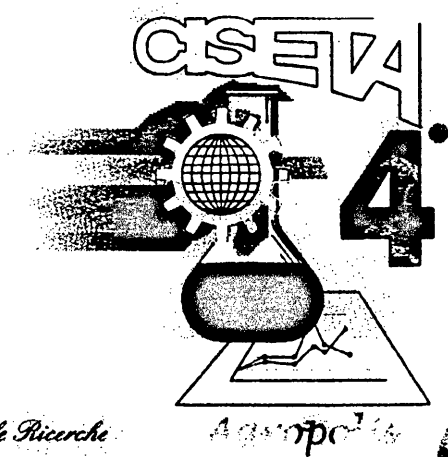


Ricerche e innovazioni nell'industria alimentare

volume IV



Consiglio Nazionale delle Ricerche

Agropolis

Fructamine

a cura di
Sebastiano Porretta

CHIRIOTTI EDITORI

EFFETTO DI DIVERSI INTERVENTI TECNOLOGICI SULLE PROPRIETÀ ANTIOSSIDANTI DI DERIVATI AGRUMARI

INTRODUZIONE

Le proprietà antiossidanti dei vegetali freschi costituiscono da diverso tempo un campo di indagine di grande interesse non solo per le implicazioni che queste proprietà possono avere sulla stabilità e sulla shelf-life degli alimenti, ma anche per gli effetti protettivi sulla salute umana. Recenti studi epidemiologici concordano nell'individuare in una dieta ricca di frutta ed ortaggi il mezzo di prevenzione più importante a nostra disposizione contro l'insorgenza di molte malattie degenerative gravi (Gey, 1990; Block, 1992; Ames *et al.*, 1993; AAVV, 1997).

L'azione protettiva è comunemente attribuita all'elevato contenuto di antiossidanti naturali e di loro precursori, la cui presenza contestuale nella matrice vegetale, sembra esercitare un effetto sinergico (Cao *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 1997; Southon, 1998).

Nonostante il crescente interesse nei confronti di questi componenti bioattivi, sono ancora limitate le conoscenze sul destino di queste molecole in seguito alle diverse pratiche di lavorazione cui i vegetali sono sottoposti. Quest'aspetto è di rilevante interesse se si considera che gran parte dei vegetali, prima del consumo, subisce, a diversi livelli e con intensità variabile, un qualche intervento di trasformazione e/o conservazione.

Recenti evidenze sperimentali sembrano indicare come gli effetti delle diverse operazioni di trasformazione e conservazione siano spesso difficilmente prevedibili e possano avere conseguenze non sempre negative sulla capacità antiossidante complessiva dell'alimento (Manzocco *et al.*, 1998; Southon, 1998; West and Castenmiller, 1998).

I cambiamenti delle proprietà antiossidanti possono dipendere, oltre che da stress ossidativi, anche dalle caratteristiche compositive e chimico-fisiche (a_w , viscosità, ecc.) del vegetale stesso o del formulato di cui esso è entrato a far parte (Nicoli *et al.*, 1997a, 1999). Inoltre, sono ben noti gli effetti dei trattamenti termici che, oltre a causare una più rapida degradazione degli antiossidanti più termolabili, possono portare alla formazione di prodotti della reazione di Maillard con attività pro-ossidante o antiossidante secondo l'intensità del trattamento applicato (Anese *et al.*, 1999). Ne

conseguenze che la capacità antiossidante dell'alimento al momento del consumo non è altro che la risultante di più fenomeni indipendenti od interattivi, spesso caratterizzati da andamenti di segno opposto.

Sulla base di queste considerazioni, l'obiettivo di questo lavoro è stato quello di studiare l'influenza di alcuni interventi tecnologici ad intensità crescente sulla capacità antiossidante della frazione idrosolubile di alcuni derivati di frutta, scelti per il loro elevato contenuto in antiossidanti naturali e per il loro ampio consumo. In particolare sono stati presi in considerazione derivati agrumari quali succhi freschi e succhi pastorizzati e prodotti "ready to use" attualmente non reperibili sul mercato nazionale quali preparati in spicchi.

MATERIALI E METODI

Preparazione campioni

La sperimentazione è stata condotta utilizzando due diverse varietà di agrumi. Per il prodotto confezionato in spicchi sono stati utilizzati frutti di Tangelo "Minneola" (*Citrus paradisi* cv "Duncan" x *Citrus reticulata* cv "Dancy") mentre per la produzione di succhi sono stati utilizzati frutti di "Salustiana" (*Citrus sinensis* L.).

Agrumi in spicchi

Frutti freschi di Tangelo "Minneola" sono stati raccolti all'inizio di marzo e subito trasportati in laboratorio, dove, dopo essere stati lavati con una soluzione di 200 ppm di ipoclorito e asciugati con carta, sono stati sbucciati manualmente e divisi in segmenti. Questi ultimi sono stati posti all'interno di vaschette di plastica (11,5x16,6x7,3 cm) del volume di 500 mL, in quantità di 300 g per contenitore. Le vaschette sono state confezionate con una macchina confezionatrice ORVED 98P-2596 utilizzando un film poliolefinico, tipo MD con spessore 15 µm, a media permeabilità ai gas e bassa al vapore acqueo (Grace Italiana, Milano). I campioni sono stati successivamente condizionati a 4°C fino ad un massimo di 12 giorni. All'inizio della sperimentazione e dopo 6 e 12 giorni di conservazione sono stati prelevati alcuni campioni (almeno 6 vaschette per ciascun prelievo) su cui sono state effettuate le analisi.

Succhi

Frutti freschi di arancio "Salustiana", raccolti alla fine di aprile, sono stati lavati con una soluzione di 200 ppm di ipoclorito di sodio, asciugati, tagliati secondo l'asse trasversale e spremuti utilizzando uno spremiagrumi casalingo. Volumi pari a 45 mL di succo sono stati trasferiti in provette di materiale plastico da 50 mL munite di tappo a vite. Una parte dei campioni è stata trasferita in una cella frigorifera e conservata a 4°C per tutta la durata della sperimentazione. Un altro lotto di campioni è stato invece sottoposto ad un trattamento di pastorizzazione in acqua a 90°C per 9 min. I tempi di pastorizzazione si riferiscono al tempo di permanenza del campione

alla temperatura di esercizio. Il tempo richiesto per portare i campioni alla temperatura costante di 90°C è stato pari a 11 min. Al termine del trattamento termico i campioni sono stati immediatamente raffreddati in un bagno di ghiaccio ed in seguito conservati a 20°C.

Per tutta la durata della sperimentazione i campioni di tangelo in spicchi e i succhi freschi hanno presentato uno sviluppo microbico molto basso.

Determinazioni analitiche

Solidi totali: per via gravimetrica (AOAC, 1990).

pH: per via potenziometrica utilizzando un pH-metro mod. Orion 710A.

Polifenoli totali: seguendo il metodo Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965). Il contenuto totale di polifenoli è stato espresso in mg di acido gallico per g di sostanza secca.

Acido ascorbico: utilizzando il metodo volumetrico del 2-6 diclorofenolo-indofenolo (AOAC, 1990).

Attività antiossidante: la capacità antiossidante della frazione idrosolubile dei derivati agrumari è stata determinata seguendo la metodologia proposta da Brand-Williams (1995), modificata da Manzocco *et al.* (1998). Essa prevede la misura per via spettrofotometrica della velocità di decolorazione di un radicale stabile 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH₉) per effetto della presenza di sostanze ad attività antiossidante.

Potenziale redox: è stato misurato utilizzando un elettrodo di platino e come riferimento un elettrodo Ag/AgCl, come riportato da Nicoli *et al.* (1997b).

RISULTATI

Le caratteristiche compositive dei frutti in spicchi e dei succhi, misurate all'inizio della sperimentazione, sono riportati in tab. 1.

La fig. 1 riporta la variazione del contenuto di acido ascorbico, relativa ai campioni di agrumi in spicchi e dei succhi freschi in funzione del tempo di conservazione. È interessante osservare come, in entrambi i casi, la degradazione ossidativa dell'acido ascorbico appare di modesta entità anche dopo tempi di conservazione prolungati. La perdita di acido ascorbico è risultata, infatti, non superare il 23% nel caso

Tabella 1 - Principali parametri chimici e chimico-fisici relativi ai campioni in esame all'inizio della sperimentazione.

Campioni	Solidi Totali (% p/p)	pH	Polifenoli Totali (mg _{acido gallico} /g _{secca})	Acido ascorbico (mg/g _{secca})
Preparati in spicchi	10,5±1,08*	3,13±0,06	5,1±0,46	1,9±0,08
Succhi	10,3±0,69	3,82±0,007	8,2±0,30	5,0±0,06
* Deviazione standard.				

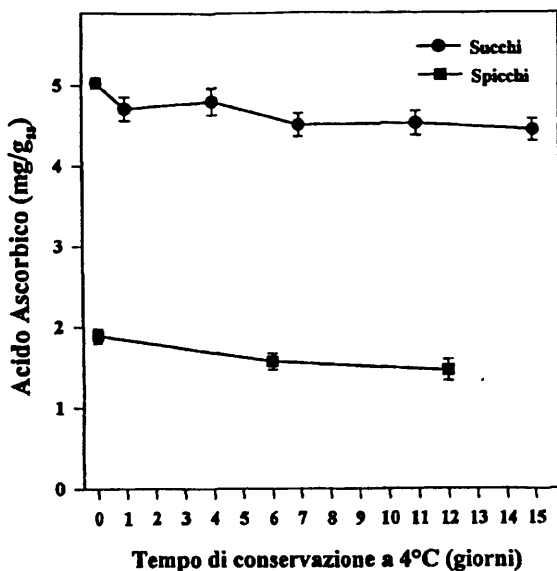


Fig. 1 - Variazioni della concentrazione in acido ascorbico di succhi freschi d'arancia e di preparati di arancia in spicchi confezionati in film plastico durante la conservazione a 4°C.

dei frutti in spicchi ed il 12% per i succhi freschi. Vi è tuttavia da rilevare, come, nonostante una maggiore compartimentazione di enzimi e substrati, oltre che una minore superficie di scambio con l'ossigeno atmosferico, i campioni in spicchi presentano una maggiore degradazione ossidativa dell'acido ascorbico rispetto ai campioni di succo fresco. È probabile che in quest'ultimo caso, la minore disponibilità di ossigeno nello spazio di testa del contenitore e la mancanza di scambi gassosi con l'esterno possano avere limitato l'ossidazione dell'acido ascorbico.

Alcuni autori (Miller and Rice Evans, 1997) hanno recentemente osservato come i polifenoli presenti nel succo di agrumi (principalmente esperidina e narirutina) esercitino un marcato effetto protettivo nei confronti dell'acido ascorbico. In altre parole, in presenza di stress ossidativi è la frazione polifenolica ad ossidarsi per prima, proteggendo, entro certi limiti, l'acido ascorbico. Pertanto, le modeste riduzioni del contenuto di acido ascorbico misurate nel corso della conservazione dei frutti in spicchi e dei succhi freschi potrebbero essere attribuite all'azione antiossidante dei polifenoli sull'acido ascorbico.

Nella fig. 2A sono riportate le variazioni della capacità antiossidante, espressa come attività antiradicalica, dei campioni di frutti in spicchi e di succo freschi in funzione del tempo di conservazione. È interessante osservare come l'evoluzione dell'attività antiossidante dei campioni durante la conservazione sia risultata molto

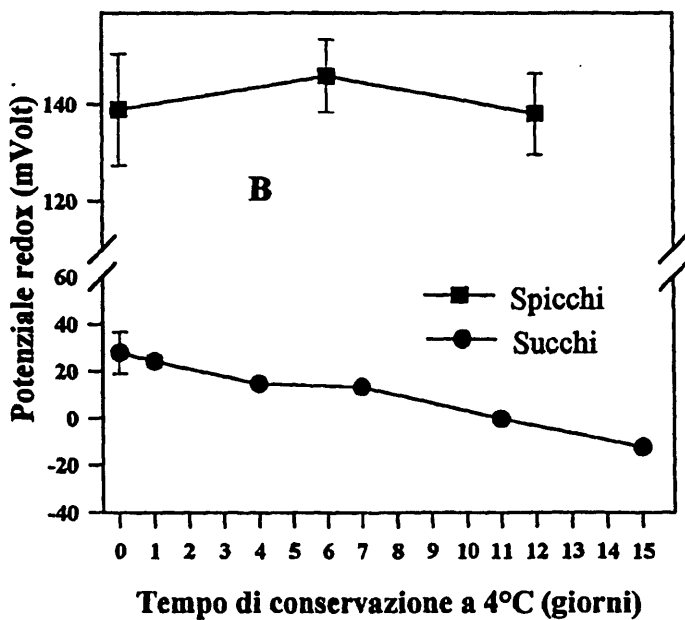
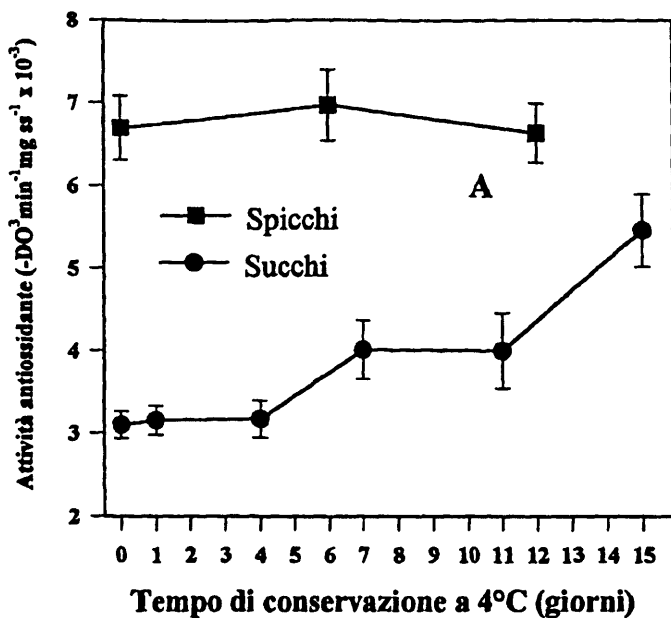


Fig. 2 - Variazioni della capacità antiossidante totale (A) e del potenziale redox (B) di succhi freschi d'arancia e di preparati in spicchi in funzione del tempo di conservazione a 4°C.

diversa, se non addirittura con un andamento opposto, a quella osservata per l'acido ascorbico. Infatti, mentre l'attività antiossidante dei frutti in spicchi non sembra cambiare in modo significativo nell'arco di tutta la durata della sperimentazione, quella dei succhi freschi è risultata aumentare di quasi il 70% rispetto al valore iniziale. Tali andamenti sono confermati dall'evoluzione del potenziale redox (fig. 2B). Infatti, mentre nel caso dei frutti in spicchi non sono state osservate variazioni statisticamente significative, il potenziale redox dei succhi freschi è risultato diminuire nel tempo, ad indicare un aumento delle proprietà riducenti del prodotto.

Questi risultati suggeriscono che l'evoluzione dell'attività antiossidante della frazione idrosolubile dei derivati agrumari in esame sia scarsamente condizionata dal destino dell'acido ascorbico. Benché questo composto contribuisca per oltre l'80% alla capacità antiossidante complessiva del succo di agrumi (Miller and Rice Evans, 1997), è probabile che la frazione polifenolica, pur presente in concentrazioni più modeste, possa avere un ruolo non trascurabile.

L'evoluzione dell'attività antiossidante dei polifenoli in funzione del loro stato di ossidazione è attualmente oggetto di numerose ricerche. Recenti evidenze sperimentali sembrano indicare che alcuni componenti polifenolici, in stati di ossidazione intermedi, siano degli antiossidanti molto più efficienti, rispetto alle loro forme non ossidate (Cheigh *et al.*, 1995; Saint-Cricq de Gaulejac *et al.*, 1999; Manzocco *et al.*, 1999; Nicoli 1999). Tali effetti sono generalmente attribuiti all'aumentata capacità di queste molecole di delocalizzare la carica e/o di agire come donatori di atomi di idrogeno (Kikugawa *et al.*, 1990; Cheigh *et al.*, 1995). Questo comportamento è tuttavia transitorio poiché, in stadi di ossidazione più avanzati, le molecole perdono gradualmente queste proprietà con conseguente drastica riduzione dell'efficienza antiossidante.

Sulla base di queste considerazioni, l'evoluzione dell'attività antiossidante dei campioni in esame potrebbe essere messa in relazione al diverso comportamento dell'acido ascorbico e della frazione polifenolica in seguito a stress ossidativi. In pratica, l'aumento della capacità antiossidante della frazione polifenolica potrebbe costituire l'evento prevalente (nel caso dei succhi) o semplicemente compensare gli effetti negativi derivanti dalla degradazione dell'acido ascorbico (il caso dei frutti in spicchi). Il contenuto notevolmente superiore di polifenoli dei succhi, rispetto ai preparati in spicchi (tab. 1), sembra confermare tale considerazione.

Nella fig. 3 sono riportate le variazioni del contenuto di acido ascorbico e di attività antiossidante di campioni di succhi pastorizzati in funzione del tempo di conservazione.

Analogamente a quanto osservato per i succhi freschi, anche in questo caso l'evoluzione dell'attività antiossidante sembra scarsamente correlata al comportamento dell'acido ascorbico. Infatti, a fronte di una perdita di acido ascorbico che supera il 90%, si osserva una limitata flessione dell'attività antiossidante anche dopo 4 mesi di conservazione.

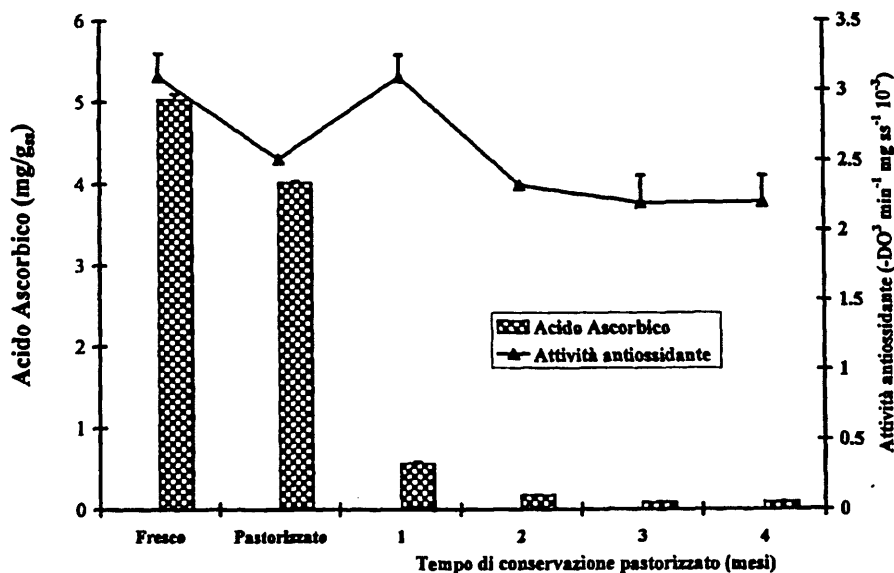


Fig. 3 - Concentrazione di acido ascorbico e attività antiossidante di succhi d'arancia pastorizzati in funzione del tempo di conservazione a 20°C.

CONCLUSIONI

In conclusione, i risultati ottenuti sembrano indicare che l'attività antiossidante della frazione idrosolubile degli agrumi sia scarsamente condizionata dall'evoluzione dell'acido ascorbico. È molto probabile che altri antiossidanti secondari, in particolare i polifenoli, possano condizionare l'evoluzione dell'attività antiossidante di questi prodotti in virtù del loro peculiare comportamento in seguito a stress ossidativi. Infatti i risultati ottenuti mostrano come i diversi interventi tecnologici applicati abbiano causato solo modeste variazioni, non sempre negative, dell'attività antiossidante originaria del prodotto. L'ipotesi più probabile è che l'ossidazione della frazione polifenolica, che comporta, almeno nelle fasi iniziali, un aumento dell'efficienza antiossidante di queste molecole, possa "compensare" o "minimizzare" la riduzione di attività antiossidante derivante dalla degradazione dell'acido ascorbico.

BIBLIOGRAFIA

- Autori Vari. "Food Nutrition and the Prevention of Cancer: a Global Perspective". In "World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research", 1997.
- Ames B.M., Shigena M.K., Hagen T.M. "Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 90, 7915-7922, 1993.

- Anese M., Manzocco L., Nicoli M.C., Lericì C.R. "Antioxidant properties of tomato juice as affected by processing". *J. Sci. Food. Agric.*, 79, 750-754, 1999.
- AOAC, Official Methods of Analysis. Horwitz E. (Ed.), Association of Official Analytical Chemists International, 1990.
- Block G. "The data support a role for antioxidants in reducing cancer risk". *Nutr. Rev.*, 50, 207-213, 1992.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity". *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 28, 25-30, 1995.
- Cao G., Sofic E., Prior L.R. "Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships". *Free Radicals Biol. Med.*, 22, 749-760, 1997.
- Cheigh H.S., Um S.H., Lee C.Y. "Antioxidant characteristics of melanin-related products from enzymatic browning reaction of catechin in a model system". *ACS Symposium Series 600, Amer. Chem. Soc.*, 200-208, 1995.
- Gey K.F. "The antioxidant hypothesis of cardiovascular disease: epidemiology and mechanisms". *Biochem. Soc. Trans.*, 18, 1041-1045, 1990.
- Kikugava K., Kunugi A., Kurechi T. "Chemistry and implications of degradation of phenolic antioxidants". In "Food antioxidants". Hudson B.J.F. (Ed.), Elsevier Applied Science, London and New York, 65-98, 1990.
- Manzocco L., Anese M., Nicoli M.C. "Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing". *Lebensm.-Wiss.u-Technol.*, 31, 694-698, 1998.
- Manzocco L., Calligaris S., Mastrocola D., Nicoli M.C. "Antioxidant activity of polyphenols containing foods as affected by processing and storage conditions". *Proc. Of Intern. Symp. On Food and Cancer Prevention, III, Norwich (UK)*, 5-7th 1999, in stampa.
- Miller N.J., Rice-Evans C.A. "The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink". *Food Chem.*, 60, 331-337, 1997.
- Nicoli M.C., Anese M., Parpinel M., Franceschi S., Lericì C.R. "Study on loss and/or formation of antioxidants during processing and storage". *Cancer Letters*, 114, 71-74, 1997a.
- Nicoli M.C., Manzocco L., Anese M., Lericì C.R. "Cambiamenti delle proprietà antiossidanti di alimenti sottoposti a trattamenti di trasformazione e conservazione". In "Ricerche e innovazioni nell'industria alimentare", Vol. III. Porretta S. (Ed.), Chiriotti Editori, Pinerolo (TO), 436-442, 1997b.
- Nicoli M.C., Anese M., Manzocco L. "Oil stability and antioxidant properties of an oil-tomato food system as affected by processing". *Adv. Food. Sci*, 21 (1-2), 10-14, 1999.
- Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N.J. "Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods". *J. Agric. Food Chem.*, 47, 425-431, 1999.
- Singleton V.L., Rossi J.A. Jr. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents". *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144-158, 1965.
- Southon S. "Increased consumption of fruits and vegetables within the EU: Potential health benefits". In "European Research towards safer and better foods", Gaukel V. and Spiess W.E.L. (Eds.), Druckerei Grasser, Karlsruhe, 159-168, 1998.
- Wang H., Cao G., Prior R.L. "Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins". *J. Agric. Food. Chem.*, 45, 304-309, 1997.
- West C. and Castenmiller J. "Food processing and bio-availability of food antioxidants". *Proc. FAIR CT95-0158, Symp. Natural Antioxidants in Processed Foods – Effects on storage characteristics and nutritional value, Agric. Univ., Frederiksberg, Denmark, Abstract*, 1998.

RIASSUNTO

Recenti studi indicano l'esistenza di una correlazione inversa tra consumo di frutta ed ortaggi ed insorgenza di patologie degenerative. Questi effetti sono stati attribuiti alla presenza, in tali alimenti, di una complessa serie di molecole bioattive, tra cui gli antiossidanti naturali. Sebbene esistano numerosi studi sui meccanismi alla base dell'azione protettiva di tali sostanze antiossidanti, ben poco è noto sull'influenza dei processi di trasformazione e conservazione sul contenuto, attività e biodisponibilità di questi composti. Tali aspetti risultano di grande interesse in considerazione del fatto che gran parte della frutta e degli ortaggi subisce un qualche intervento conservativo o di trasformazione, anche di minima intensità, prima del consumo.

In questo lavoro vengono presentati i risultati relativi allo studio sui cambiamenti delle proprietà antiossidanti della frazione idrosolubile di alcuni derivati agrumari sottoposti a trattamenti di trasformazione e conservazione ad intensità crescente. I risultati sembrano indicare come i diversi interventi tecnologici applicati abbiano una scarsa influenza sulle proprietà antiossidanti originarie di questi prodotti benché, in talune condizioni tecnologiche si sia verificata una drastica riduzione del contenuto di acido ascorbico.

SUMMARY

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CITRUS DERIVATIVES AS AFFECTED BY PROCESSING

Recent studies clearly indicate the existence of a highly negative correlation between intake of fruits and vegetable and the development of degenerative diseases. A number of bio-active constituents of these foods, such as the natural antioxidants, may account for these effects. Although many studies have been carried out to elucidate how antioxidants act in protecting health, little is known about the influence of processing and storage on content, activity and bio-availability of these compounds. It is worth considering that most of fruits and vegetables are subjected to processing and storage, prior to consumption.

In this paper results on changes of overall antioxidants properties of the aqueous phase of some citrus derivatives upon different processing and storage conditions are shown.

Results indicate that, despite a considerable loss of ascorbic acid, the overall antioxidant properties of the products were scarcely affected by the different technological operations adopted. The possible role of phenols compounds in maintaining high values of antioxidant activity is elucidated.