

DALLE SUSINE ALLE PRUGNE: INFLUENZA DELLA TEMPERATURA DI DISIDRATAZIONE SULLA COMPOSIZIONE FENOLICA E SULLA CAPACITÀ ANTIOSSIDANTE

Piga A., Del Caro A., Fenu P.

Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotecnologie Agro-Alimentari, Università di Sassari

Riassunto. L'essiccazione delle susine è condotta a temperature tra gli 85 e i 90°C. Esiste una discreta bibliografia sul contenuto in composti fenolici e sulla capacità antiossidante delle prugne, sono però scarse le notizie sugli effetti del processo. A tal fine è stato condotto uno studio sulla disidratazione di una varietà di susino con due temperature differenti. Sui frutti freschi ed essiccati sono stati determinati: composti fenolici principali, acido ascorbico e capacità antiossidante. Gli acidi idrossicinnamici variavano con la temperatura; gli antociani venivano degradati pressoché totalmente; i flavonoli e l'acido ascorbico venivano ridotti drasticamente. La temperatura maggiore ha più che raddoppiato la capacità antiossidante.

Parole chiave: attività antiossidante, disidratazione, polifenoli, prugne.

INFLUENCE OF DRYING PARAMETERS ON PHENO-

1. Introduzione

E' ampiamente riconosciuto che diversi alimenti aiutino a mantenere un buono stato di salute ed a prevenire malattie croniche (Ames, 1983). In questo contesto, le prugne ne sono un esempio. Le fonti bibliografiche riportano diversi effetti biologici legati al consumo di susine e prugne nell'uomo e negli animali, dimostrati da esperimenti *in vitro* con estratti dei frutti o con singoli composti isolati dagli stessi (Welsch *et al.*, 1987; Meyer *et al.*, 1998; Knekt *et al.*, 1997). Tra i vari composti chimici delle prugne, un'azione chiave è esercitata dal pool polifenolico (Donovan *et al.*, 1998). Nonostante i dati presenti in letteratura sulla composizione chimica di susine (Stohr *et al.*, 1975), e prugne (Donovan *et al.*, 1998; Fang e Prior, 2002), non sono ben chiari gli effetti relativi al processo, nonostante qualche lavoro (Raynal *et al.*, 1989; Raynal e Moutounet, 1989).

Obiettivo della sperimentazione,

per tanto, è stato di porre in evidenza gli effetti della disidratazione ad aria calda, condotta a due differenti temperature, sulla variazione dei principali composti fenolici e della loro capacità antiossidante in seguito alla trasformazione in prugne.

2. Materiali e metodi

Frutti della cv President sono stati selezionati e calibrati, scottati in una soluzione alcalina (NaOH al 2%) a 80°C per 10 s (rapporto acqua frutti di 10/1), raffreddati in acqua corrente, asciugati, selezionati ed essiccati, utilizzando un impianto pilota ad armadio (mod. modificato di Scirocco, SIE, Milano) sino ad un valore di sostanza secca dell'80%. I parametri di processo erano: a) temperatura di 85°C sino ad un valore di umidità del prodotto del 50% e 70°C sino al termine del processo; b) temperatura costante di 60°C. In entrambi i casi l'umidità relativa dell'aria era la più alta possibile nella prima

LICS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PRUNES

Abstract. Prunes are obtained by dehydrating plums at 85 to 90°C. Reports are available on ascorbic acid, phenolic composition and antioxidant activity of prunes, but there is lack of publications on the influence of drying parameters. A study was carried out on a plum cultivar using two sets of air drying temperatures. Fresh and dried fruits were assessed for: main phenolics, ascorbic acid and antioxidant activity. Hydroxycinnamic acids changes were affected by process parameters. Drying destroyed anthocyanins and decreased significantly the flavonol content. Ascorbic acid was drastically reduced in relation to process temperature. Drying at the higher temperature doubled antioxidant activity.

Key-words: antioxidant activity, drying, phenolic compounds, prunes.

fase (40%), la portata di 1.840 m³/ora e la disidratazione veniva condotta mediante riciclo dell'aria. I frutti secchi sono stati confezionati in buste di materiale plastico, e conservati a -18°C fino all'analisi.

Per le analisi sul fresco, 30 susine sono state denocciolate ed omogeneizzate. Sulla pasta sono state condotte le seguenti analisi in triplicato: umidità (%) (AOAC, 1990); attività dell'acqua (aw) con igrometro elettrico (Aw-Win, Rotronic); pH con pHmetro; acidità per titolazione; solidi solubili totali con rifrattometro digitale; acido ascorbico (mg/100 g sostanza secca⁻¹) per titolazione con diclorofenoloindofenolo (AOAC, 1990). Per la capacità antiossidante è stato utilizzato il radicale DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1994), utilizzando 5 g di purea diluiti con 25 ml di H₂O distillata, omogeneizzati, centrifugati e filtrati due volte (carta da filtro e filtri da 0,45 µm). 50 ml di tale soluzione sono stati fatti reagire per 2,5 ore in cuvetta con 3 ml di una soluzione

ne metanolica $6 \cdot 10^{-5} M$ di DPPH (λ di 515 nm, a $25^\circ C$). Si è visto che la diminuzione di assorbanza seguiva una cinetica del 4° ordine ($r^2 = 0,99$). La capacità antiossidante, pertanto, è stata espressa come $-DO^{-3} \cdot \min^{-1} \cdot \text{mg}_{\text{dm}}^{-1} \cdot 10^3$. I polifenoli sono stati estratti ed analizzati in HPLC (Donovan *et al.*, 1998; Nakatani *et al.*, 2000). Il cromatografo utilizzato per l'analisi (HP 1050) era equipaggiato con un rivelatore a fotodiodi. I polifenoli sono stati monitorati a 4 λ : 280 nm (catechine), 316 nm (acidi idrossicinnamici), 365 nm (flavonoli) e 520 nm (gli antociani) e quantificati per calibrazione con i seguenti standards: catechina, acido neoclorogenico, acido clorogenico, acido caffeico, acido p-cumarico, cianidina-3 monoglucoside, cianidina-3 rutinoside e rutina. Gli altri flavonoli sono stati quantificati come rutina equivalenti, mentre il terzo antociano è stato quantificato come cianidina-3 rutinoside equivalente. Per le analisi sull'essiccato si sono utilizzate 12 prugne per la determinazione dei polifenoli ed altre 12 per le rimanenti analisi, con alcune modifiche per la determinazione della capacità antiossidante (1 g anziché 5 g).

Tutti i dati sono stati sottoposti ad un'analisi della varianza ad una via mediante il software MSTAT-C, considerando come variabile il tempo di prelievo (fresco ed essiccato). Le medie, ove opportuno, sono state separate secondo il Multiple Duncan's range test al livello di significatività di $P \leq 0,01$.

3. Risultati e discussione

L'acido ascorbico è diminuito significativamente dopo l'essiccazione, specialmente nei frutti disidratati ad $85^\circ C$ (tab. 1). I valori di a_w riscontrati potrebbero permettere la crescita di diversi microrganismi. Questo solitamente non si verifica visto l'alto contenuto di polifenoli, come tra l'altro già osservato a livello industriale.

Come si può notare e come già riportato (Donovan *et al.*, 1998; Tomas-Barberan *et al.*, 2001) gli acidi idrossicinnamici sono i componenti fenolici maggiormente presenti nelle susine (tab. 2). L'acido prevalente è il neoclorogenico (circa il 53% dei totali). Non sono stati trovati, invece, gli acidi caffeico e p-cumarico. Per gli altri composti si può notare:

Tab. 1 - Parametri chimico fisici di susine President (fresche ed essiccate).
Tab. 1 - Physico-chemical parameters of fruits of President plums (fresh and dried).

Campione	Sostanza secca (%)	Aw	pH	Acidità (% acido malico)	Acidità (% acido malico)	Acido ascorbico (mg g ss ⁻¹)
fresco	18,58c*	0,980a	3,38a	1,11c	6,12a	18,13a
essiccato 60°C	81,24a	0,712c	3,56a	4,19b	5,79a	8,85b
essiccato 85°C	79,87a	0,759b	3,48a	4,40a	5,17b	5,12 c

* I valori seguiti da lettere diverse differiscono significativamente per ogni colonna secondo il Duncan's Multiple Range Test per $P < 0,01$.

* Values followed by different letters within each column are significantly different according to Duncan's Multiple Range Test at $P < 0.01$.

Tab. 2 - Contenuto percentuale ed assoluto di composti fenolici in susine President.
Tab. 2 - Percent and absolute content of phenolic compounds on President plums.

Composto	Quantità	
	assoluta ^x	%
Acido neoclorogenico	3,817,77	53,52
Acido clorogenico	540,51	7,58
Acido caffeico	0,00	0,00
Acido p-cumarico	0,00	0,00
Cianidina 3-glucoside	199,20	2,79
Cianidina 3-rutinoside	1.377,75	19,31
Cianidina 3-rutinoside equivalente	593,98	8,33
Rutina	266,53	3,74
Rutina equivalente	150,72	2,11
Catechina	186,76	2,62
Valori percentuali per classi (%)		
% Acidi idrossicinnamici	61,09	
% Antociani	30,43	
% Flavonoli	5,84	

^x come mg kg ss⁻¹.

^x as mg kg dm⁻¹.

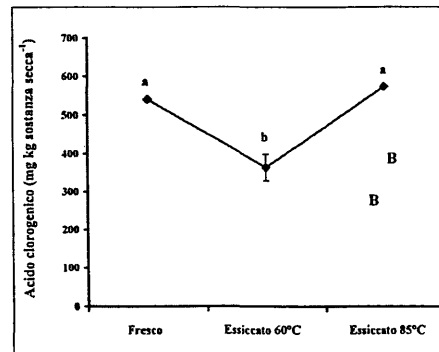
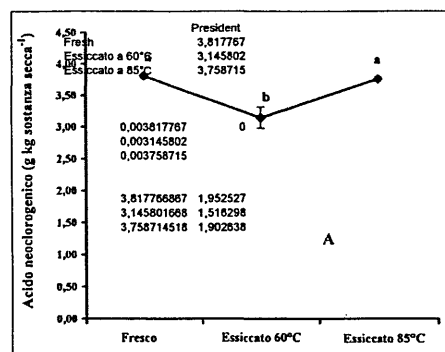


Fig. 1 - Variazioni in acido neoclorogenico (A) e clorogenico (B) di susine disidratate con differenti parametri di processo. A lettere diverse corrispondono valori statisticamente diversi per $P \leq 0,01$. Le barre verticali indicano l'ES.

Fig. 1 - Changes in neochlorogenic (A) and chlorogenic acid (B) in plums dried with different processing parameters. Different letters refer to significantly different values at $P \leq 0.01$. Vertical bars indicate SE.

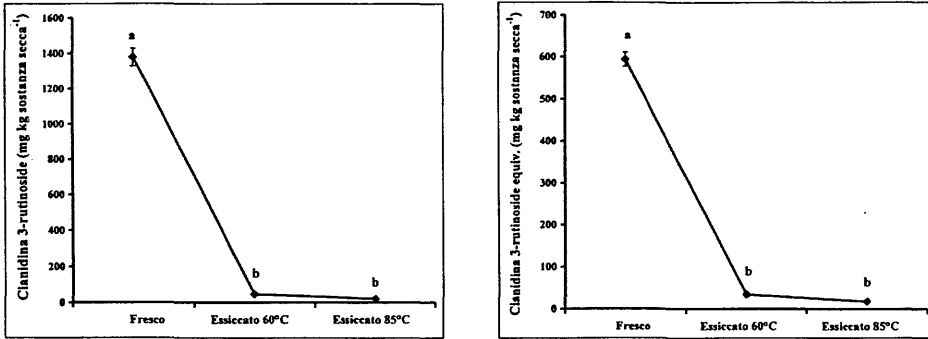


Fig. 2 - Variazioni in cianidina 3-glucoside (A) e cianidina 3-rutinoside (B) di susine disidratate con differenti parametri di processo. A lettere diverse corrispondono valori statisticamente diversi per $P \leq 0,01$. Le barre verticali indicano l'ES.

Fig. 2 - Changes in cyanidin 3-glucoside (A) and cyanidin 3-rutinoside (B) in plums dried with different processing parameters. Different letters refer to significantly different values at $P \leq 0,01$. Vertical bars indicate SE.

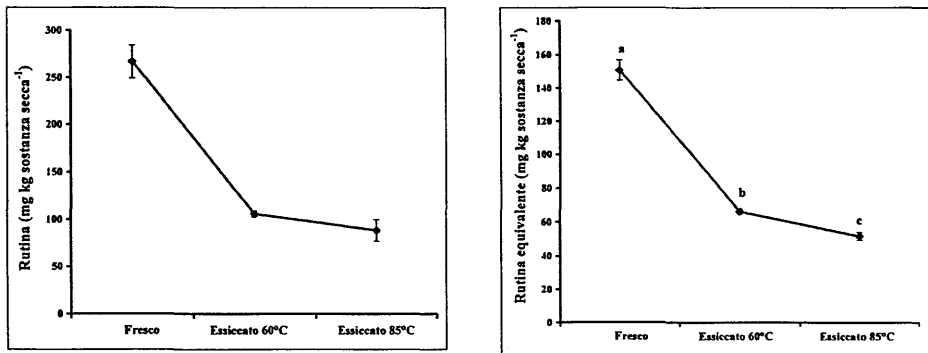


Fig. 3 - Variazioni in rutina (A) e rutina equivalente (B) di susine disidratate con differenti parametri di processo. A lettere diverse corrispondono valori statisticamente diversi per $P \leq 0,01$. Le barre verticali indicano l'ES.

Fig. 3 - Changes in rutin (A) and rutin equivalent (B) in plums dried with different processing parameters. Different letters refer to significantly different values at $P \leq 0,01$. Vertical bars indicate SE.

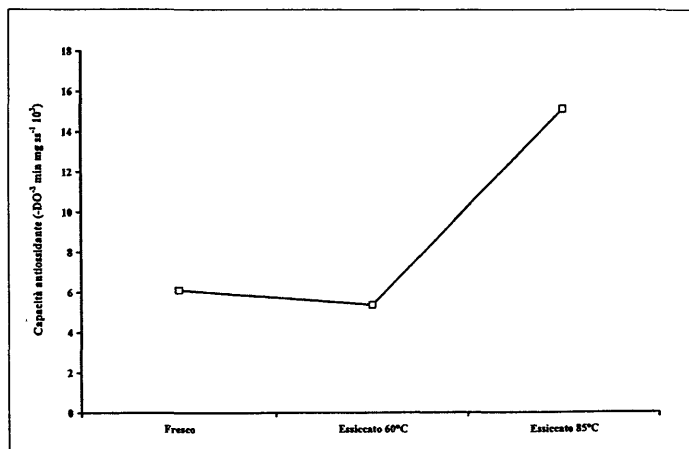


Fig. 4 - Evoluzione della capacità antiossidante di susine disidratate con differenti parametri di processo. A lettere diverse corrispondono valori statisticamente diversi per $P \leq 0,01$. Le barre verticali indicano l'ES.

Fig. 4 - Changes in antioxidant activity in plums dried with different processing parameters. Different letters refer to significantly different values at $P \leq 0,01$. Vertical bars indicate SE.

- antociani: sono stati evidenziati la cianidina-3 rutinoside ed un altro antociano, assimilabile al precedente, ascrivibile secondo alcuni alla peonidina 3-rutinoside (Raynal *et al.*, 1989), mentre secondo altri corrisponde alla cianidin 3-galattoside o alla cianidin 3-acetil-glucoside (Tomas-Barberan *et al.*, 2001). Il contributo delle antocianine è pari al 30% del contenuto totale;
- flavonoli: si è riscontrata la rutina ed altri composti espressi come rutina equivalente. I risultati ottenuti sono in accordo con la letteratura (Tomas-Barberan *et al.*, 2001);
- flavan-3-oli (catechine): abbiamo riscontrato la presenza di catechina.

Sui campioni essiccati alle temperature più alte non si sono avute variazioni significative dei due acidi idrossicinnamici, a dispetto dei dati forniti da (Raynal *et al.*, 1989), mentre nelle prugne ottenute a 60°C la variazione è risultata significativa (figg. 1-2). La loro degradazione potrebbe essere stata influenzata dall'attività della polifenolossidasi (PPO) che, durante il processo di disidratazione rimane elevata per lunghi periodi a temperature intorno ai 55°C, mentre è modesta a temperature superiori a 75°C (Raynal *et al.*, 1989). Nelle prugne compare l'acido p-cumarico, come già riportato (Tomas-Barberan *et al.*, 2001).

E' stata evidenziata una distruzione quasi totale degli antociani (fig. 3). L'uso di alte temperature e di alte concentrazioni di ossigeno porta ad una rapida degradazione degli antociani (Mazza e Miniati, 1993). Durante la disidratazione gli antociani vengono distrutti attraverso diversi meccanismi (ipotizzati) di ossidazione per dare composti di tipo diverso, tra cui alcuni bruni ad alto peso molecolare (Chichester e McFeeters, 1970). Per gli antociani ritrovati in tracce, nel campione essiccato a 60°C il contenuto è significativamente più alto, ciò conferma una stretta dipendenza con la temperatura.

Si è avuta una distruzione totale della catechina, pertanto anche in questo caso è evidente l'azione delle alte temperature.

Per quanto riguarda i flavonoli si può notare un comportamento differente (fig. 3). Appare evidente l'azione di degradazione del processo, in quanto si

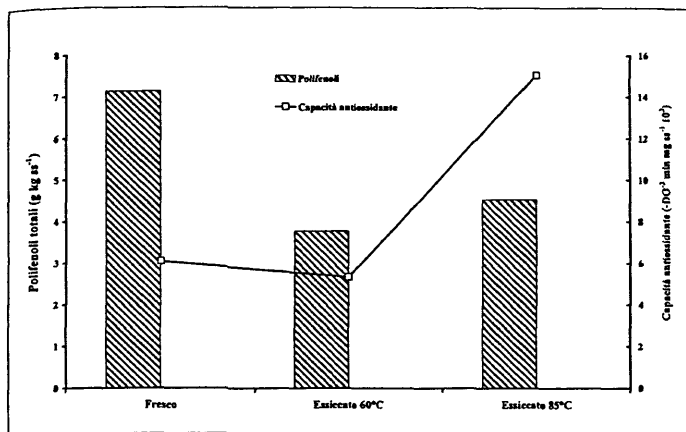


Fig. 5 - Capacità antiossidante e polifenoli totali di susine disidratate con differenti parametri di processo. A lettere diverse corrispondono valori statisticamente diversi per $P \leq 0,01$. Le barre verticali indicano l'ES.

Fig. 5 - Total polyphenols and antioxidant activity in plums dried with different processing parameters. Different letters refer to significantly different values at $P \leq 0.01$. Vertical bars indicate SE.

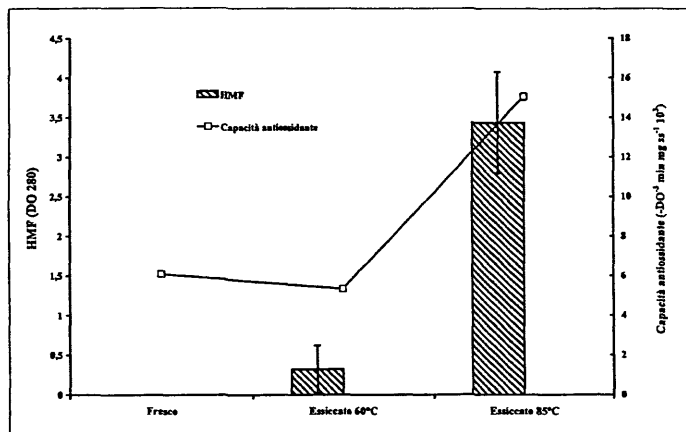


Fig. 6 - Capacità antiossidante e densità ottica dell'idrossimetilfurfurale (HMF) di susine disidratate con differenti parametri di processo. A lettere diverse corrispondono valori statisticamente diversi per $P \leq 0,01$. Le barre verticali indicano l'ES.

Fig. 6 - Antioxidant activity and optical density of hydroxymethylfurfural (HMF) in plums dried with different processing parameters. Different letters refer to significantly different values at $P \leq 0.01$. Vertical bars indicate SE.

ha una diminuzione significativamente più marcata nel campione essiccato ad 85°C.

La capacità antiossidante aumenta significativamente nel campione essiccato ad 85°C, mentre nell'altro succede il contrario (fig. 4). Possiamo notare (fig. 5), che il valore dei polifenoli totali diminuisce sensibilmente, specialmente nel prodotto essiccato a 60°C. Tale risultato può essere dovuto a due fattori: a) è noto che i polifenoli in uno stadio intermedio di ossidazione hanno un potere antiossidante maggiore,

rispetto ai composti di partenza (Cheigh e Lee, 1995), anche se questa, comunque, è una situazione temporanea; b) l'uso di alte temperature può portare alla formazione di nuovi composti a più alto potere antiossidante. Durante la reazione di Maillard (particolarmente presente in questo tipo di preparazioni) infatti, si generano diversi prodotti (MRPs) con un potere antiossidante molto elevato (Elizalde *et al.*, 1992; Severini e Lerici, 1995). Uno dei prodotti intermedi della reazione di Maillard è l'idrossimetilfurfurale

(HMF). Come si può osservare dalla figura 6 ad un aumento della densità ottica relativa all'HMF, corrisponde un aumento della capacità antiossidante, con l'eccezione delle susine disidratate a 60°C. Possiamo supporre, quindi, che l'incremento dei valori di attività chain-breaking siano da imputare ai MRPs. L'apparente anomalia delle susine trasformate a 60°C, potrebbe essere spiegata con il fatto che l'aumento della capacità antiossidante dovuta ai MRPs non sia riuscito a compensare gli effetti di distruzione della carica polifenolica.

Ringraziamenti

Si ringraziano Luigi Conti, Alessandra Nieddu e Paolo M. Fenu per la preziosa collaborazione tecnica prestata.

Bibliografia

- AMES B.N., 1983. *Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxigen radicals and degenerative diseases*. Science 221: 1256-1264.
- AOAC. *Official Methods of Analysis 1990*. Horwitz E., (Ed.) AOAC International.
- BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E., BERSET C., 1995. *Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*. Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie 28: 25-30.
- CHEIGH H.S., UM S.H, LEE C.Y., 1995. *Antioxidant characteristics of melanin-related products from enzymatic browning reaction of catechin in a model system*. ACS Symposium Series 600, American Chemical Society:200-208.
- CHICHESTER C.O., MCFEETERS R., 1970. *Pigment degeneration during processing and storage*. In "The biochemistry of Fruits and Their Products, Hulme, A. C., (Ed.), Academic, London 2: 707-719.
- DONOVAN J.L., MEYER A.S., WATERHOUSE A.L., 1998. *Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (Prunus domestica)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 1247-1252.
- ELIZALDE B.E., BRESSA F., DALLA ROSA M., 1992. *Antioxidative action of Maillard reaction volatiles: influence of Maillard solution browning*

- level. *Journal of American Oil Chemical Society* 69:331-334.
- FANG N., YU S., PRIOR R.L., 2002. *LC/MS/MS characterization of phenolic constituents in dried plums*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3579-3585.
- KNEKT P., JARVINEN R., SEPPANEN R., HELIOVAARA M., TEPPONEN L., PUKKALA E., AROMAA A., 1997. *Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasm*. *American Journal of Epidemiology* 146: 223-230.
- MAZZA G., MINIATI E., 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 184-185.
- MEYER A., DONOVAN J.L., PEARSON D.A., WATERHOUSE A.L., FRANKEL E.N., 1998. *Fruit hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1783-1787.
- NAKATANI N., KAJANO S., KIKUZAKI H., SUMINO K., KATAGIRI K., MITANI T., 2000. *Identification, Quantitative Determination, and Antioxidative Activities of Chlorogenic Acid Isomers in Prune (Prunus domestica L.)*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5512-5516.
- RAYNAL J., MOUTOUNET M., SOUQUET J.M., 1989. *Intervention of Phenolic compounds in plum technology. 1. Changes during drying*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 1046-1050.
- RAYNAL J., MOUTOUNET M., 1989. *Intervention of Phenolic compounds in plum technology. 2. Mechanism of anthocyanin degradation*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 1051-1053.
- SEVERINI C., LERICI C.R., 1995. *Interaction between the Maillard reaction and lipid oxidation in model systems during high temperature treatment*. *Italian Journal of Food Science* 2:189-196.
- STHOR H., MOSEL H.D., HERMANN K., 1975. *The phenolics of fruits. VII. The phenolics of cherries and plums and changes in the catechins and hydroxycinnamic acid derivatives during the development of fruits*. *Z. Lebensmittel Unters-Forsch.* 159: 85-91.
- TOMAS-BARBERAN F., GIL M.I., CREMIN P., WATERHOUSE A.L., PIERCE B.H., KADER A.A., 2001. *HPLC-DAD-ESIMS Analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4748-4760.
- WELSCH C.A., LACHANCE P.A., WASSERMAN B.P., 1989. *Dietary phenolic compounds: Inhibition of Na⁺-dependent D-glucose uptake in rat intestinal brush border membrane vesicles*. *Journal of Nutrition* 119: 1698-1704.