deve contenere due motivi strutturali, un glucoforo e un auxogluc (dai termini usata nel campo della teoria del colore, cromoforo e auxocromo).

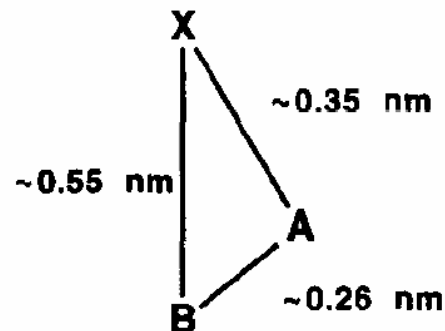
Le basi molecolari del gusto dolce: breve storia.

Shallenberger e Acree (1963): teoria AH-B, per essere dolce una sostanza deve contenere un gruppo donatore di legame idrogeno (AH) e una base di Lewis (B) alla distanza di circa 0.3 nm. Il motivo AH-B della sostanza dolce interagisce con un motivo complementare sul recettore (a).

Kier (1972): teoria AH-B-X, per essere dolce, oltre al motivo AH-B, una sostanza deve contenere un gruppo idrofobico in grado di interagire attraverso forze di dispersione di London con un sito di riconoscimento idrofobico sul recettore (b).

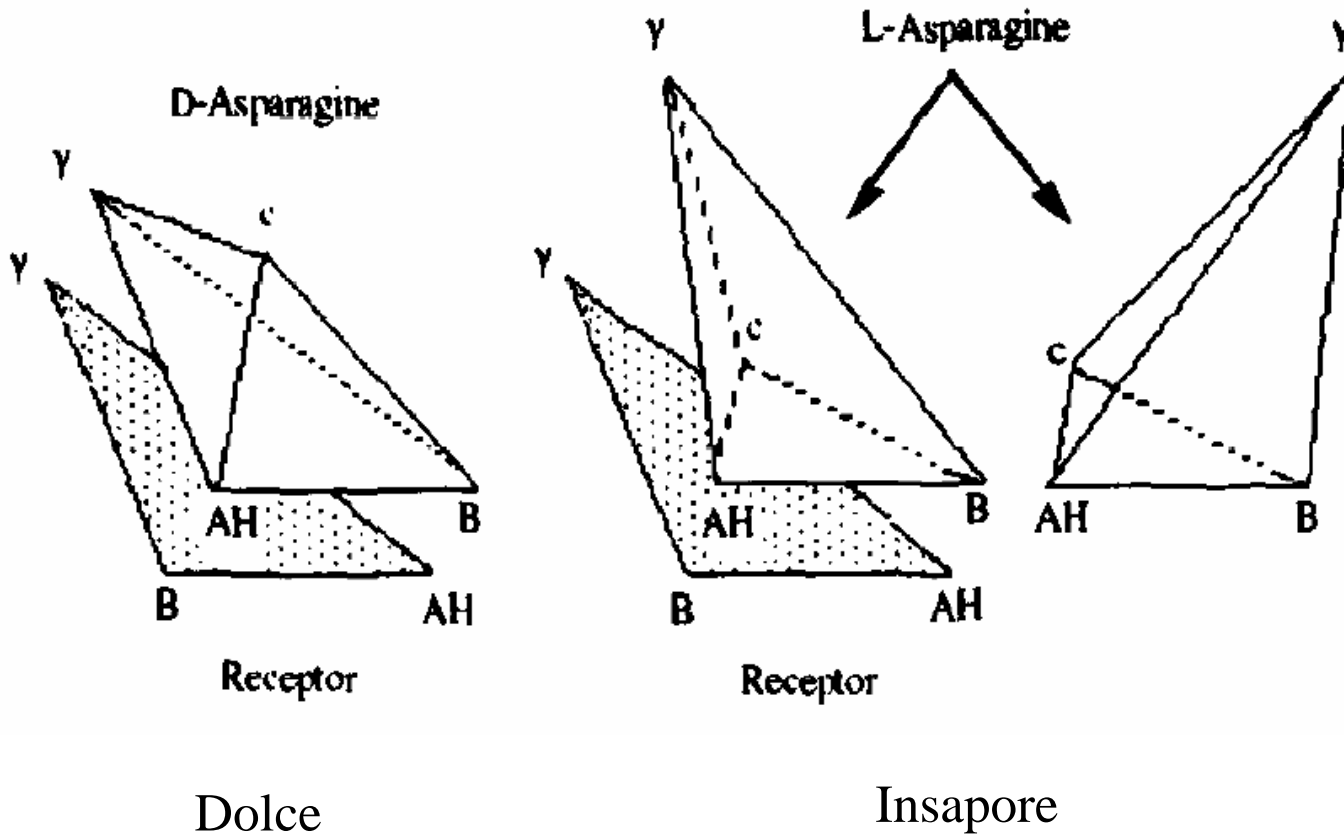


(a)



(b)

Modello dell'interazione a tre punti tra il modello spaziale trigonale AH-B- γ e il sito recettoriale per il dolce nel caso della D- e della L-Asparagina



Le basi molecolari del gusto dolce: la teoria dell'interazione multisito.

Tinti e Nofre (1991): questa teoria implica la presenza di otto potenziali siti di interazione tra molecola dolce e recettore, anche se non tutte le molecole dolci interagiscono contemporaneamente con tutti gli otto siti sul recettore.

Ogni sito può dare origine a due interazioni puntiformi, che possono operare indipendentemente o in modo cooperativo.

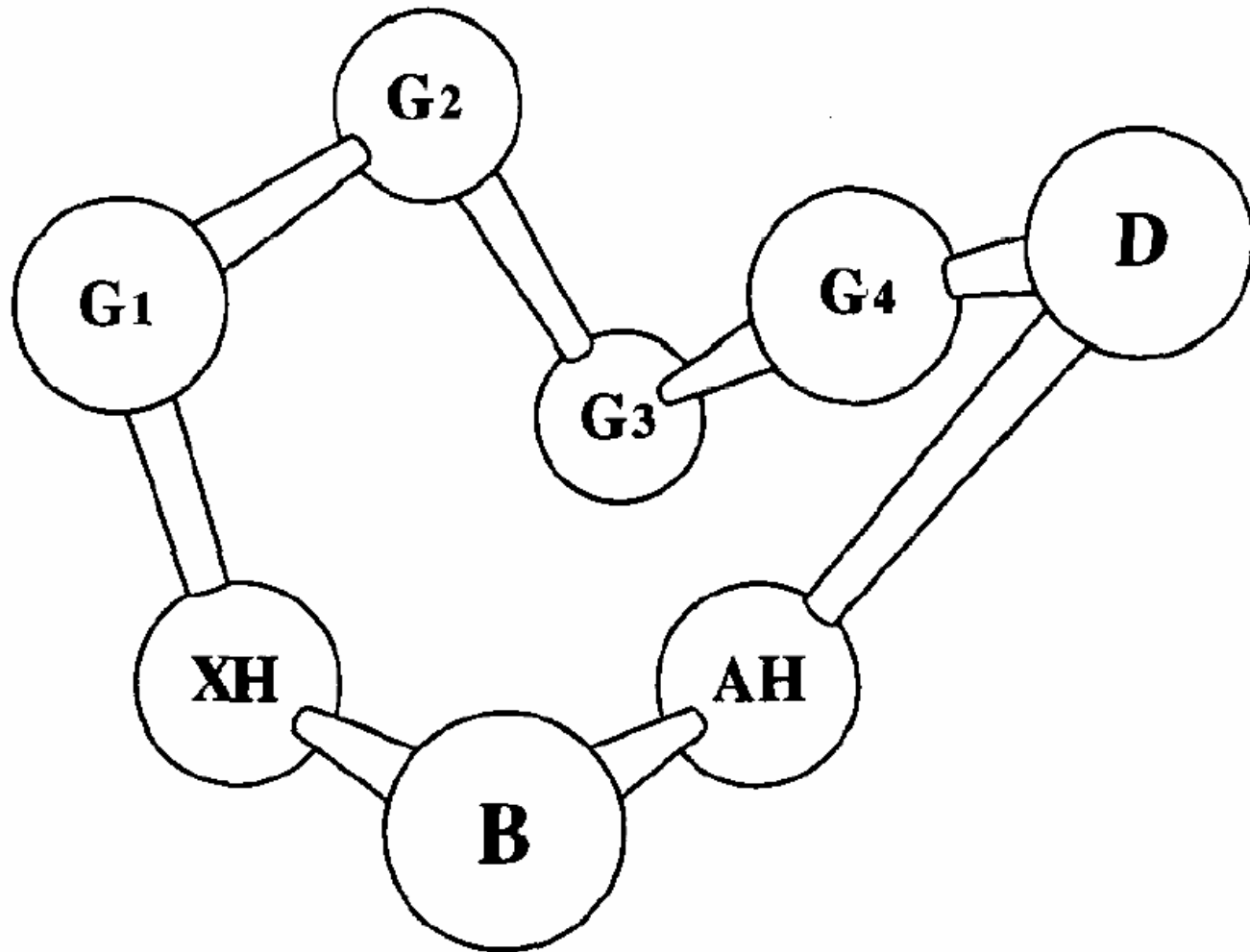
Le interazioni a livello elementare sono di tre tipi: (i) interazione ionica (attrazione elettrostatica), (ii) legame idrogeno, (iii) forze di van der Waals (interazioni idrofobiche o steriche).

Questo modello ha portato alla scoperta di nuove molecole con potere dolcificante elevatissimo (fino a 200000 volte più dolci del saccarosio).

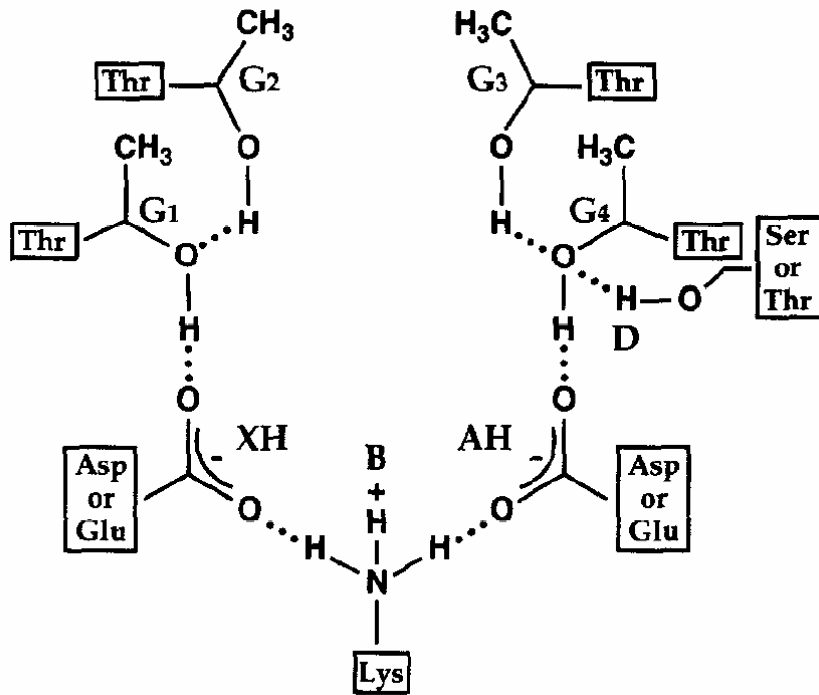
Siti di interazione, tipi di interazioni e possibili siti di riconoscimento sul recettore.

Interaction sites	Interaction points	Elementary interactions	Recognition sites
B	B1	Ionic and/or	Lys
	B2	H-bonding	
AH	AH1	Ionic and/or	Asp/Glu
	AH2	H-bonding	
XH	XH1	Ionic and/or	Asp/Glu
	XH2	H-bonding	
G1	G1	Steric	Thr
	E1	H-bonding	
G2	G2	Steric	Thr
	E2	H-bonding	
G3	G3	Steric	Thr
	E3	H-bonding	
G4	G4	Steric	Thr
	E4	H-bonding	
D	D	H-bonding	Ser/Thr

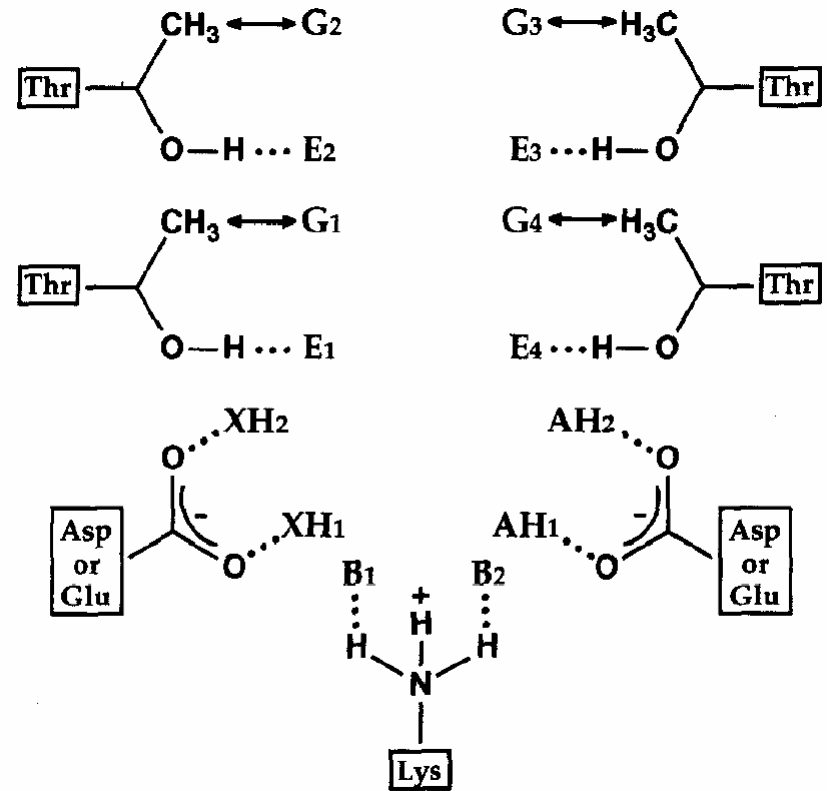
Distribuzione spaziale degli otto siti di riconoscimento.



**Rappresentazione del sito recettoriale (a) e del suo stato attivato (b)
per interazione con una molecola dolce (saccarosio, ad esempio).**

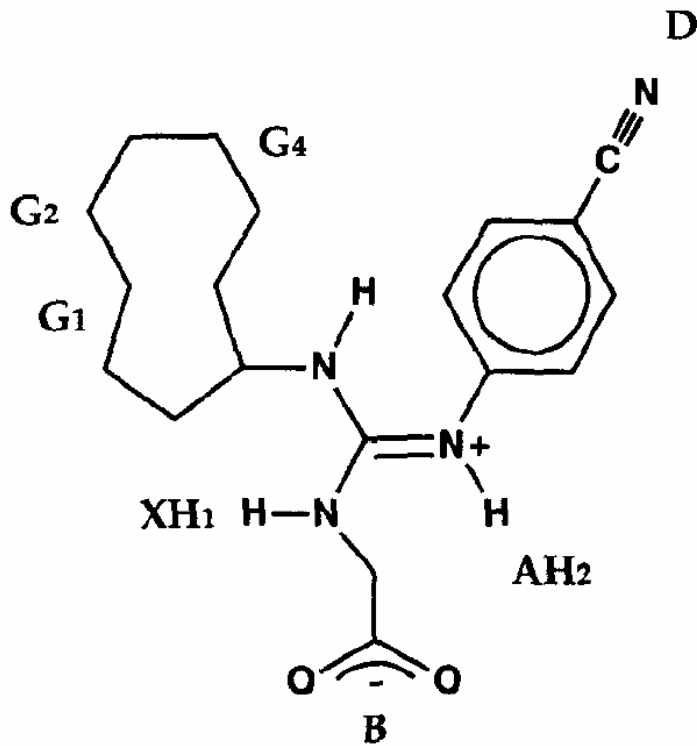


(a)



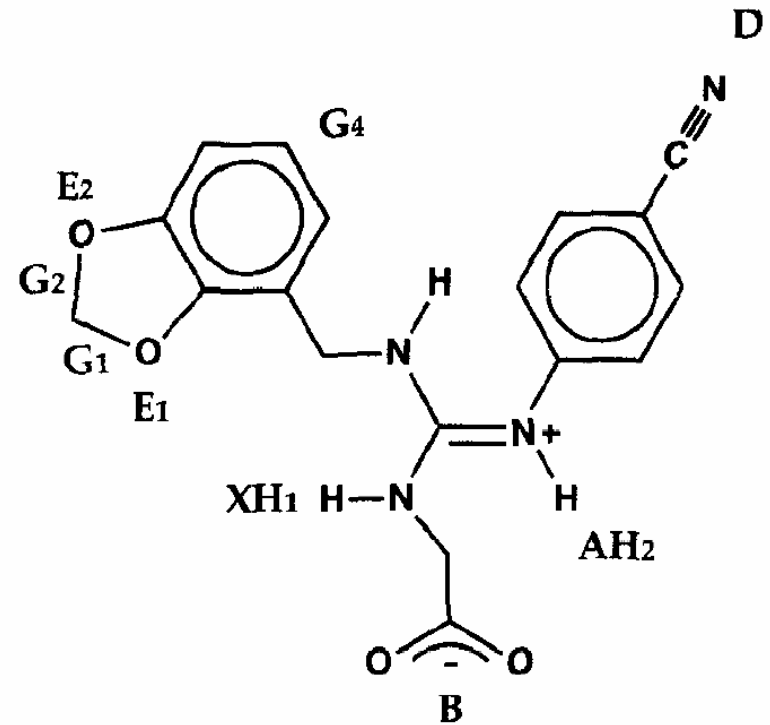
(b)

Le più dolci sostanze finora scoperte (derivati guanidinici).



Sucronato (acido sucrononico)

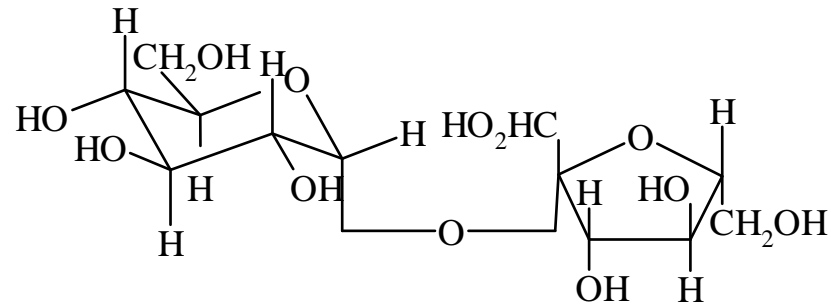
20000 volte più dolce del saccarosio



Lugduname

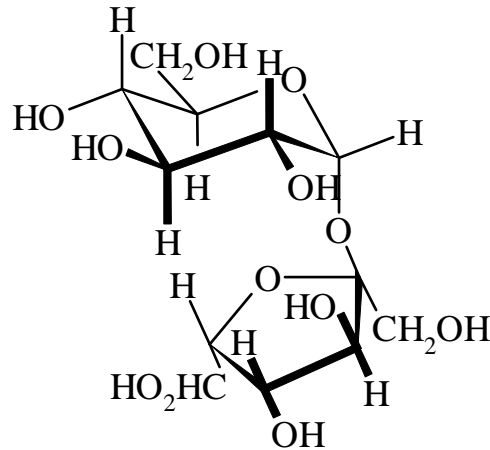
225000 volte più dolce del saccarosio

Saccarosio



β -D-Fruttofuranosil- α -D-glucopiranoside

O- β -D-Fruf-(2 \rightarrow 1)- α -D-Glcp



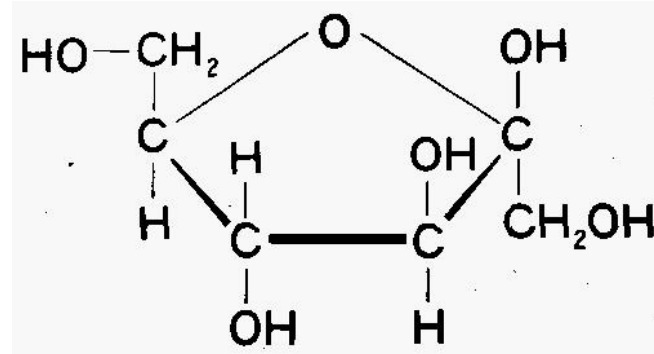
Zucchero da tavola: granulato (400-600 μ m), semolato (200-450 μ m) a velo (10-15 μ m)

Molto diffuso nel regno vegetale (barbabietola, canna da zucchero)

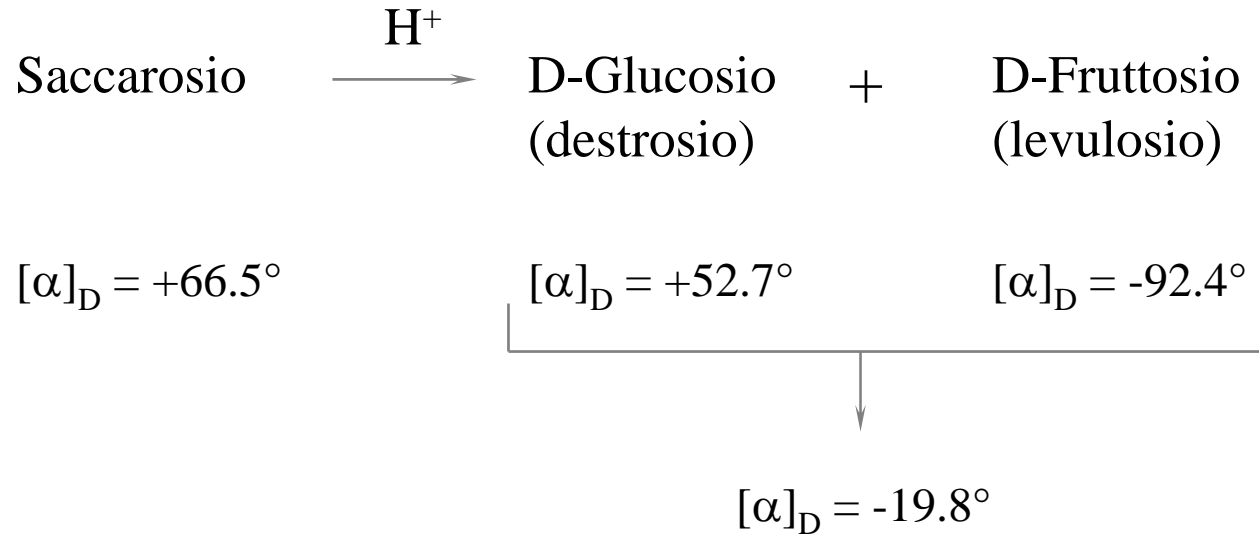
Fruttosio

Fruttosio (o levulosio) è un monosaccaride tipico di molti alimenti quali miele, frutta, verdura.

Fruttosio spesso raccomandato per persone con diabete o ipoglicemia: indice glicemico molto basso.



Zucchero invertito

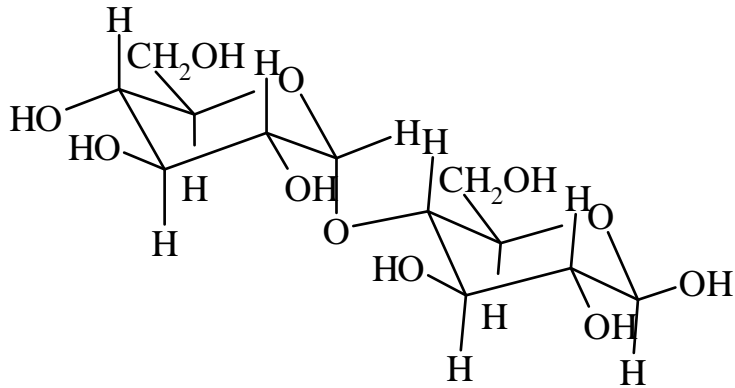


Tradizionalmente idrolisi mediante acido citrico: sciroppo che non cristallizza anche con un contenuto di solido dell'80%.

Moderna pasticceria: sciroppi d'amido (glucosio liquido).

Oggigiorno α -amilasi termostabili e glucosio isomerasi (glucosio in fruttosio).

Maltosio



O- α -D-Glucopiranosil-(1 \rightarrow 4)-D-glucopiranosio

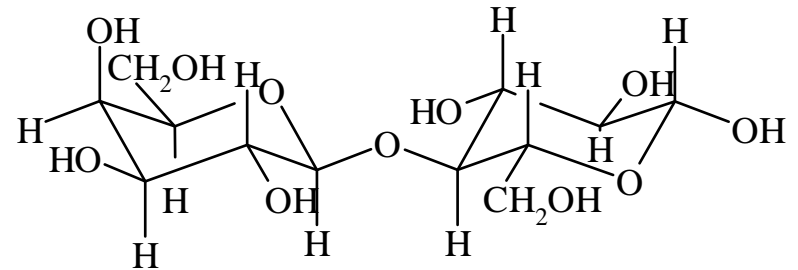
O- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 4)-D-Glcp

Costituente dell'amido

Barbabietola da zucchero

Miele

Lattosio



O- β -D-Galattopiranosil-(1 \rightarrow 4)-D-glucopiranosio

O- β -D-Galp-(1 \rightarrow 4)-D-Glcp

Zucchero del latte

High fructose corn syrup

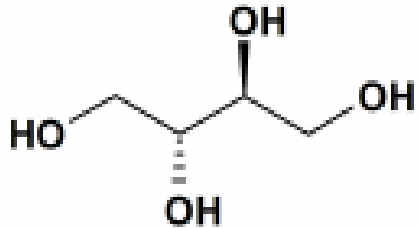


Miscela di glucosio e fruttosio ottenuta da amido di mais attraverso degradazione enzimatica (alfa-amilasi, glucoamilasi) e isomerizzazione (glucoso-isomerasi): fino a 55% di fruttosio.

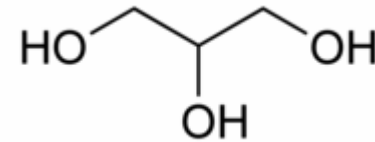
Utilizzo eccessivo è fattore di rischio per obesità e diabete di tipo 2.

Zuccheri alcoli (alditoli)

Eritritolo



Glicerina (glicerolo)



Alditolo (zucchero alcool) naturale
Ca. 70% della dolcezza del saccarosio
Virtualmente non calorico (almeno 95%
in meno degli zuccheri)
Non influenza il glucosio ematico
Non cariogeno
Assorbito dall'organismo

Liquido viscoso, incolore, inodore,
igroscopico e dolciastro
Dolcezza: ca. il 60% del saccarosio
E422
Acariogeno

Zuccheri alcoli (alditoli)

Lactitolo

Dolcezza: ca. il 40% del saccarosio
Elevata stabilità al calore
Calorie: 50% rispetto allo zucchero
Biscotti, cioccolata, gelati, caramelle

Maltitolo

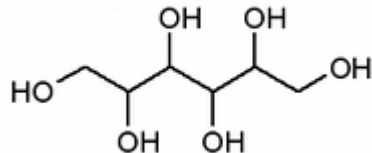
Dolcezza: ca. il 90% del saccarosio
Prodotti da forno, chewing gum,
cioccolata, gelati

Mannitolo

Dolcificante per caramelle balsamiche
(effetto rinfrescante)
Lassativo

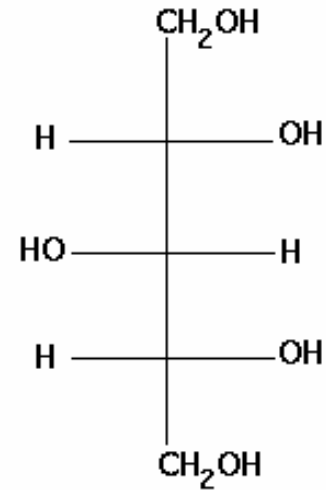
Sorbitolo (glucitolo)

Dolcezza: ca. il 90% del saccarosio
Alimenti e bevande dietetiche
Crioprotettivo nel surimi



GRAS: generally recognized as safe

Xilitolo

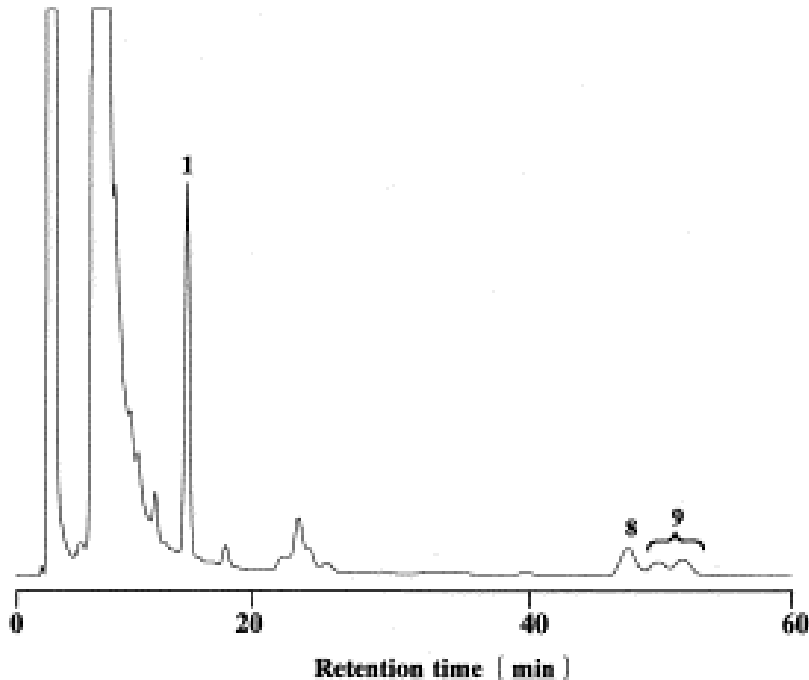


Estratto da betulle, lamponi, prugne, mais



Analisi di alditoli in alimenti dolcificati

Marmellata "light"



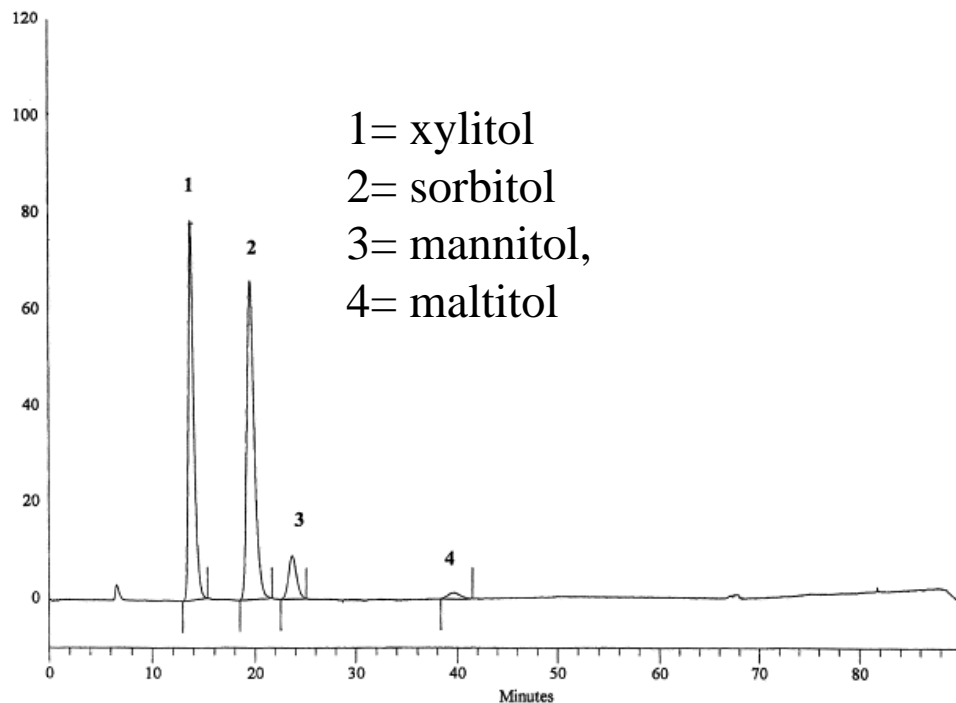
- Estrazione in etanolo al 30%
- derivatizzazione con p-nitrobenzoilcloruro (PNBC) a 50°C per 1h
- purificazione su Sep-Pak in fase diretta (silice)
- analisi HPLC con rivelazione UV

1= *meso*-erythritol

8= maltitol

9= parachinit.

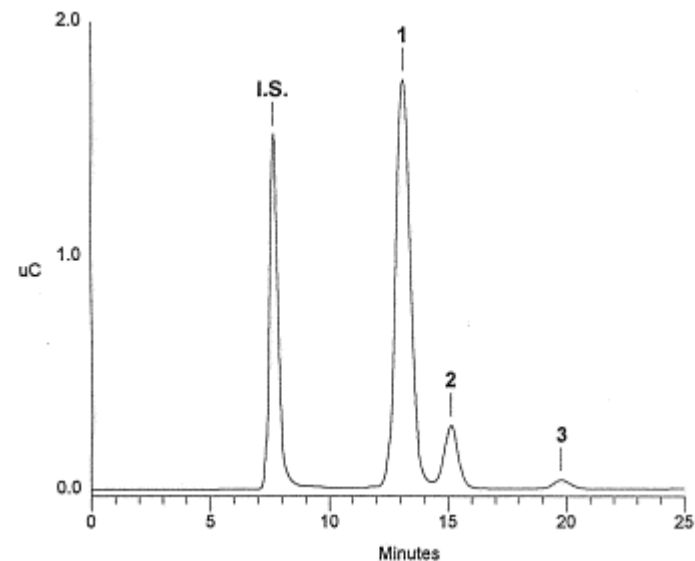
Chewing gum “senza zucchero”



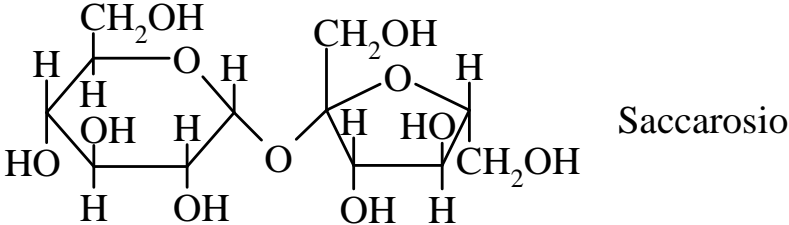
- Estrazione in acqua
- Analisi HPLC a scambio anionico forte, con fase mobile KOH 0.5 M e CH_3COONa 0.25 M

Dolcificante in pillole

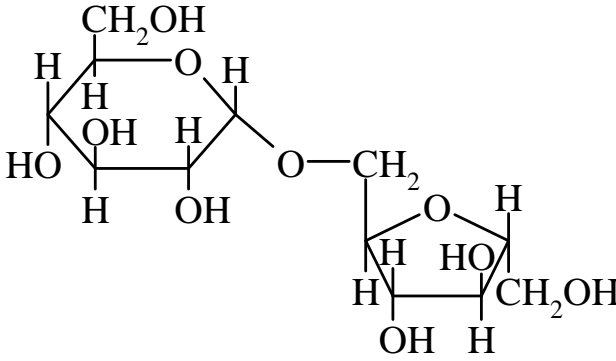
- I.S.= myo-inositol
1= sorbitol
2= mannitol,
3= fructose



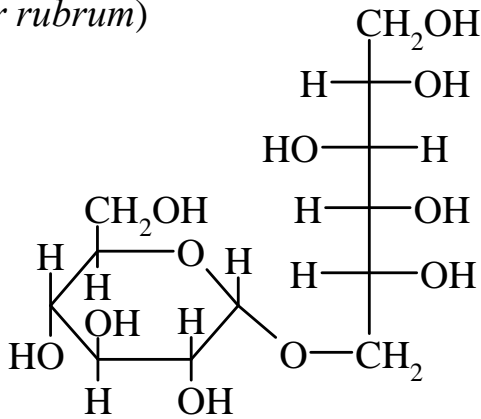
Isomalto (sintetico)



↓
 transglucosossidasi (*Protaminobacter rubrum*)



→
 H_2



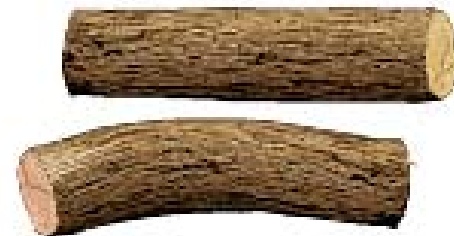
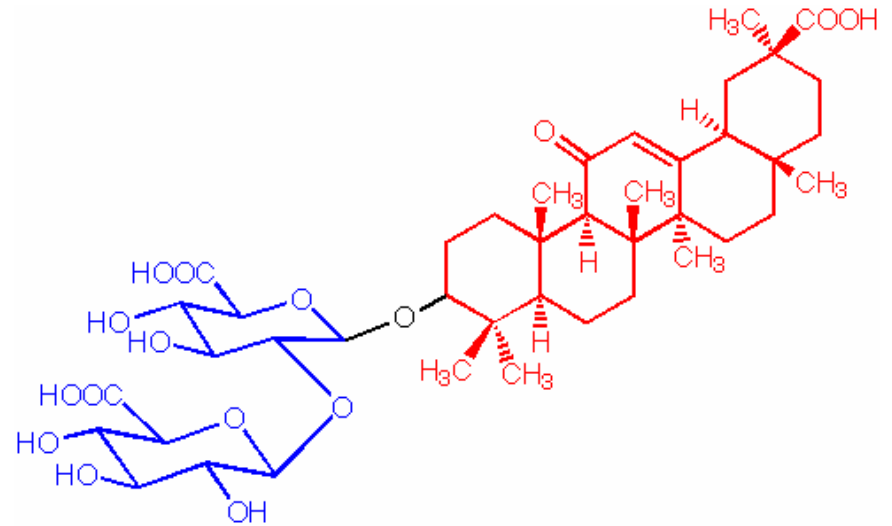
α -D-glucopiranosil-(1 → 6)-D-sorbitolo
 +
 α -D-glucopiranosil-(1 → 6)-D-mannitolo
 (isomalto)

Glicirrina

Triterpene glicoside, principio attivo della radice di liquerizia.

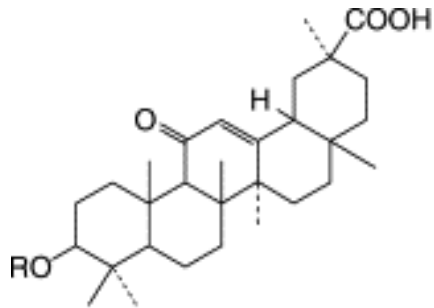
Dolcificante 30-50 volte più dolce del saccarosio.

Retrogusto di liquerizia

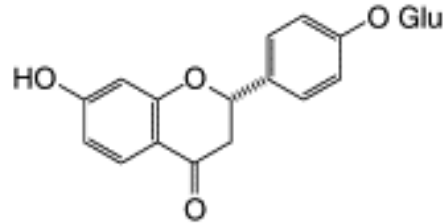


Glycyrrhiza glabra

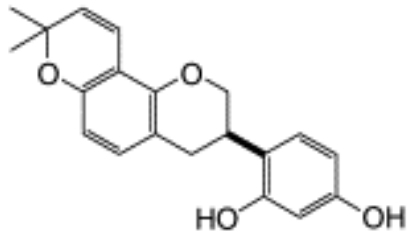
Analisi mediante CZE di radici di liquirizia



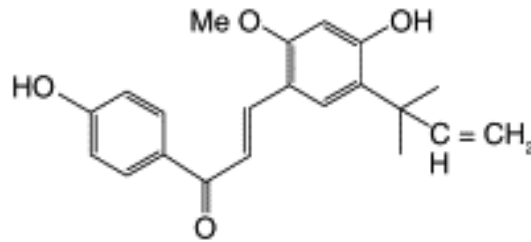
Glycyrrhizin (GL), R = Glc A $\hat{=}$ GlcA
Glycyrrhetic Acid (GA), R = H



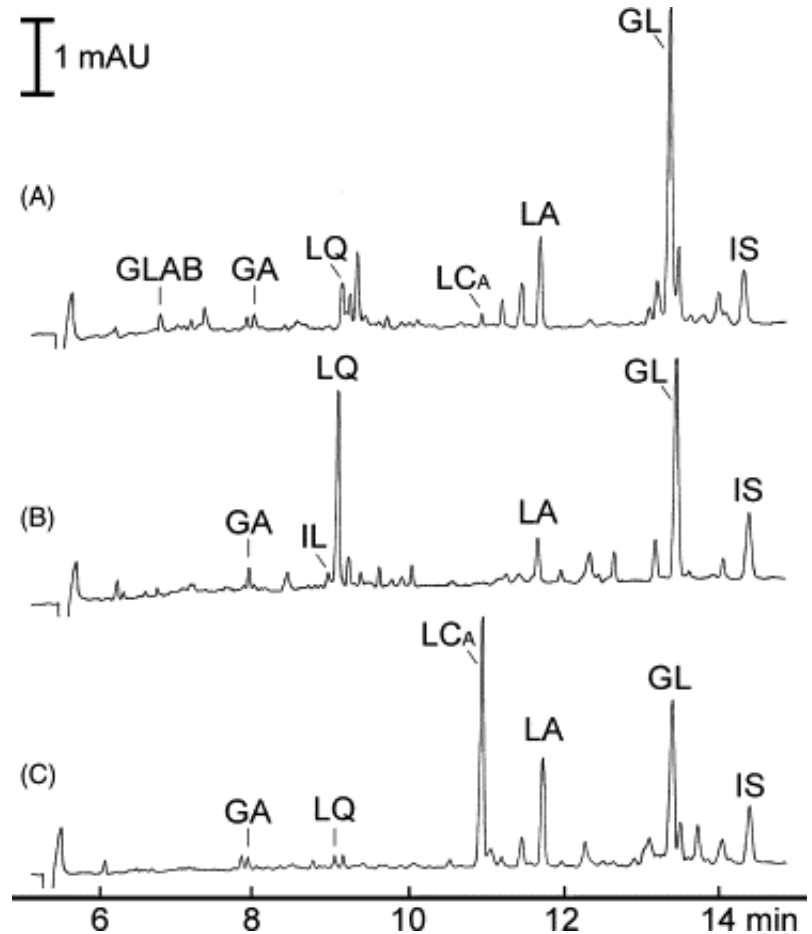
Liquiritin (LQ)



Glabridin (GLAB)



Licochalcone A (LCA)



Elettroferogramma di estratti dalla radice di liquirizia: GLAB: glabridina, GA: acido gliciretico, IL: isoliquiritina, LQ: liquiritina, LCA: licochalcone A, LA: liquiritin apioside, GL: glicirizzina,

Stevioside

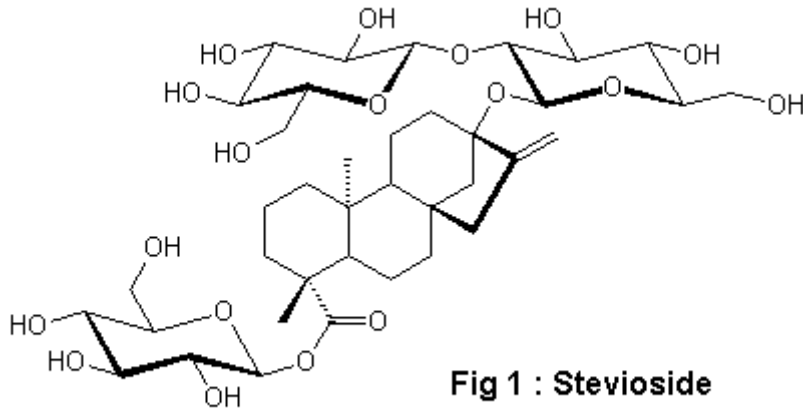


Fig 1 : Stevioside

250-300 volte più dolce del saccarosio

Molto usata in Cina e altri paesi.

Non permessa in EU.

Permessa in USA come componente dietetico, non come additivo.

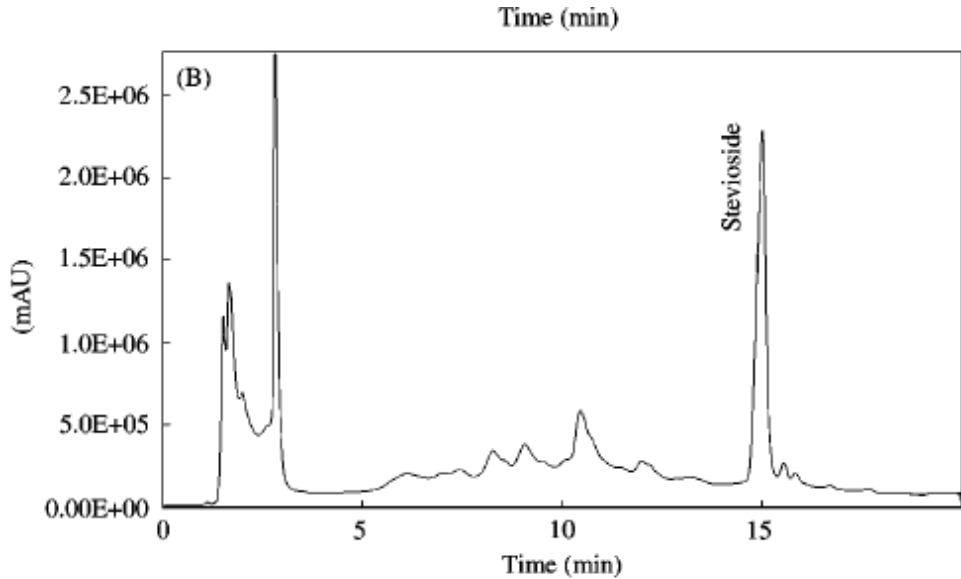


Stevia rebaudiana

(famiglia delle Asteracee)

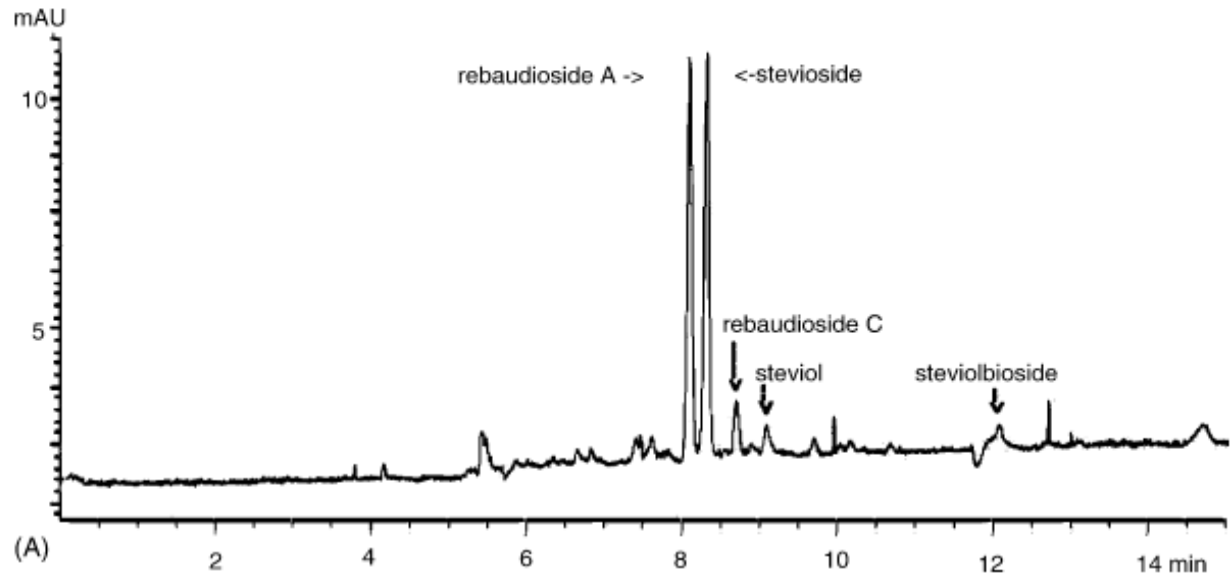
Native di Centro e Sud America

Analisi dello stevioside in tè a base di frutta

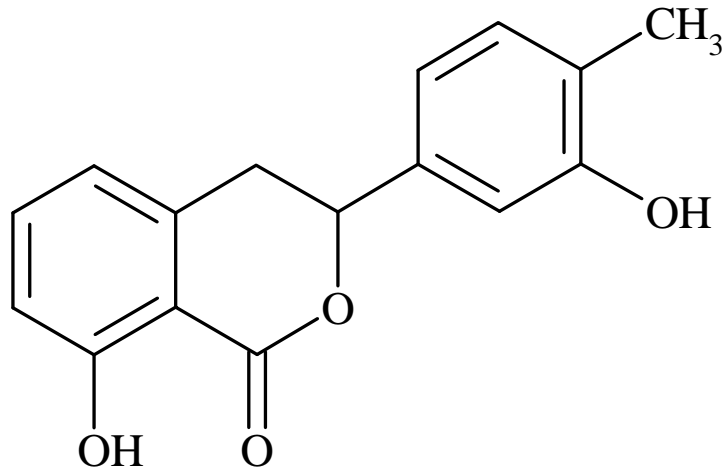


- Estrazione dello stevioside dal tè ottenuto dalle foglie della pianta
- Arricchimento e purificazione su Sep-Pak C18
- Analisi mediante HPLC con rivelatore UV a 205 nm

- Estrazione con metanolo
- Purificazione su colonna in silice
- Analisi in CZE



Fillodulcina



300-400 volte più dolce del saccarosio

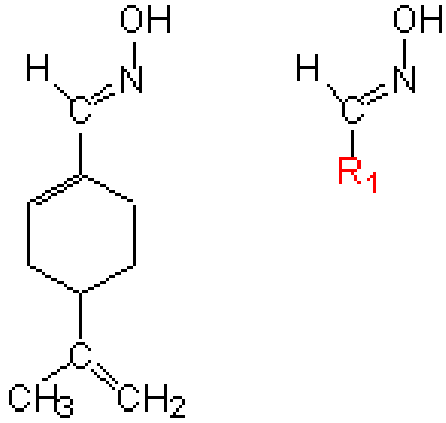
Utilizzata in Giappone, Australia,

Tailandia



Hydrangea macrophylla (ortensia)

Perillartina

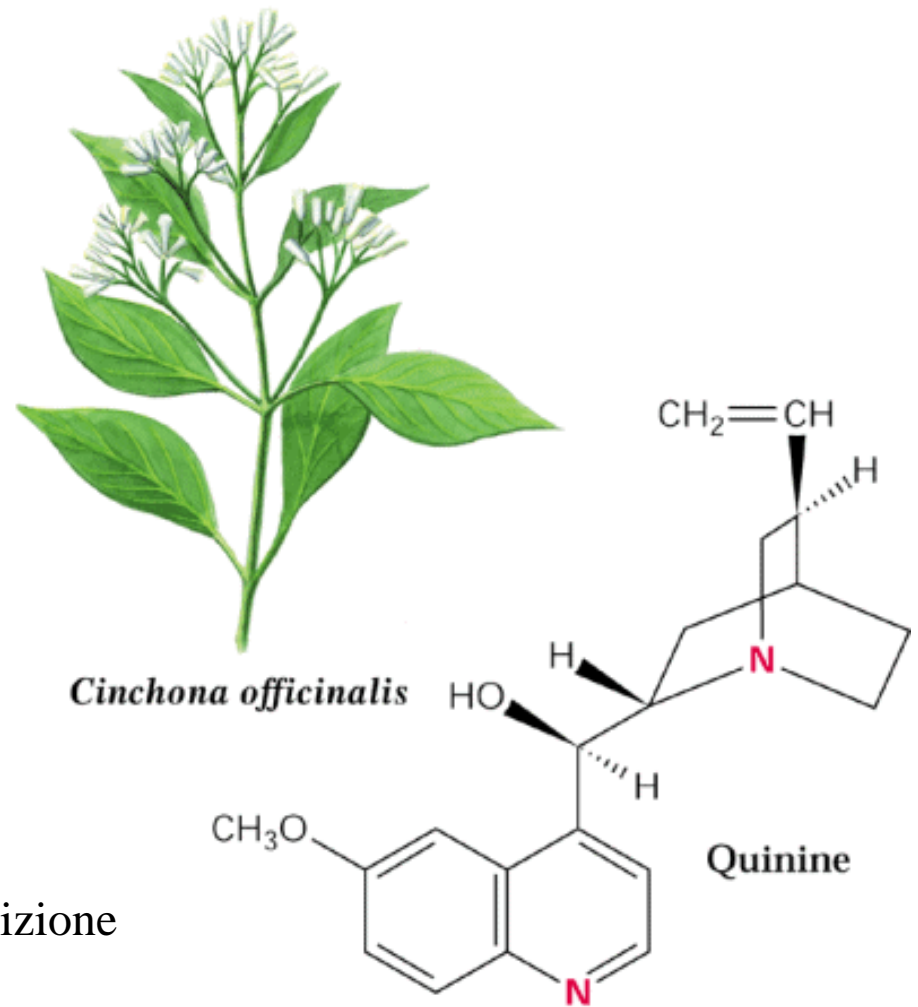


400-2000 volte più dolce del saccarosio



Perilla frutescens (India, Himalaya)

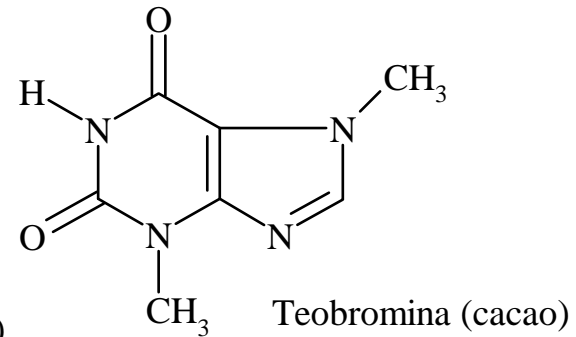
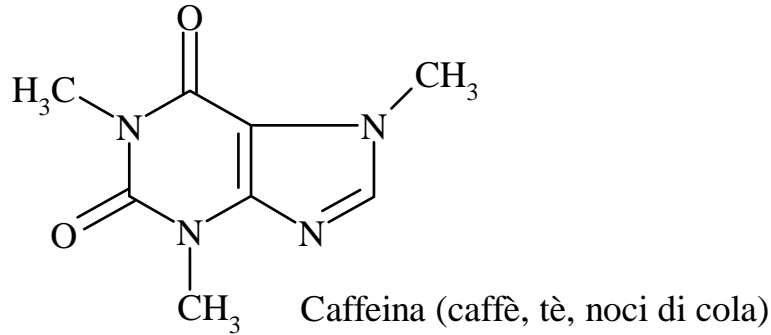
Chinina (soft drink) --Amaro



Anti-malarico, antipiretico e analgesico.

Acqua tonica o gin tonic: secondo la tradizione inventati per assumere l'antimalarico.

Caffeina



Xantine (alcaloidi): stimolanti del sistema nervoso centrale.

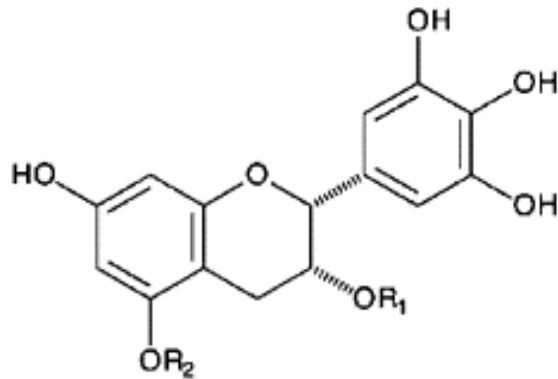
Caffeina: sostanza amara di riferimento.

Energy drinks (Red Bull).

Caffeina come additivo viene recuperata da caffè decaffeinato, ecc.

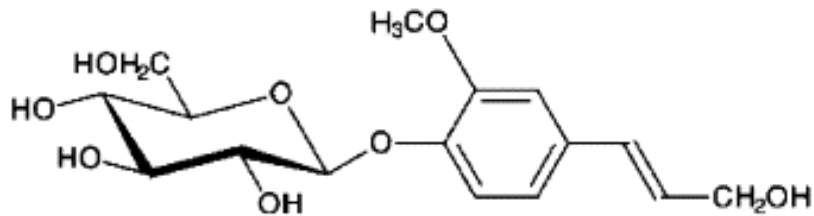


Catechine contenute nel tè (*Camellia sinensis*)

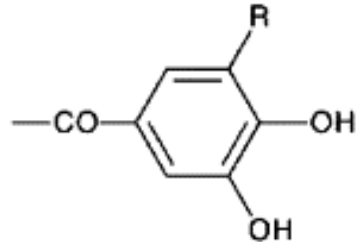


(-)-Epigallocatechin 3-*O*-(3'-*O*-methyl)gallate : $R_1=3\text{-MeG}$, $R_2=H$

(-)-Epigallocatechin 3,5-di-*O*-gallate : $R_1=R_2=G$

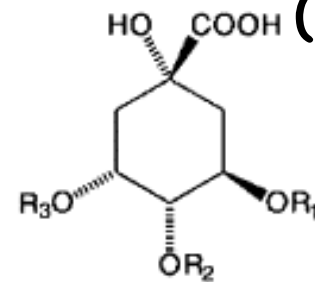


Coniferin



Galloyl (G) : $R=OH$

3-*O*-Methylgalloyl (3-MeG) : $R=OCH_3$

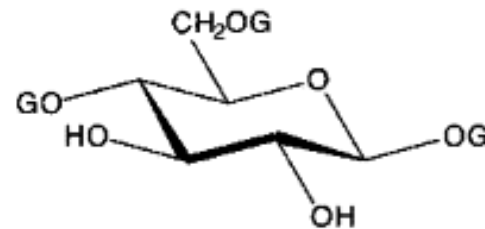


Chlorogenic acid : $R_1=\text{Caffeoyl}$, $R_2=R_3=H$

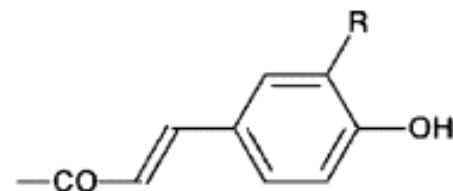
3-*O*-Caffeoylquinic acid : $R_1=R_2=H$, $R_3=\text{Caffeoyl}$

5-*O*-*p*-Coumaroylquinic acid : $R_1=p\text{-Coumaroyl}$, $R_2=R_3=H$

4-*O*-*p*-Coumaroylquinic acid : $R_1=R_3=H$, $R_2=p\text{-Coumaroyl}$



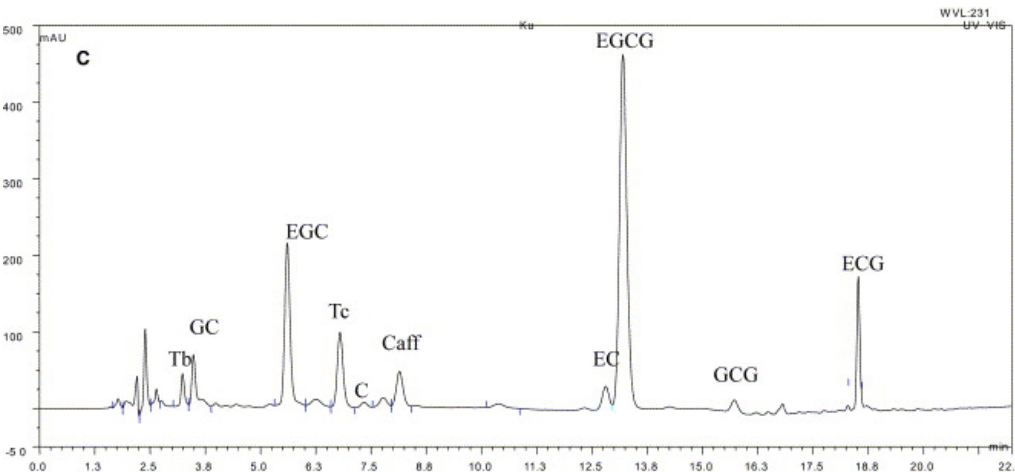
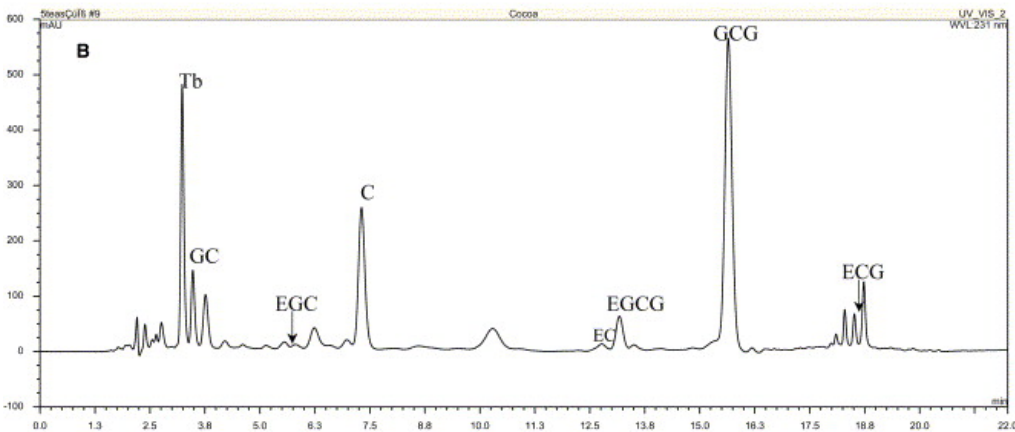
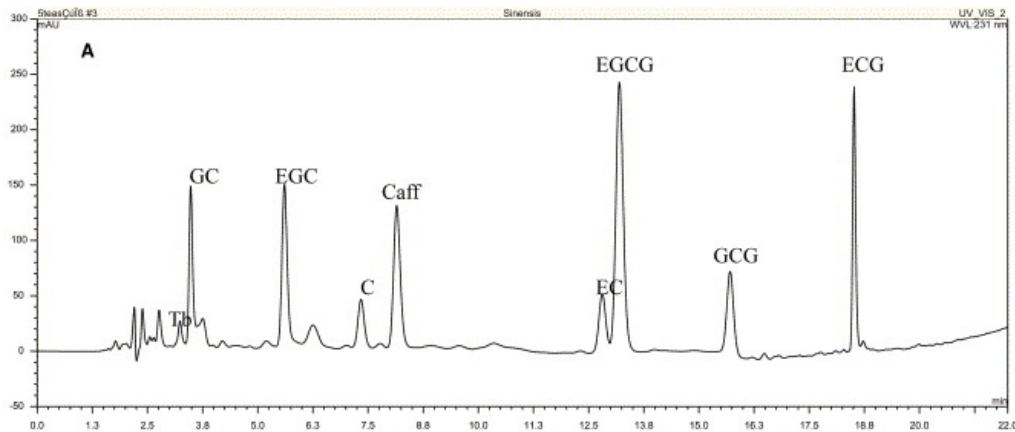
1,4,6-Tri-*O*-galloyl- β -D-glucose



Caffeoyl : $R=OH$

p-Coumaroyl : $R=H$

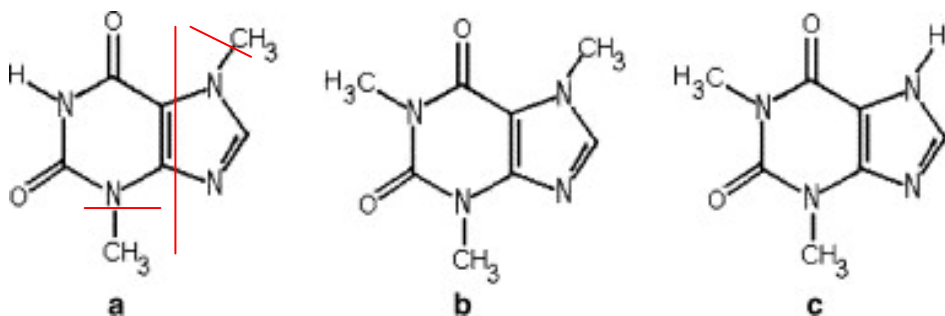
Analisi di alcaloidi e catechine dalle foglie del tè



Cromatogramma di alcaloidi e catechine estratte dalle foglie di tè verde di varietà *Camellia sinensis* (A), *Camellia ptilophylla* (B) e *Camellia assamica* var. *kucha* (C).

- Estrazione in metanolo/acetone
- Analisi mediante HPLC-UV

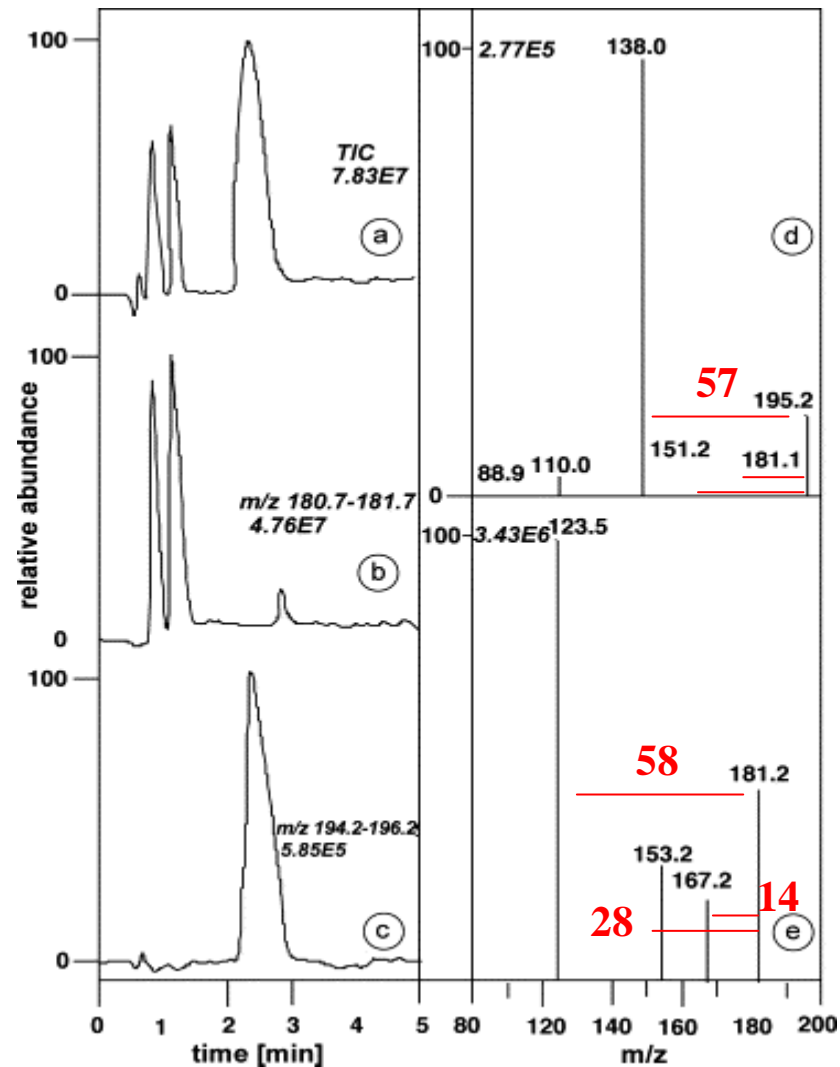
Alcaloidi contenuti nel caffè



a) theobromine; (b) caffeine; (c) theophylline.

Analisi HPLC-ESI-MS di un estratto acquoso di caffè:

- a) TIC
- b) SIM: $m/z = 180.7-181.7$;
- c) SIM: $m/z = 194.2-196.2$;
- d) MS/MS della caffeina
- e) MS/MS della teobromina

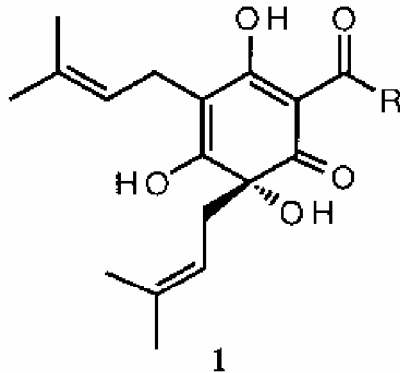


Birra



Humulus lupulus (luppolo).

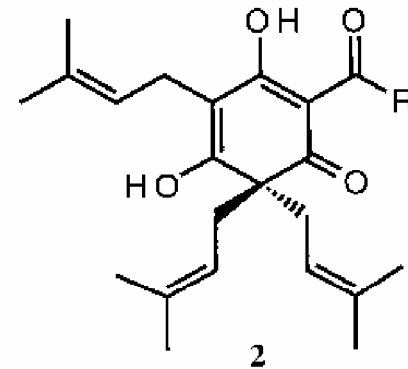
α - e β -acidi hanno attività batteriostatica e sono precursori dei composti amari.



ALPHA-ACIDS

HUMULONE (1a)
COHUMULONE (1b)
ADHUMULONE (1c)

$R = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$



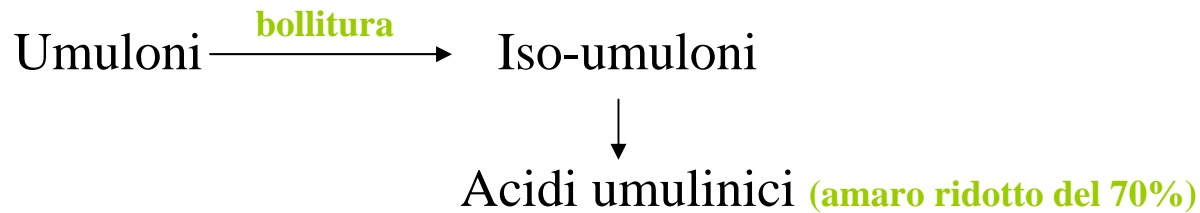
BETA-ACIDS

LUPULONE (2a)
COLUPULONE (2b)
ADLUPULONE (2c)

Utilizzo del luppolo:

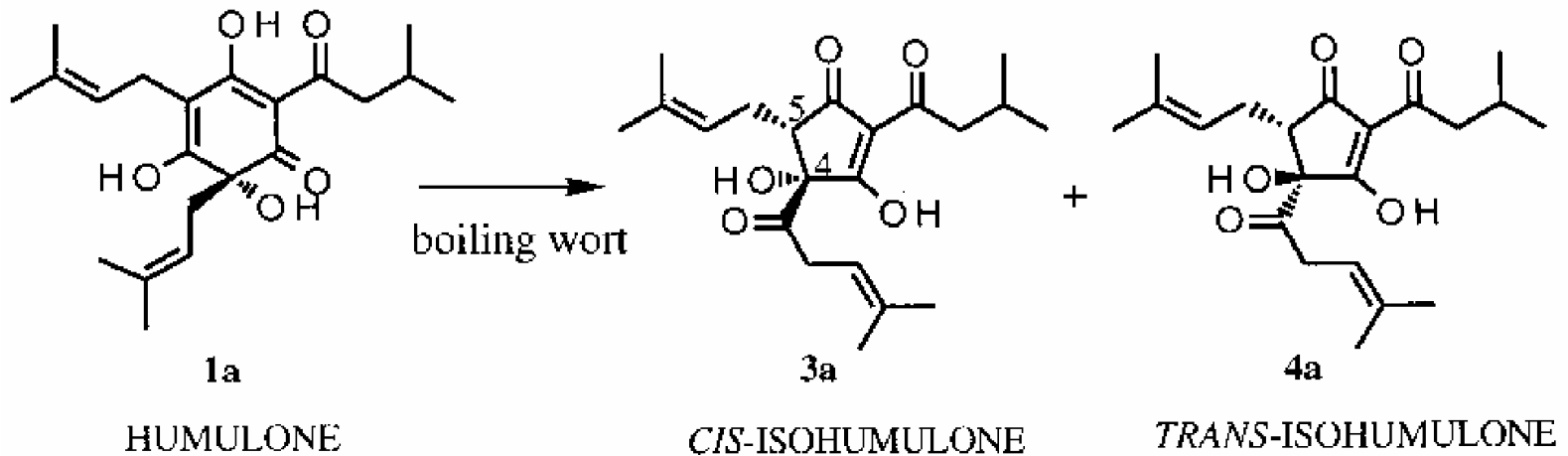
- azione chiarificante
- componenti volatili aromatiche e sapore amaro
- proprietà antibiotiche (→ stabilità della birra)
- contenuto in pectine (azione schiumogena)

La composizione del luppolo in α - e β -acidi varia molto in base alla sua origine geografica.



Composti amari	18.3 %
Oli essenziali	0.5 %
Polifenoli	3.5 %
Ceneri	8.5 %
Fibra	15 %
Proteine	20 %

Composizione dell'estratto secco di luppolo



Isomerizzazione degli α -acidi del luppolo durante la cottura: composti più solubili.
 Diverso grado di amaro a seconda del momento dell'aggiunta del luppolo: all'inizio (bittering hops), negli ultimi 10 minuti (hop flavour), negli ultimi tre minuti (hop aroma).

International Bitterness Units scale (IBU scale): 1 IBU = 1 ppm isoumulone

Blonde ale 15-30,

English bitter 20-35,

India Pale Ale > 40,

Irish stout 45-60

Investigation of hop and beer bitter acids by coupling of high-performance liquid chromatography to nuclear magnetic resonance spectroscopy

K. Pusecker, K. Albert, E. Bayer*

University of Tübingen, Institute of Organic Chemistry, Research Center for Nucleic Acid and Peptide Chemistry, Auf der Morgenstelle 18, D-72076 Tübingen, Germany

Received 10 July 1998; received in revised form 27 November 1998; accepted 30 December 1998

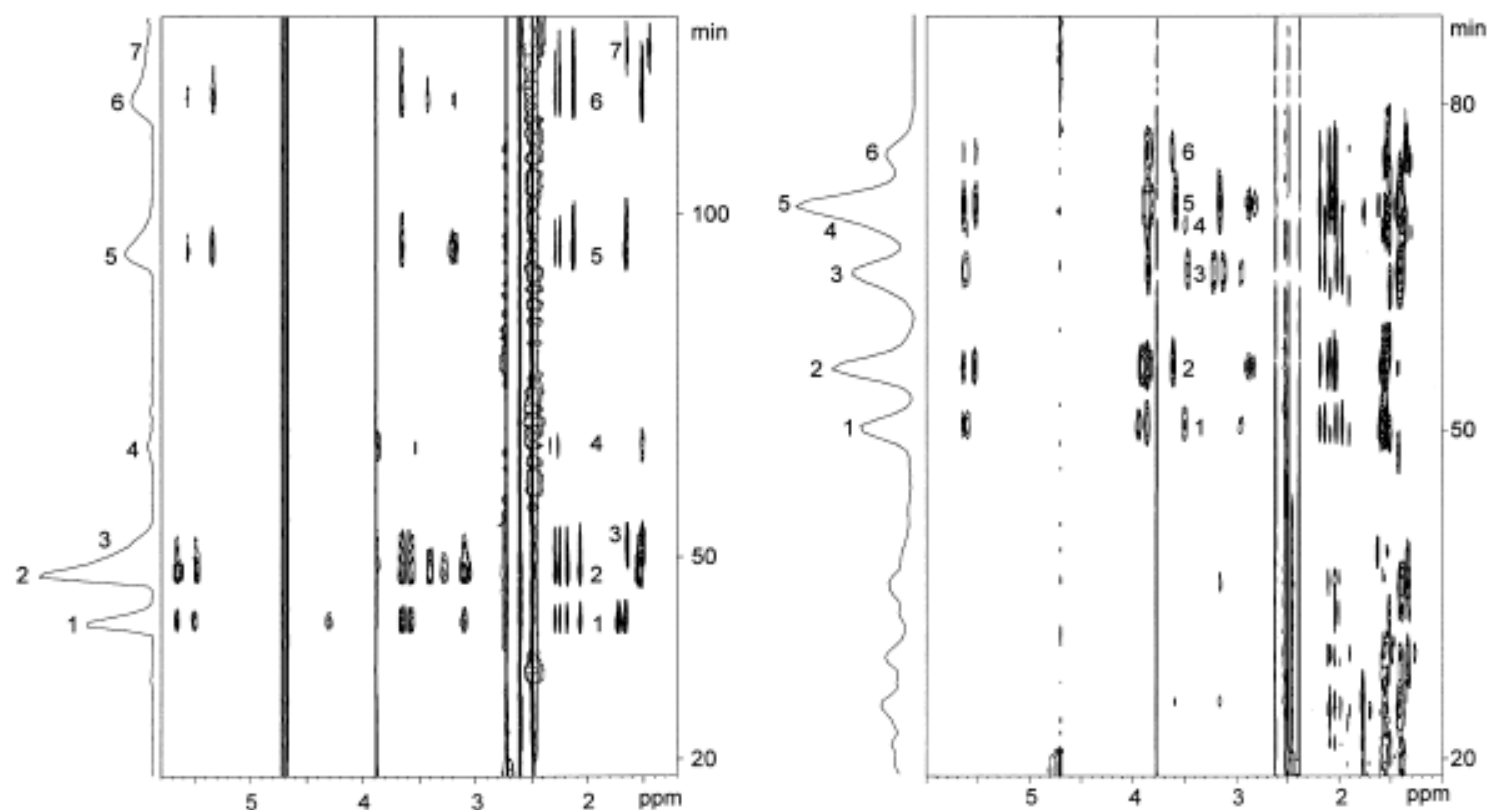
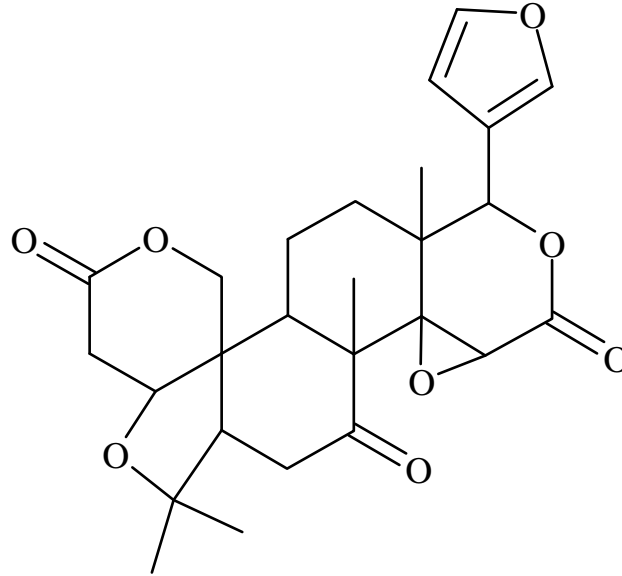


Fig. 2. NMR contour plots with NMR projection (left side) of (A) CO_2 hop extract: 1=co-humulone, 2=humulone, 3=ad-humulone, 4=unknown, 5=colupulone, 6=lupulone, 7=adlupulone; (B) isohumulones: 1=*trans*-iso-co-humulone, 2=*cis*-iso-co-humulone, 3=*trans*-isohumulone, 4=*trans*-iso-ad-humulone, 5=*cis*-isohumulone, 6=*cis*-iso-ad-humulone.

Limonina

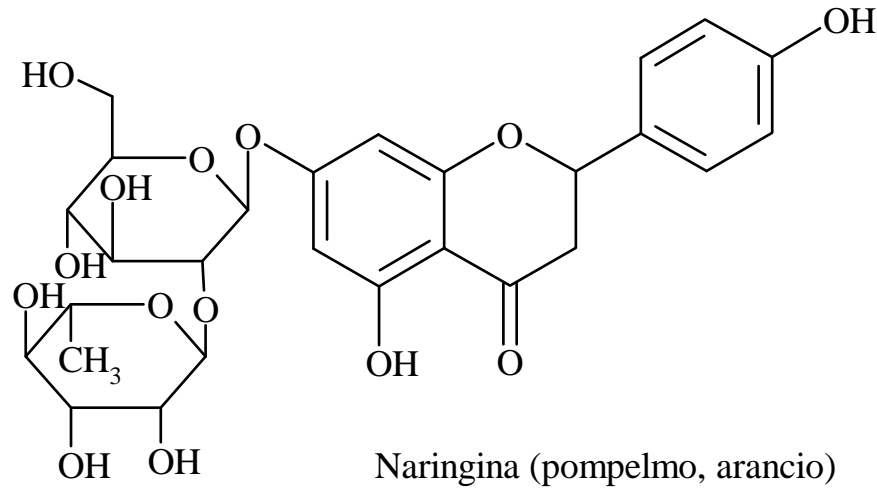


Limonina (pompelmo, arancia)

Si forma da precursori insapori durante il processo industriale di spremitura del succo di agrumi (arancia).

Trattamenti enzimatici che idrolizzano il legame estereo riducono la percezione del gusto amaro.

Naringina



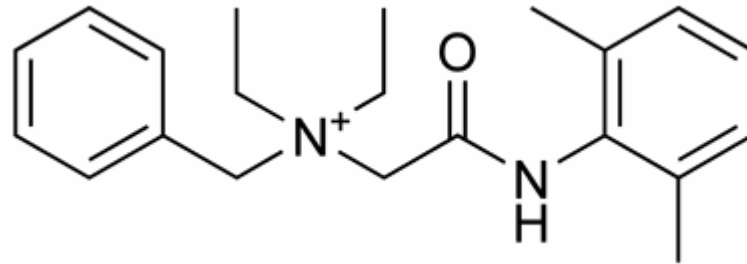
Neoesperidosio

Naringina (pompelmo, arancio)

Sapore amaro del pompelmo.

Insieme ad altri polifenoli (esperidina, narirutina, ecc.) responsabile del sapore amaro dell'albedo degli agrumi.

Denatonium benzoate (Bitrex)



E' il composto più amaro conosciuto

Scoperto nel 1958 durante ricerche sugli anestetici locali (analogo della lidocaina)

Utilizzato come additivo per evitare l'ingestione accidentale di sostanze tossiche (alcol denaturato, antigelo, detersivi liquidi, prodotti per la casa, ecc.)

Sapore e valore di soglia di alcuni peptidi:
 effetto della configurazione e della sequenza

Peptide	Sapore	
	Qualità	Valore di soglia (mmol/l, acqua)
Gly-Leu	Amaro	19-23
Gly-D-Leu	Amaro	20-23
Gly-Phe	Amaro	15-17
Gly-D-Phe	Amaro	15-17
Leu-Leu	Amaro	4- 5
Leu-D-Leu	Amaro	5- 6
D-Leu-D-Leu	Amaro	5- 6
Ala-Leu	Amaro	18-22
Leu-Ala	Amaro	18-21
Gly-Leu	Amaro	19-23
Leu-Gly	Amaro	18-21
Ala-Val	Amaro	60-80
Val-Ala	Amaro	65-75
Phe-Gly	Amaro	16-18
Gly-Phe	Amaro	15-17
Phe-Gly-Phe-Gly	Amaro	1.0-1.5
Phe-Gly-Gly-Phe	Amaro	1.0-1.5

Idrofobicità

Eccesso di energia libera di un soluto in acqua rispetto a quella in un solvente organico (EtOH)

ΔG_t = energia libera di trasferimento di un AA da EtOH ad H₂O

Ammino acido	ΔG_t (etanolo \rightarrow acqua) (kJ/mol)	Ammino acido	ΔG_t (etanolo \rightarrow acqua) (kJ/mol)
Alanina	2.09	Leucina	9.61
Arginina	-	Lisina	-
Asparagina	0	Metionina	5.43
Acido aspartico	2.09	Fenilalanina	10.45
Cisteina	4.18	Prolina	10.87
Glutammina	-0.42	Serina	-1.25
Acido glutammico	2.09	Treonina	1.67
Glicina	0	Triptofano	14.21
Istidina	2.09	Tirosina	9.61
Isoleucina	12.54	Valina	6.27

$$\Delta G_t (\text{EtOH} \rightarrow \text{W}) = -RT \ln (S_{\text{Et}}/S_{\text{W}})$$

$$\Delta G_{t, \text{catena laterale}} = \Delta G_{t, \text{Val}} - \Delta G_{t, \text{Gly}}$$

Sapore amaro di dipeptidi A-B:
dipendenza del valore di soglia (mmol/l) dall'idrofobicità della catena laterale^a

A	B	Asp	Glu	Asn	Gln	Ser	Thr	Gly	Ala	Lys	Pro	Val	Leu	Ile	Phe	Tyr	Trp
		0	0	0	0	0	0	0	0	85	26	21	12	11	6	5	5
Gly	0	-	-	-	-	-	-	0	0	-	45	75	21	20	16	17	13
Ala	0	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	70	20	-	-	-	-
Pro	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-
Val	21	-	-	-	-	-	-	65	70	-	-	20	10	-	-	-	-
Leu	12	-	-	-	-	-	-	20	20	-	-	-	4.5	-	-	3.5	0.4
Ile	11	43	43	33	33	33	33	21	21	23	4	9	5.5	5.5	-	-	0.9
Phe	6	-	-	-	-	-	-	17	-	-	2	-	1.4	-	0.8	0.8	-
Tyr	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-
Trp	5	-	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^a0: sapore dolce o neutro

Peptidi: parametri per definire l'amaro

Fischer ratio = FR = Ammino acidi ramificati/Ammino acidi aromatici

Parametri di idrofobicità: partition ratio, π , ecc.

Q-index $Q = \Delta F/n$

ΔF = variazione di energia libera (cal/mol)

durante il processo:

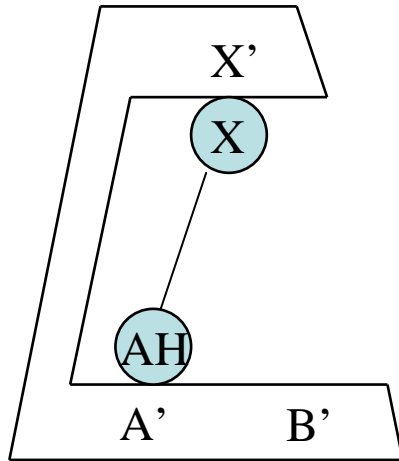
Stato nativo (folded) \longrightarrow Stato denaturato

n = numero di ammino acidi

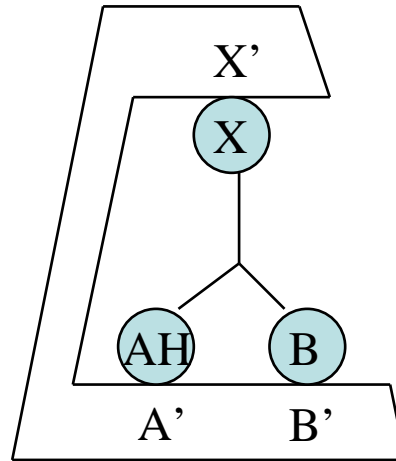
$Q > 1350-1400$ cal/mol: il peptide viene percepito amaro

Importante per prevedere il sapore di idrolizzati proteici (caseine danno idrolizzati amari).

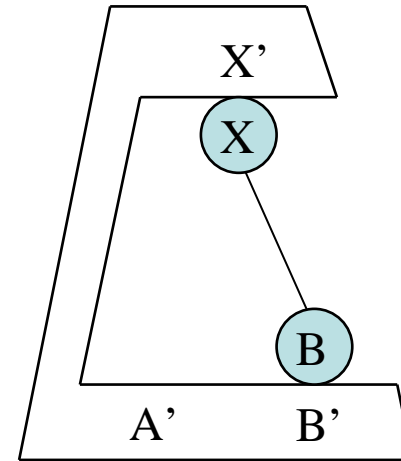
Modello unificato per i recettori del sapore dolce-amaro (Okai)



Amaro



Dolce



Inibitore

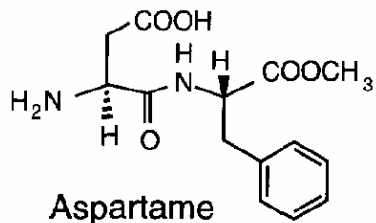
AH = elettrofilo

B = nucleofilo

X = idrofobico

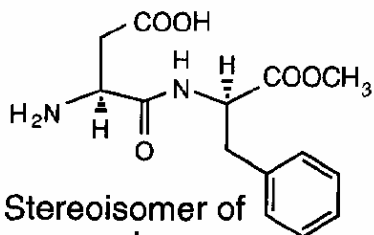
Relazioni strutturali tra molecole dolci e amare.

Sweet



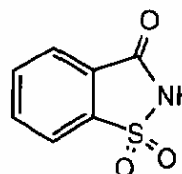
Aspartame

Bitter



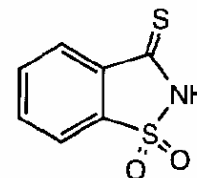
Stereoisomer of aspartame

Sweet; also bitter to many individuals

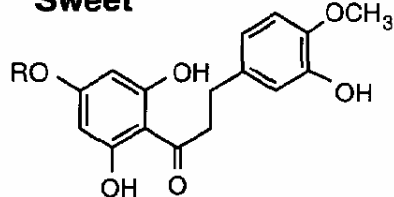


Saccharin

Bitter

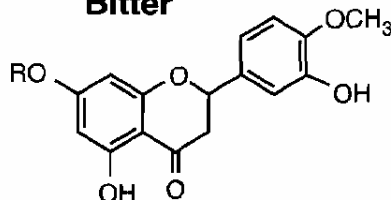


Sweet



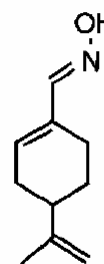
Neohesperidin dihydrochalcone (R = disaccharide)

Bitter



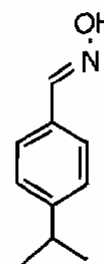
Neohesperidin (R = disaccharide)

Sweet

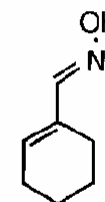


Perillartine

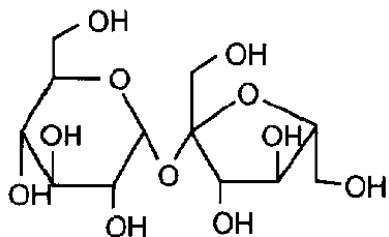
Bitter



Sweet + bitter

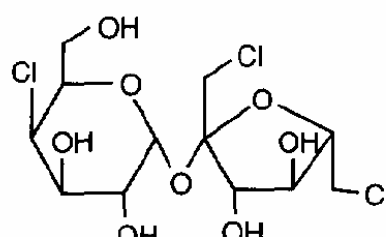


Sweet



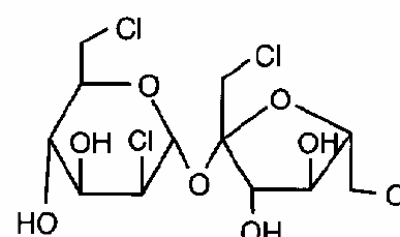
Sucrose

Sweet; 650 X sucrose



Sucralose

Bitter



Peptidi con un sapore salato
(più intenso a pH acido)

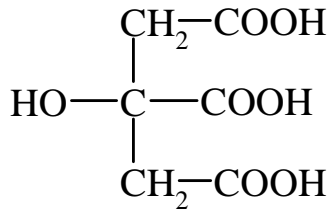
Peptide ^a	Sapore	
	Valore di soglia (mmol/l)	Intensità ^b
Orn-β-Ala·HCl	1.25	3
Orn-γ-Abu·HCl	1.40	3
Orn-Tau·HCl	3.68	4
Lys-Tau·HCl	5.18	4
NaCl	3.12	3

^aOrn, ornitina; β-Ala, β-alanina; γ-Abu, acido γ-amminobutirrico;
Tau, taurina.

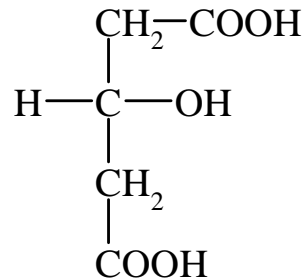
^bScala da 0 a 5; riferimento 6.4 mmol/l NaCl

Acidi organici nei succhi di frutta

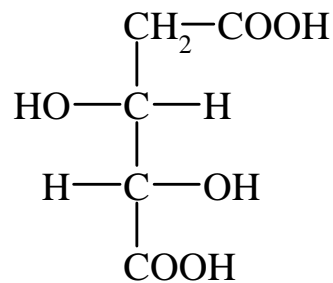
Frutto	Malico	Citrico	Tartarico
Arancia	13	51	-
Pompelmo	42	100	-
Limone	17	220	-
Uva	7	16	80



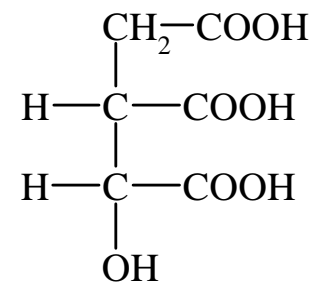
Acido citrico



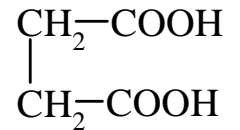
Acido malico



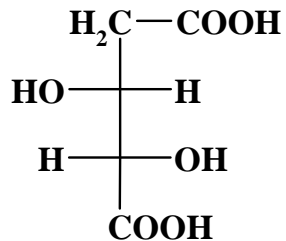
**Acido tartarico
(uva)**



**Acido isocitrico
(more)**



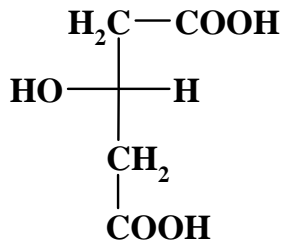
**Acido ossalico
(rabarbaro)**



acido tartarico

1.5 – 5 g/L

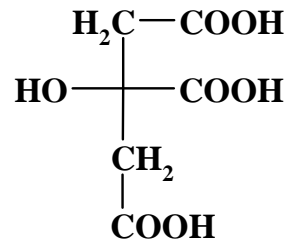
Acidità aspra



acido malico

0 – 4 g/L

Acidità verde



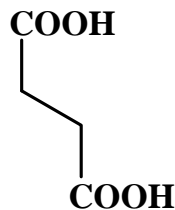
acido citrico

0 – 0.5 g/L

Acidità fresca

Acidi costituenti dell'uva

Acidi da processo fermentativo

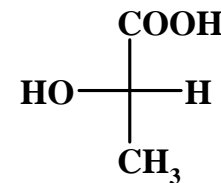


acido succinico

0.5 – 1.5 g/L



acido acetico



acido L(+)-lattico

Acidità “acre”, “acerba”

Equilibrio gustativo:

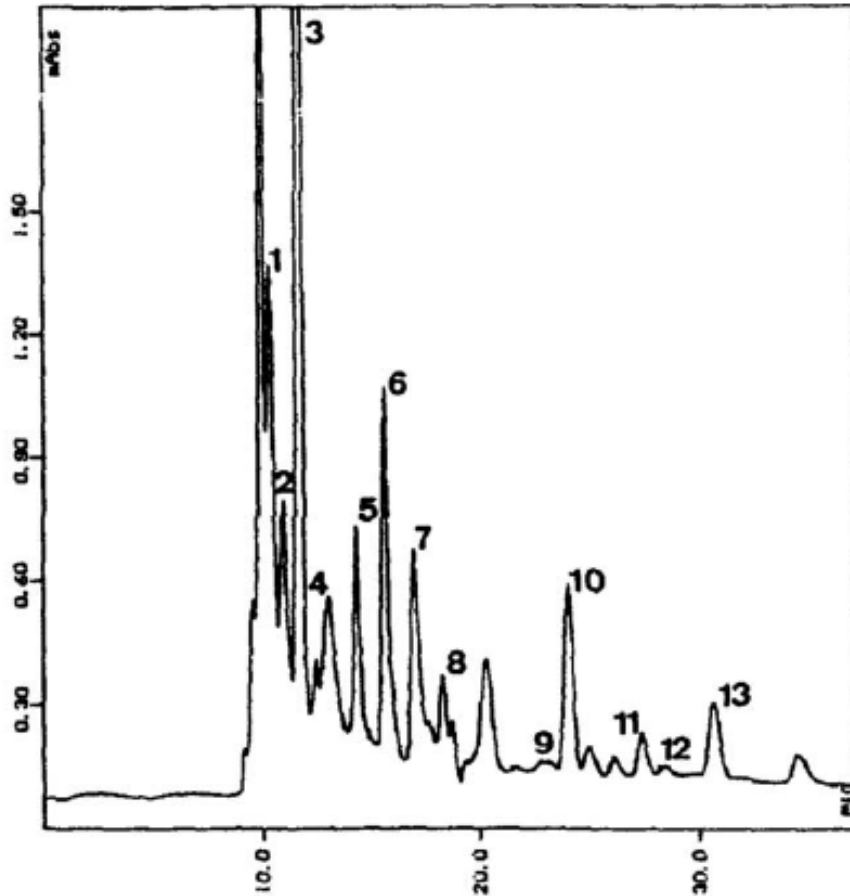
Sensazione dolce (zuccheri + alcoli) \longleftrightarrow

Sensazione acida (acidi organici e minerali)

+

Sensazione amara (composti fenolici)

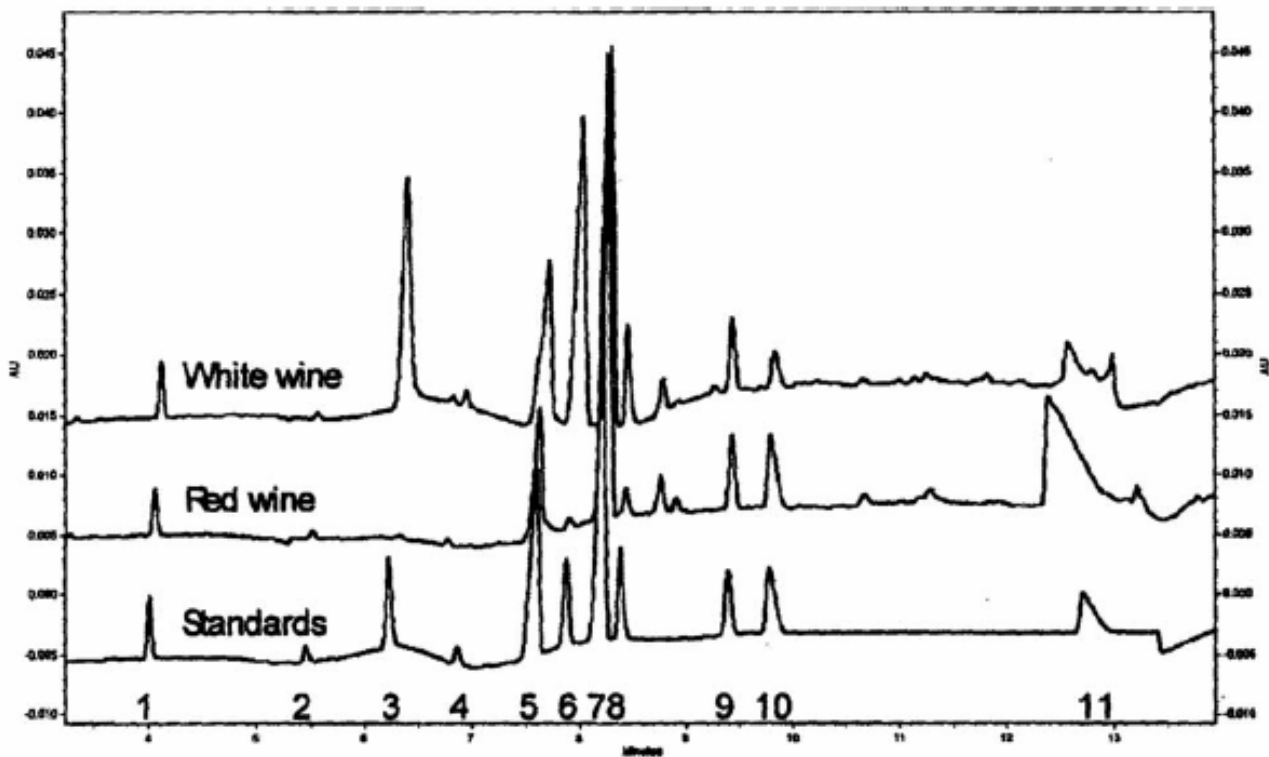
Analisi degli acidi organici dell'uva, nel mosto e nel vino



Cromatogramma di un vino rosso (Aglanico, 2000) diluito 1:900 con acqua e analizzato con colonna C18 (250x4.6 mm). Fase mobile: 0.02 M (NH₄)₂HPO₄ (pH 2.35) – CH₃OH 97:3 v/v

1) galatturonico, 2) gluconico, 3) tartarico, 4) unknown, 5) malico, 6) shikimico, 7) lattico, 8) acetico, 9) unknown, 10) citrico, 11) succinico, 12) citromalico, 13) fumarico

UV detection: 185 – 254 nm

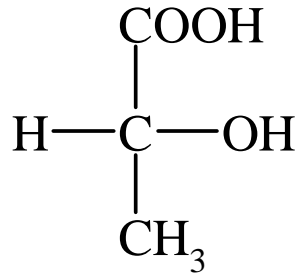


Elettroferogramma di un vino rosso e un vino bianco sovrapposti a standard:

1) nitrato; 2) ossalato, 3) solfito, 4) fumarato, 5) succinato, 6) tartrato, 7) malato, 8) citrato, 9) ftalato (IS), 10) acetato, 11) lattato

Capillare coated in poliacrilammide, tampone fosfato 200 mM a pH 7.5, - 14 kV, UV: 200 nm

Acidi lattico e acetico



Latti fermentati, yoghurt

Formaggi

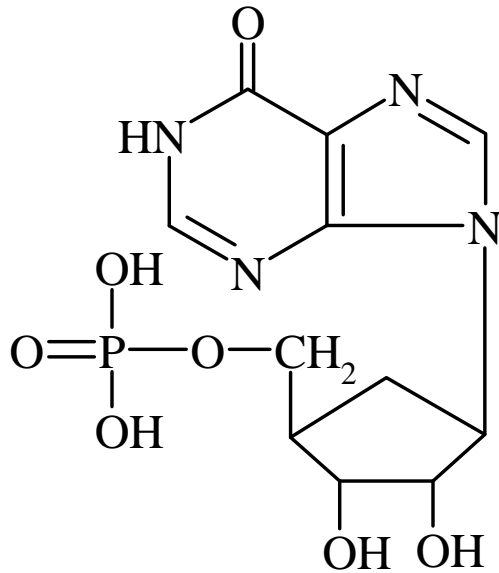
Lattato di sodio nelle patatine fritte

Acido lattico



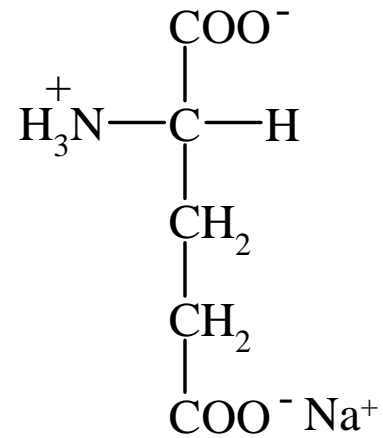
Aceto e prodotti derivati

Esaltatori di sapidità
(gusto umami o di carne)



5'-Inosina monofosfato

Prodotto di degradazione dell'AMP



Glutammato monosodico

Dado da brodo

Forte effetto sinergico

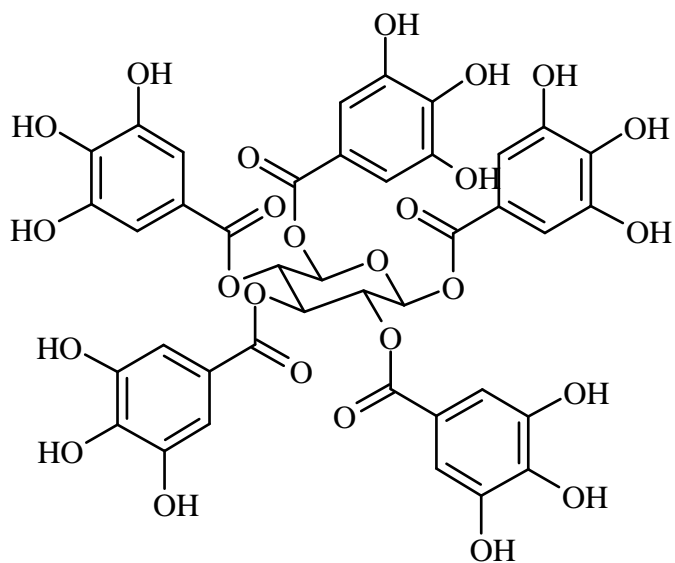
Contenuto (mg/100 g) di sostanze responsabili del gusto umami in diversi alimenti

Alimento	IMP	GMP	MSG
Fuco (alga)			2240
Parmigiano			1200
Sardine	193		280
Tonno	188		
Succo di pomodoro			260
Funghi Shiitake		30	67
Gamberi	92		43
Maiale	122	3	23
Merluzzo	44		9
Salmone			20
Latte umano			22
Latte vaccino			2
Come additivo			20-80

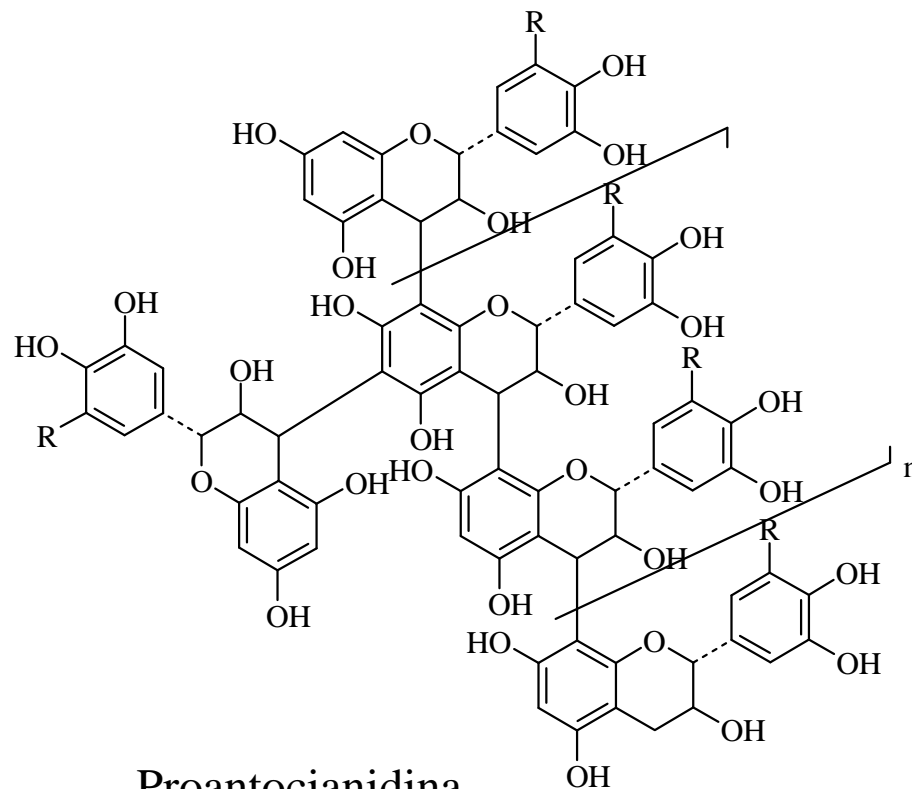
Astringenza

Dovuta all'interazione tannini-proteine.

Tipica di bevande quali tè, vino.

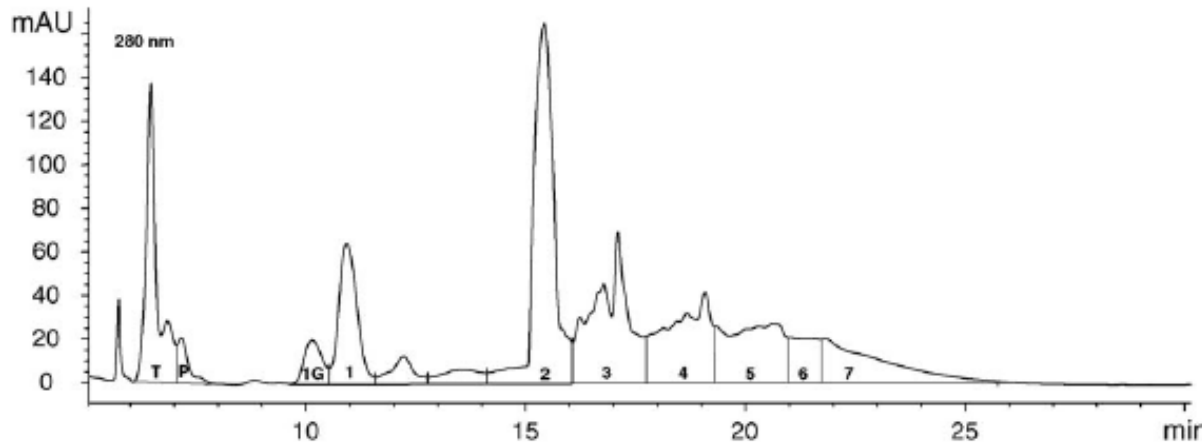


Tannino idrolizzabile



Proantocianidina

Analisi dei tannini

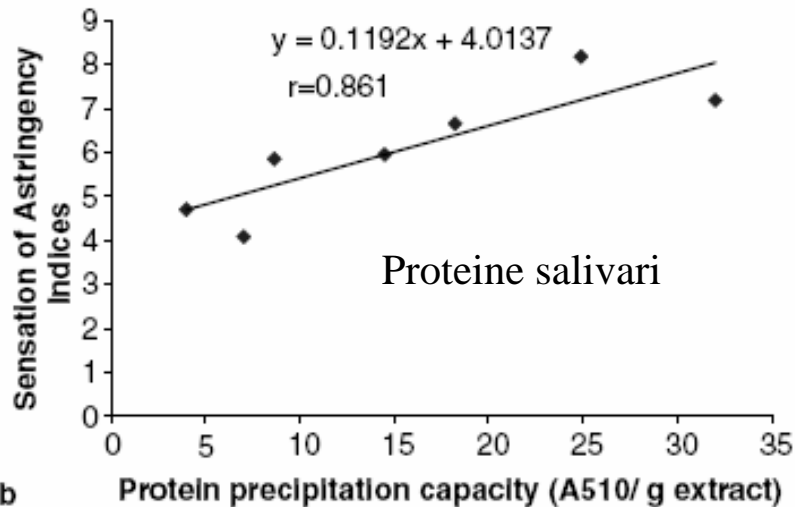
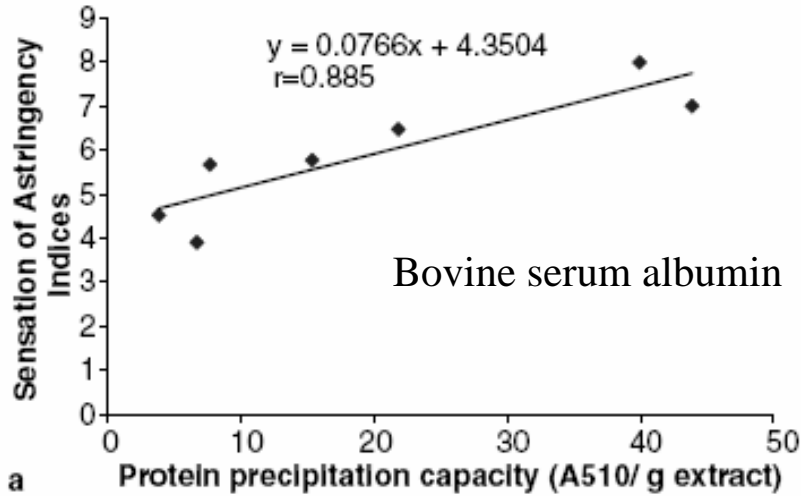


Analisi NP-HPLC a 280 nm di estratti di corteccia di pino. I composti si separano in base al grado di polimerizzazione: T) taxifolina; P) acido protocatecuico; IG) acido gallico; 1) catechina, epicatechina e gallocatechine; 2) dimeri; 3) trimeri; 4) tetrameri, 5) pentameri, 6) esameri, 7) eptameri

L'analisi dei tannini condensati va effettuata mediante cromatografia su fase diretta → elevato PM, elevata apolarità

E' possibile lavorare in fase inversa previa tiolisi

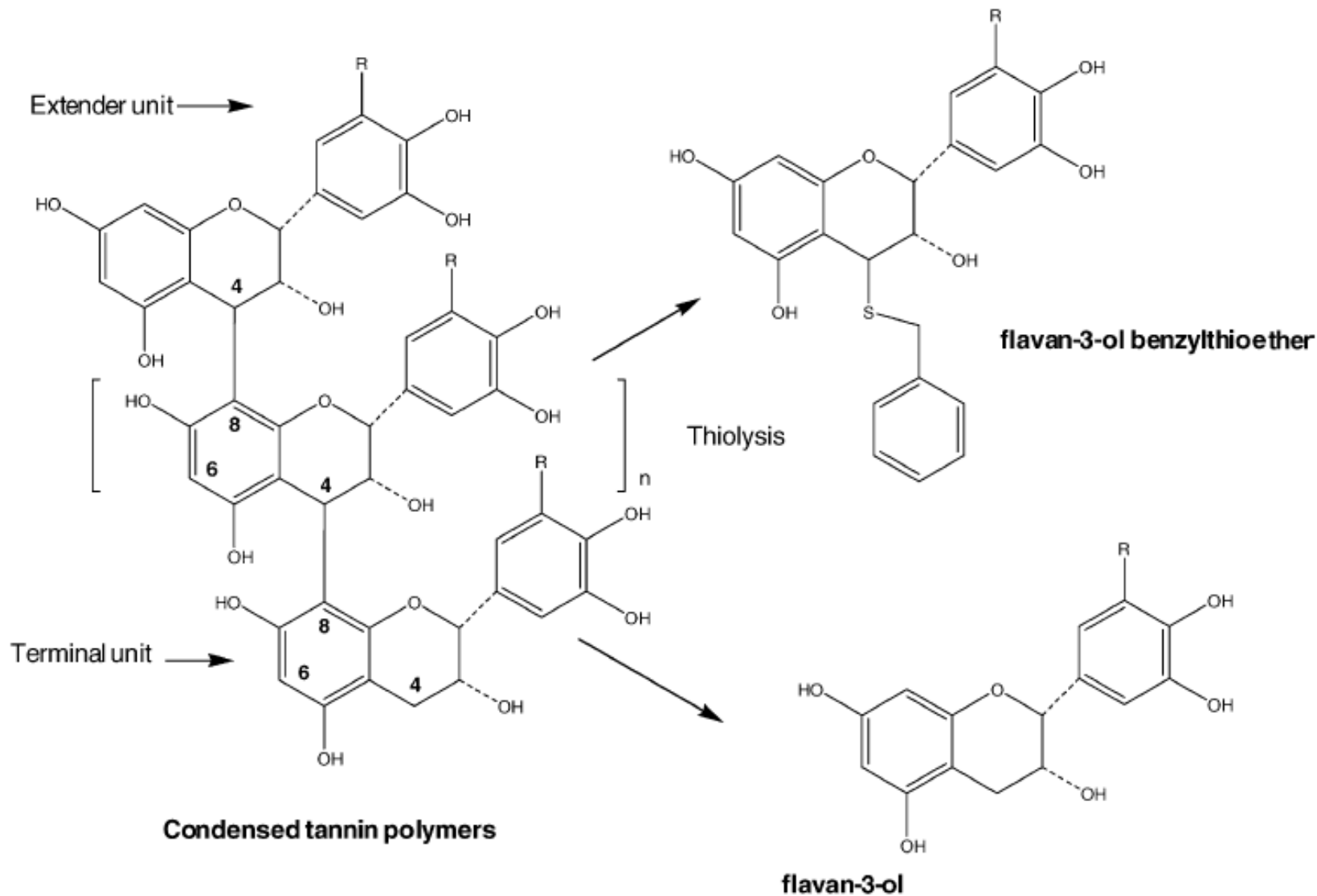
Correlazione fra astringenza e capacità di precipitazione proteica



Capacità di precipitazione proteica (A510/g estratto) e Sensory Astringency Index (SAI) per alcuni legumi

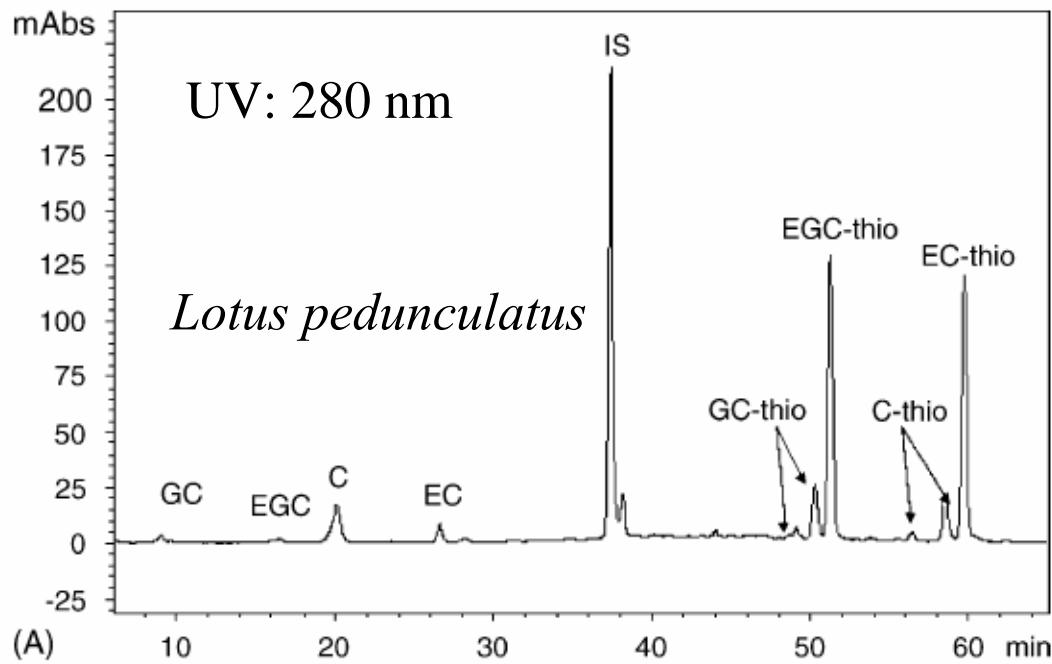
	HSP	SAI
Fagiolo rosso	24.6	7.9
Lenticchia rossa	17.9	6.4
Lenticchia verde	14.2	5.7
Fagiolo borlotto	3.7	4.4
Pisello	8.4	5.6

HSP: Human salivary proteins



Reazione di tiolisi dei polimeri tanninici: tutte le unità terminali vengono rilasciate come flavan-3-oli, mentre le unità intermedie sono rilasciate come flavan-3-oli benziltioesteri.

RP-HPLC dopo tiolisi: Estratto di fiore di Loto

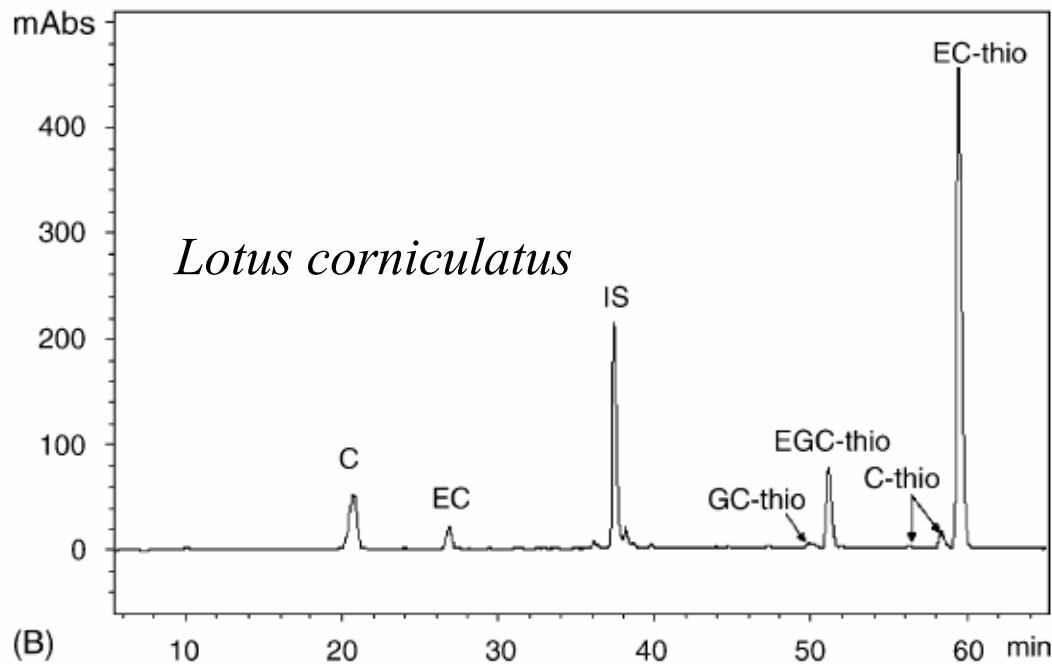


C: catechina

EC: epicatechina

GC: gallacatechina

EGC: epigallocatechina



• Estrazione in acetone

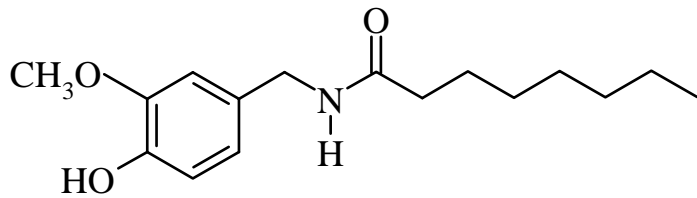
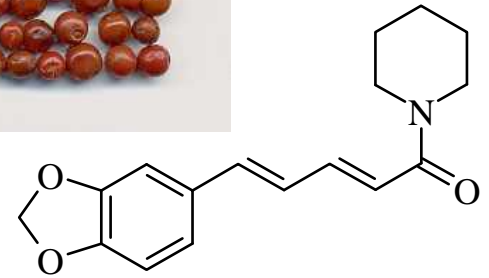
• Tiolisi

• Analisi

Piccante



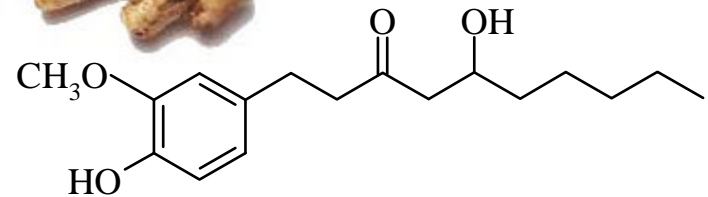
Piperina (Piper nigrum)



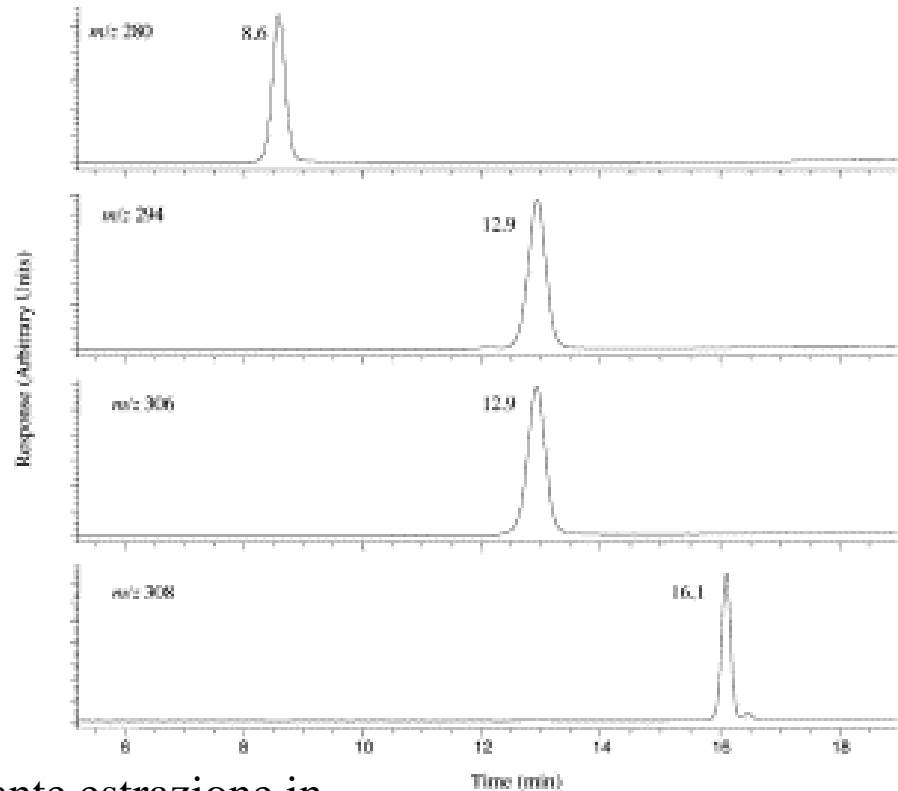
Capsaicina (Chili pepper, Capsicum sp.)



Gingerolo (Zingiber officinalis)



Capsaicina nel peperoncino



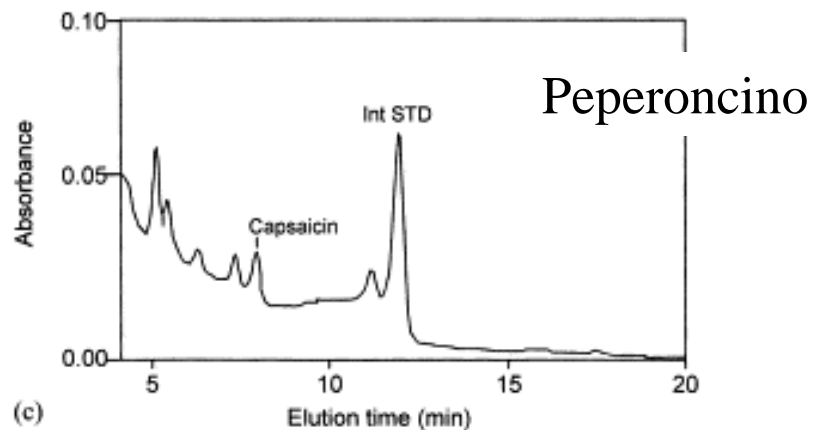
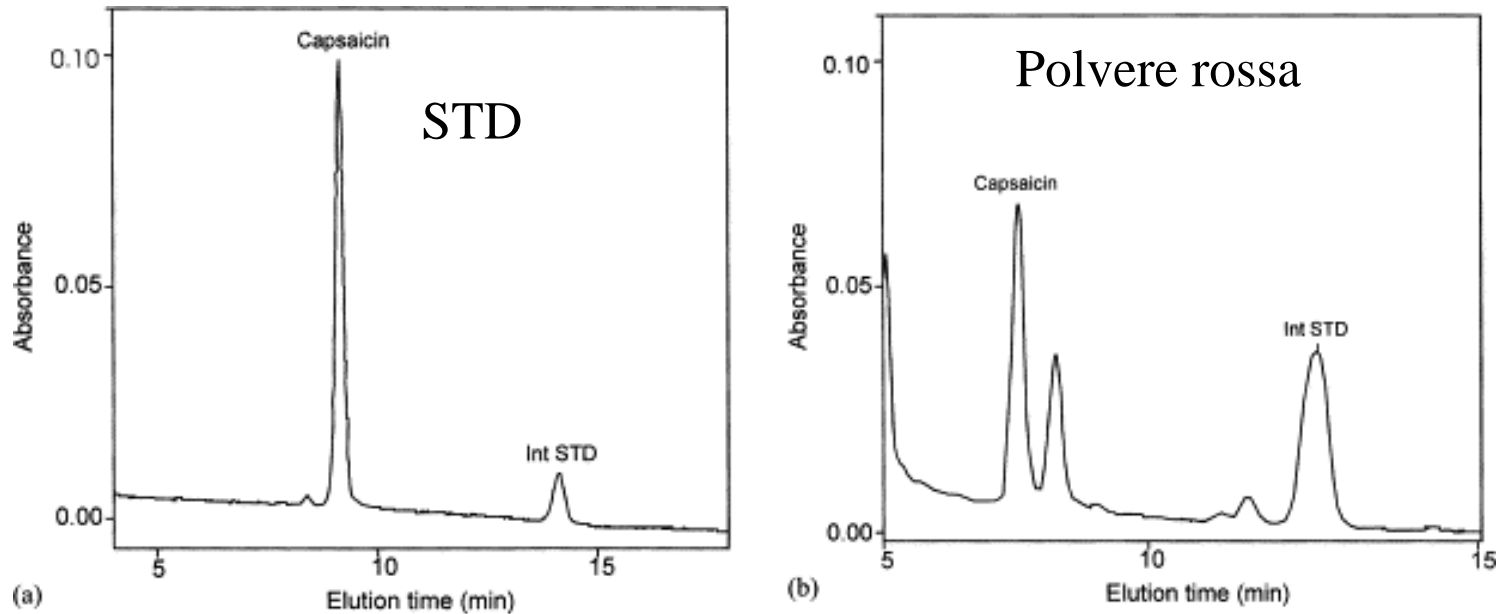
L'analisi della capsaicina avviene mediante estrazione in etile acetato e analisi HPLC-MS/MS. E' possibile quantificare contemporaneamente diverse componenti del peperoncino in SIM:

- octanoyl vanillamide (m/z 280),
- nonivamide (m/z 294),
- capsaicin (m/z 306),
- dihydrocapsaicin (m/z 308).

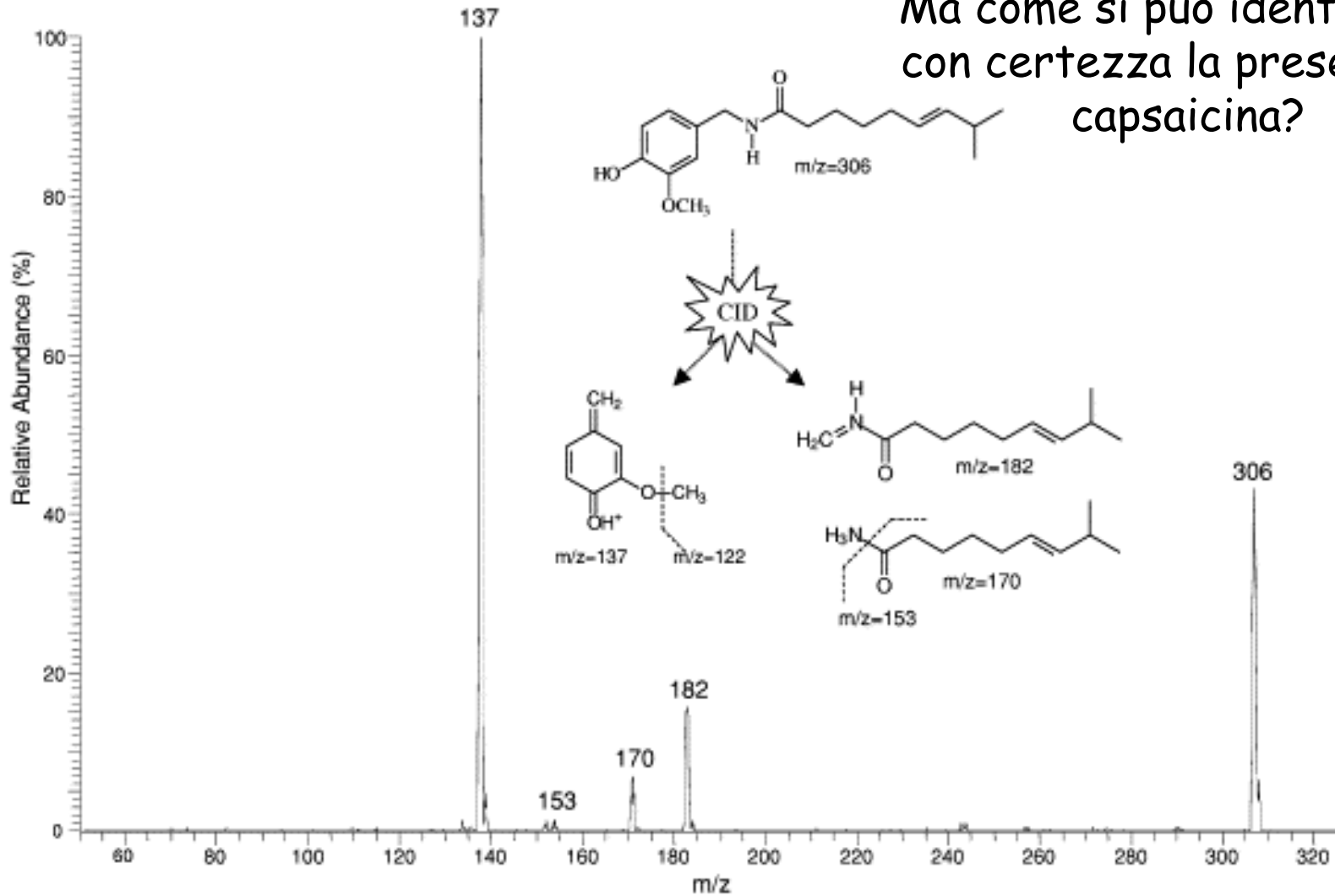


Un bambino di 8 mesi muore in seguito a somministrazione di un rimedio tradizionale sottoforma di infuso ottenuto da una polvere rossa.

L'analisi della polvere mediante HPLC permette di identificare la presenza di capsaicina nella polvere.



Ma come si può identificare con certezza la presenza di capsaicina?

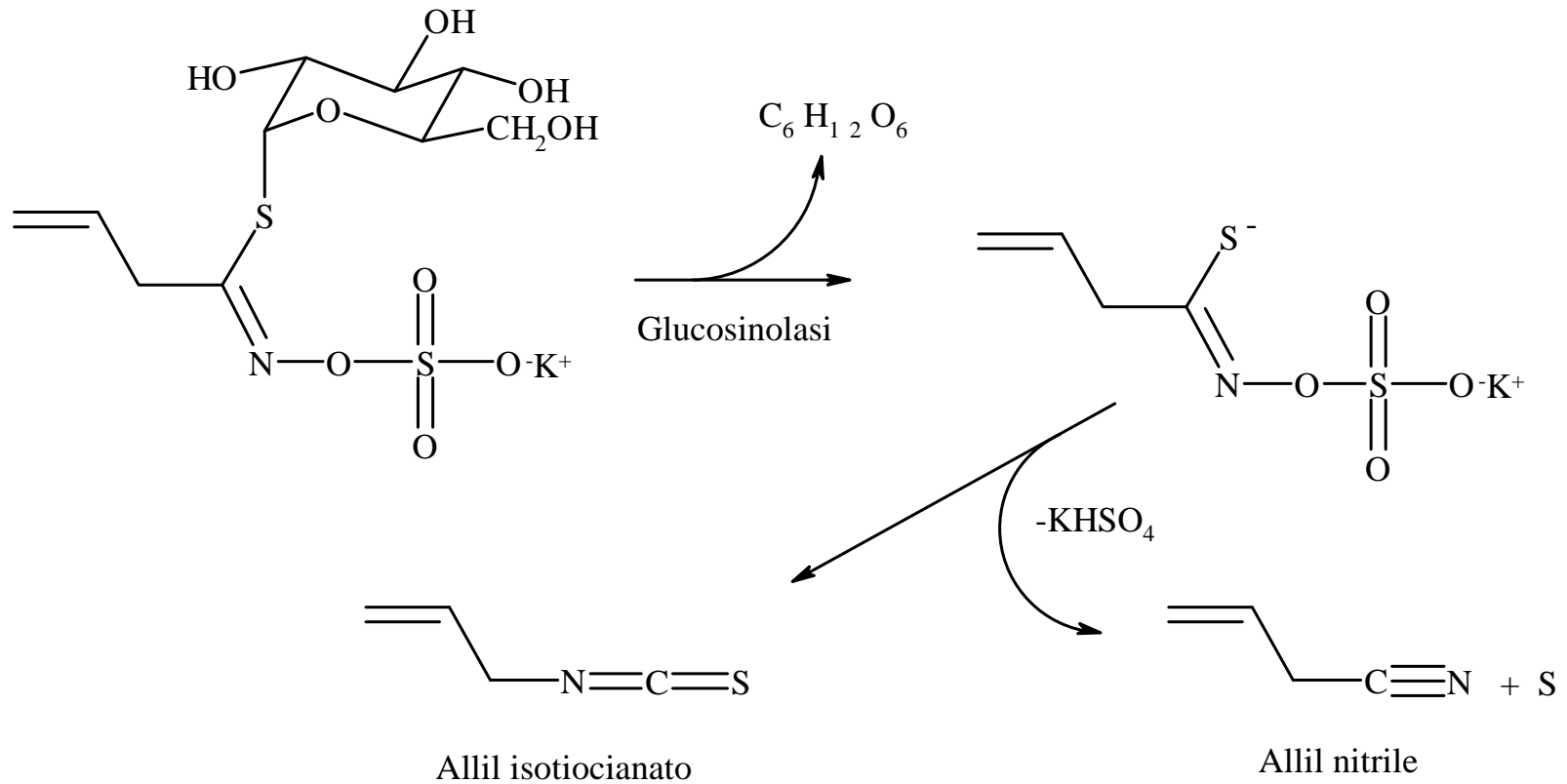


LC-MS/MS

Eluente: CH₃OH:H₂O 57:43 v/v + 0.1% HCOOH

Precursor Ion: m/z 306

Glucosinolati da vegetali del genere *Cruciferae* (cavolo, broccoli, rapa, rafano)



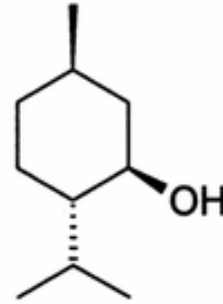
Sostanza responsabile del sapore
piccante della senape e della mostarda

Rinfrescante



Mentha piperita (peppermint)

Mentha spicata (spearmint)



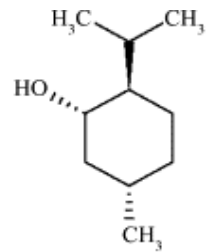
Mentolo



L'effetto è dovuto anche al calore di fusione assorbito dai cristalli quando si sciolgono in bocca.

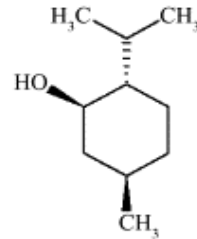
Esempio: chewing gum

Analisi del mentolo: terpeni mediante HPLC-FLD



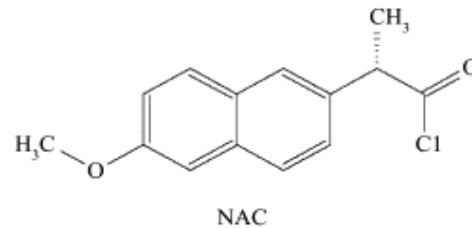
(1S,2R,5S)-
(+)-menthol

+

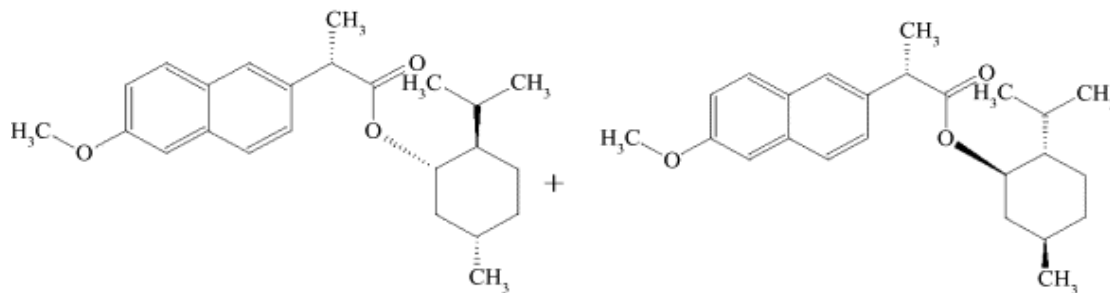


(1R,2S,5R)-
(-)-menthol

- Estrazione dalle foglie in toluene
- Derivatizzazione
- Analisi



NAC



diastereomeric derivatives

L'analisi permette di ottenere
2 diastereoisomeri
perfettamente separabili su
una colonna a fase inversa

Colonna: C18

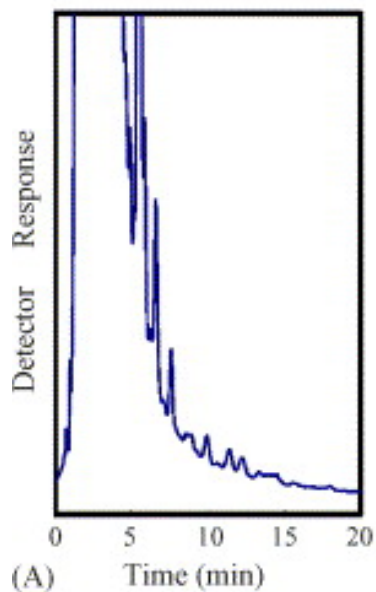
Fase mobile: metanolo:acqua:THF 80:18:2

Fluorescenza: λ_{ex} : 235 nm, λ_{em} : 350 nm.

1) (+)-mentolo

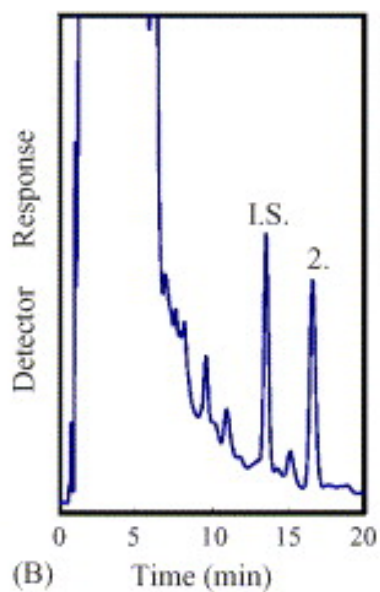
2) (-)-mentolo

Mentha spicata

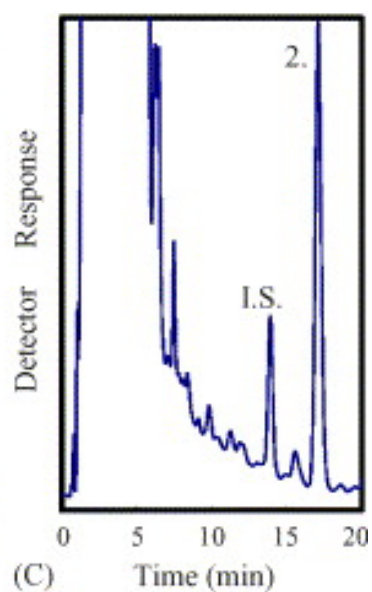


(A)

Mentha extrapiperita



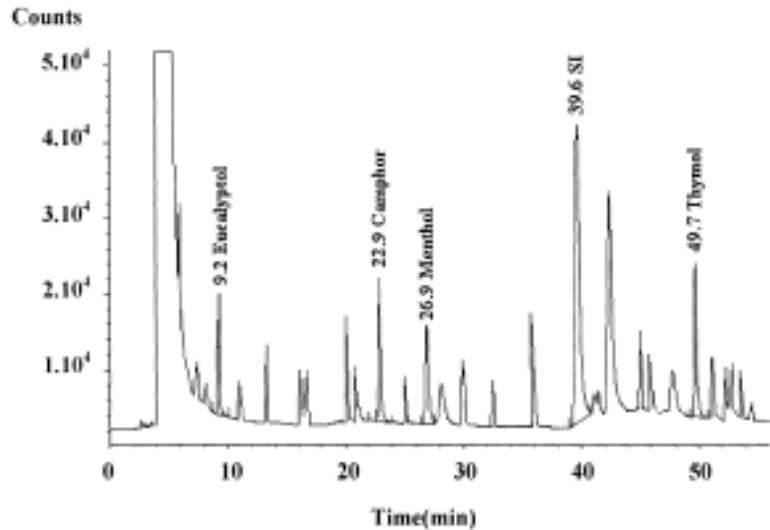
(B)



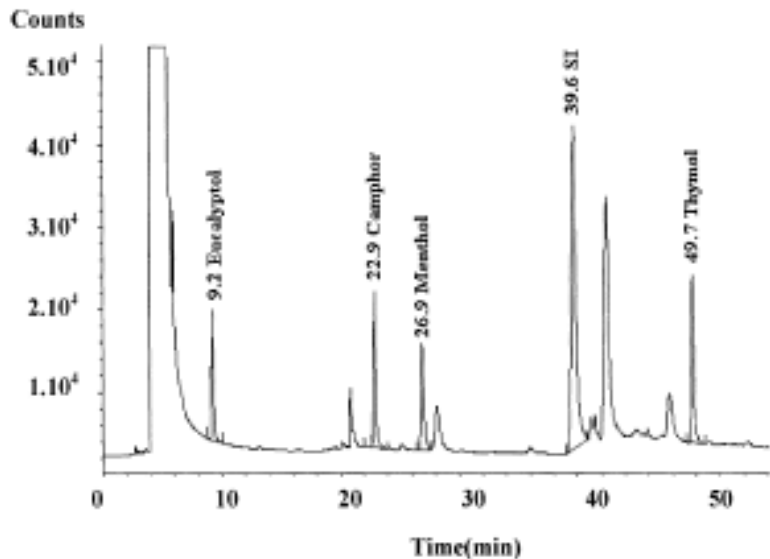
(C)

Mentha piperita

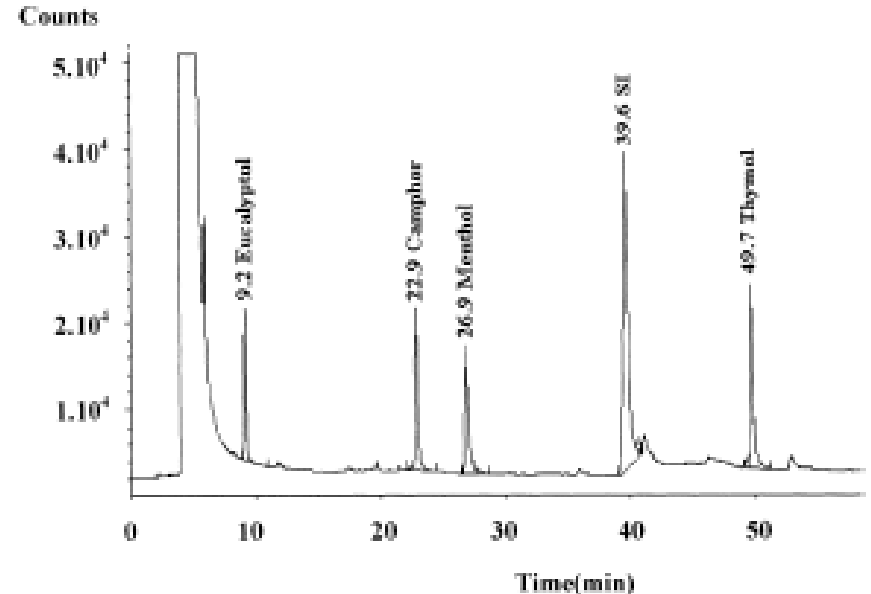
Analisi del mentolo: terpeni mediante GC/MS



(a)



(b)



(c)

Miele multifiore:

- a) Estrazione con solvente
- b) Estrazione su SPE
- c) Distillazione



Non è possibile separare gli enantiomeri se non si usa una colonna chirale