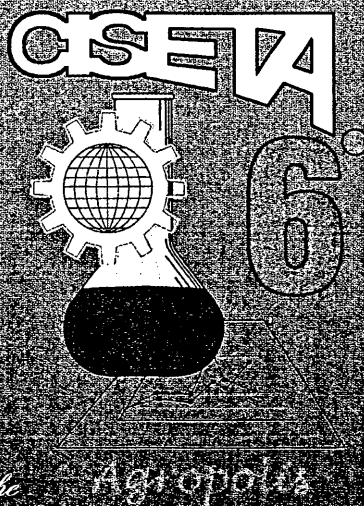


Ricerche e innovazioni nell'industria alimentare

volume VI



Consiglio Nazionale delle Ricerche

MasterTaste

a cura di
Sebastiano Porretta

CHIRIOTTI EDITORI

INFLUENZA DEI PARAMETRI DI PROCESSO SULLA COMPOSIZIONE FENOLICA E SULLA CAPACITÀ ANTIOSSIDANTE DELLE PRUGNE DURANTE LO STOCCAGGIO

INTRODUZIONE

Esiste una bibliografia consistente sulla composizione chimica delle susine e delle prugne e sui loro effetti biologici sulla salute umana, tanto da far considerare tali prodotti tra i cosiddetti "alimenti funzionali" (1), in particolar modo per il loro contenuto in composti fenolici e per la capacità antiossidante (2, 3, 4, 5, 6). È stato dimostrato che l'attività antiossidante *in vitro* nei confronti delle LDL umane è esercitata prevalentemente dalla presenza dell'acido clorogenico e neoclorogenico (4, 7) e dei flavonoidi (2), che agiscono nel prevenire diverse malattie degenerative, come quelle a carico dell'apparato cardiocircolatorio ed i tumori. Sono però scarse le notizie sugli effetti della disidratazione sui parametri citati, durante la trasformazione delle susine in prugne (8, 9, 10), e durante la conservazione del prodotto essiccato. Questo studio ha evidenziato le modificazioni avvenute, durante lo stoccaggio alla temperatura di 20°C, nel corredo polifenolico, nel contenuto in acido ascorbico e nella capacità antiossidante, di prugne ottenute dall'essiccazione a due temperature differenti.

MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata condotta sulla varietà President, acquistata presso un mercato locale e pretrattata ed essiccata secondo le modalità riportate in precedenza (10). Sono stati utilizzati due set di parametri di processo, il primo di tipo tradizionale, il secondo più delicato, al fine di valutare quale dei due potesse preservare le caratteristiche salutistiche delle prugne: a) temperatura di 85°C sino ad un contenuto di umidità del 50%, poi portata a 70°C sino alla fine del processo; b) 60°C.

I parametri relativi al flusso e all'umidità dell'aria sono stati mantenuti identici nei due processi. I frutti essiccati sono stati confezionati con una pellicola barriera e conservati a 20°C. Sui frutti essiccati e a 4 e 8 mesi di conservazione, sono state effettuate le seguenti determinazioni: pH, mediante pHmetro (mod. 710/A, Orion); acidità titolabile, (g di acido malico per 100 g di sostanza secca) per titolazione con una soluzione di NaOH 0,1 N fino ad un pH di 8,3; SST (in °Brix), mediante rifrattometro digitale (mod. PR-101, ATAGO); sostanza secca (ss)%, mediante stufa sotto vuoto per 12 h a 70°C; a_w , valutata utilizzando un igrometro elettrico (Rotronic BT-RS1, pbi international), calibrato con soluzioni ad attività nota; acido ascorbico (mg/g di sostanza secca) per titolazione con una soluzione di 2,6-diclorofenoloindofenolo (11).

La determinazione della capacità antiossidante è stata effettuata mediante l'utilizzo del radicale DPPH seguendo la metodica di Brand-Williams (12), come riportato in (10) ed esprimendola come $-D.O.^3 \text{ min}^{-1} \text{ mg ss}^{-1}$, il cui valore è stato ottenuto dalla seguente formula:

$$\frac{1}{A^3} - \frac{1}{A_0^3} = -3kt$$

dove A_0 è la densità ottica iniziale ed A è la densità ottica al tempo crescente t .

I polifenoli sono stati estratti e analizzati in HPLC in accordo con i metodi descritti in (4) e (13). I composti sono stati quantificati come riportato in (10). I valori sono stati espressi come mg/kg ss .

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza ad una via (Anova) usando il software MSTAT-C, considerando come "group variable" il periodo di conservazione. Le medie sono state separate utilizzando il Duncan's Multiple range test con un livello di significatività $P \leq 0,01$.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Le variazioni delle caratteristiche chimico-fisiche delle prugne durante la conservazione sono riportate nella tab. 1. Si evidenzia che il contenuto in acido ascorbico diminuisce significativamente nel tempo, come ampiamente riportato in letteratura (14), in particolar modo nei primi 4 mesi di conservazione.

La capacità antiossidante differisce significativamente in ambedue le tesi e mostra lo stesso comportamento (tab. 1). Infatti diminuisce sia nel campione a 85°C , sia in quello a 60°C dopo 4 mesi di conservazione, per poi aumentare all'ottavo mese di conservazione fino a superare il valore iniziale, in maniera significativa solo per il campione essiccato a 60°C . Il decadimento di tale capacità a 4 mesi di conservazione può essere dovuto sia alla diminuzione significativa del contenuto in acido ascorbico, sia alla diminuzione del conte-

Tabella 1 - Variazioni delle caratteristiche chimico-fisiche, dell'acido ascorbico e della capacità antiossidante delle prugne della varietà President dopo essiccazione alle temperature di 85° e 60°C , a 4 mesi e a 8 mesi di conservazione.

Temperatura	Periodo di conservazione	A_v	pH (100 g s.s. ⁻¹)	Acidità (g ac. malico (mg g s.s. ⁻¹))	Acido ascorbico ($-DO^3 \text{ min}^{-1}$ $\text{mg ss}^{-1} 10^3$)	Capacità antiossidante
85°C	0	0,785	3,34	4,87	4,45 ^a	14,62 ^a
	4 mesi	0,763	3,59	5,42	3,18 ^b	10,27 ^b
	8 mesi	0,781	3,40	5,09	2,87 ^b	14,90 ^a
60°C	0	0,799	3,36	4,96	8,80 ^a	4,96 ^b
	4 mesi	0,778	3,42	4,60	6,02 ^b	4,83 ^b
	8 mesi	0,717	3,52	5,37	5,90 ^b	6,19 ^a

* I dati, per ciascuna colonna e temperatura, seguiti da lettere diverse differiscono significativamente secondo il Duncan's Multiple Range Test per $P < 0,01$. I risultati rappresentano la media di quattro determinazioni.

nuto polifenolico, che, come è noto, influiscono sulle capacità antiossidanti di un alimento (6, 14, 17, 18). L'aumento verificatosi a 8 mesi di conservazione in ambedue i campioni può invece essere legato alla formazione di nuovi composti ad attività antiossidante, come i prodotti della reazione di Maillard, che continuano a formarsi anche durante una conservazione prolungata. Infatti sia l'acido ascorbico, sia i polifenoli diminuiscono agendo, probabilmente, come reagenti nella formazione dei prodotti della reazione di Maillard (18, 19), la cui aumentata attività antiossidante è da attribuirsi principalmente alla formazione di composti bruni ad elevato peso molecolare, che si formano negli stadi più avanzati della reazione (19). La correlazione effettuata tra il valore della capacità antiossidante e il contenuto di acido ascorbico nei frutti essiccati non ha dato risultati significativi, così come la correlazione effettuata tra la stessa ed il contenuto dei polifenoli totali, degli acidi idrossicinnamici e dei flavonoli (dati non mostrati). Questo dimostra che l'attività antiossidante, durante la conservazione del prodotto rispetto al fresco, potrebbe essere legata in maggior misura ai prodotti della reazione di Maillard piuttosto che al contenuto in acido ascorbico e polifenolico.

La tab. 2 riporta le variazioni del contenuto polifenolico durante gli 8 mesi di conservazione. Gli acidi idrossicinnamici rappresentano i componenti fenolici maggiormente rappresentati nelle prugne, dove l'acido neoclorogenico è predominante sul clorogenico, come riportato in letteratura (4, 7). Compare anche l'acido p-cumarico la cui presenza è da ascrivere all'idrolisi degli acidi cinnamici durante la trasformazione delle susine in prugne (4), mentre non è presente il caffeico, anche se in natura si riportano tracce nel prodotto essiccato (4). Sono inoltre presenti le due forme di antociani maggiormente rappresentate nella varietà oggetto di studio. Infine, per la classe dei flavonoli, è presente la rutina ed altri composti che sono stati quantificati come rutina equivalente.

Dallo studio effettuato si evidenzia un comportamento differente durante lo stoccaggio per le prugne essiccate alle due temperature. Il campione essiccato a 60°C mostra una degradazione significativa di tutti i composti rivelati dall'analisi cromatografica, mentre il campione essiccato a 85°C non mostra variazioni significative né per il contenuto in flavonoli, né per l'acido clorogenico. Per quanto riguarda gli acidi idrossicinnamici, il campione essiccato a 60°C evidenzia una degradazione degli stessi, durante lo stoccaggio, sicuramente

Tabella 2 - Variazioni nel contenuto polifenolico delle prugne della varietà President dopo essiccazione alle temperature di 85° e 60°C, a 4 mesi e a 8 mesi di conservazione.

Polifenoli (mg/kg ss. ⁻¹)	Varietà					
	President essiccato a 85°			President essiccato a 60°		
	0	4 mesi	8 mesi	0	4 mesi	8 mesi
ac. neoclorogenico	3758,71 ^a	3700,41 ^b	3704,03 ^b	3145,80 ^a	1783,23 ^b	1493,05 ^c
acido clorogenico	572,97	523,25	535,24	363,74 ^a	302,28 ^b	254,10 ^c
ac. p-cumarico	25,39 ^a	17,37 ^c	15,87 ^c	11,00 ^a	0,00 ^b	0,00 ^b
con. 3'-rutinoside	70,86 ^a	17,43 ^c	0,00 ^b	47,13 ^a	14,84 ^b	0,00 ^c
con. 3'-cot. equivi.	18,07 ^a	15,97 ^a	0,00 ^b	34,35 ^a	14,92 ^b	0,00 ^c
rutina	42,85	115,33	115,33	185,99 ^a	46,17 ^b	46,46 ^c
rutina equivalente	51,97	52,61	56,09	66,36 ^a	48,48 ^b	25,06 ^c
Totale	4540,07^a	3836,37^b	3622,24^b	3774,37^a	2289,52^b	1818,67^c

* I dati, per ciascuno colonno e temperatura, seguono da sinistra a destra differenzia significativamente secondo il Duncan's Multiple Range Test per P<0,01. I risultati rappresentano la media di quattro determinazioni.

te ascrivibile all'attività enzimatica residua della polifenolossidasi (PPO), presente per via della più bassa temperatura di disidratazione utilizzata (8). La PPO agisce prevalentemente sull'acido neoclorogenico, che mostra, infatti, una degradazione di maggior entità rispetto al clorogenico, probabilmente perché il primo è maggiormente localizzato nella polpa e quindi diventa il substrato preferenziale per le ossidasi (8). Nel campione essiccato a 85°C, invece, la diminuzione dell'acido neoclorogenico è significativa solo dopo i primi 4 mesi di conservazione, mentre l'acido clorogenico non mostra segni di degradazione. È noto dalla letteratura, (8) che l'attività della polifenolossidasi è ancora presente a temperature superiori ai 75°C, anche se in misura modesta. Invece la stabilità dell'acido clorogenico durante lo stoccaggio potrebbe essere ascrivibile a reazioni di ossidazione accoppiata, (9, 15) nelle quali l'acido clorogenico è coinvolto nella degradazione degli antociani con un meccanismo di reazione che prevede la rigenerazione parziale dello stesso acido.

L'acido p-cumarico, formatosi durante l'essiccazione, subisce anch'esso dei processi di ossidazione, più importanti nel prodotto essiccato a 60°C rispetto a quello a 85°C, facendo presupporre anche in questo caso un'ossidazione di tipo enzimatico.

Il comportamento degli antociani è simile per le due tesi in esame (85° e 60°C): agli 8 mesi di conservazione si evidenzia la totale scomparsa dei due composti. La maggior degradazione riscontrata a 4 mesi di stoccaggio nel campione essiccato a 60°C potrebbe essere legata a meccanismi di ossidazione accoppiata che vedono i chinoni formati dall'azione della PPO sull'acido clorogenico implicati nella degradazione degli antociani (9).

Per ciò che concerne i flavonoli il comportamento dei due campioni è totalmente differente. È noto che i flavonoidi non sono diretti substrati delle ossidasi, poiché queste non agiscono sui glucosidi, sono comunque degradati anch'essi da reazioni di ossidazione accoppiata (16). Inoltre la presenza dei flavonoli, nel campione essiccato a 85°C, durante gli 8 mesi di conservazione potrebbe essere ascrivibile ad una maggiore facilità di estrazione e di idrolisi a causa della degradazione strutturale che potrebbe verificarsi nelle cellule durante lo stoccaggio (17). Concludendo, la tecnologia tradizionale (85°C) può essere ritenuta maggiormente idonea a preservare le caratteristiche salutistiche delle prugne durante lo stoccaggio, in virtù sia del mantenimento del contenuto polifenolico sia della capacità antiossidante.

BIBLIOGRAFIA

1. Stacewicz-Sapuntzakis M., Bowen P.E., Hussain E.A., Damayanti-Wood B.I., Farnsworth N.R., "Chemical composition and potential health effects of prunes: a functional food?", *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 41, 251-286, 2001.
2. J.A. Vinson, J. Jang, Y.A. Dabbagh, M.M. Serry, "Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease", *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2800-2802, 1995.
3. A. Meyer, J.L. Donovan, D.A. Pearson, A.L. Waterhouse, E.N. Frankel. "Fruit hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation *in vitro*", *J. Agric. Food Chem.*, 46, 1783-1787, 1998.
4. J.L. Donovan, A.S. Meyer, A.L. Waterhouse, "Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*)", *J. Agric. Food Chem.*, 46, 1247-1252, 1998.
5. D.O. Kim, Jeong S.W., Lee C.Y., "Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums", *Food. Chem.*, 81, 321-326, 2003.
6. Gil. M.J., Tomas-Barberan F.A., Hess-Pierce B., Kader A.A., "Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from California". *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4976-4982, 2000.
7. F. Tomas-Barberan, M.I. Gil, P. Cremin, A.L. Waterhouse, B.H. Pierce, A.A. Kader, "HPLC-DAD-ES-IMS Analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *J.Agric. Food Chem.*, 49, 4748-4760, 2001.

8. J. Raynal, M. Moutounet, J.M. Souquet, "Intervention of phenolic compounds in plum technology". 1. Changes during drying", *J. Agric. Food Chem.*, 37, 1046-1050, 1989a.
9. J. Raynal, M. Moutounet, "Intervention of phenolic compounds in plum technology". 2. Mechanism of anthocyanin degradation", *J. Agric. Food Chem.*, 37, 1051-1053, 1989b.
10. A. Figa, A. Del Caro, G. Corda, "From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 3675-3681, 2003.
11. AOAC. Official Methods of Analysis, 15th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA, 1990.
12. W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, "Use of free radical method to evaluate antioxidant activity", *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 28, 25-30, 1995.
13. N. Nakatani, S. Kajano, H. Kikuzaki, K. Sumino, K. Katagiri, T. Mitani, "Identification, Quantitative Determination, and Antioxidative Activities of Chlorogenic Acid Isomers in Prune (*Prunus domestica* L.)", *J. Agric. Food Chem.*, 48, 5512-5516, 2000.
14. J. Ryley, P. Kayda, "Vitamins in thermal processing", *Food Chem.*, 49, 119-129, 1993.
15. K. Robards, P.D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang, W. Glover, "Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits", *Food Chem.*, 66, 401-436, 1999.
16. M.J. Amiot, M. Tacchini, S.Y. Aubert, W. Oleszek, "Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymatic browning of pear fruits", *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1132-1137, 1995.
17. S.H. Hakkinen, S.O. Karenlampi, H.M. Mykkanen, A.R. Torronen, "Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in Berries", *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2960-2965, 2000.
18. C. Kaur, H.C. Kapoor, "Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health", *Intern. J. Food Sci. Technol.*, 36, 703-725, 2001.
19. M.C. Nicoli, M. Anese, M. Parpinel, "Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables", *Trends Food Sci. Technol.*, 10, 94-100, 1999.

RIASSUNTO

Lo studio ha riguardato l'evoluzione dei composti fenolici e dell'attività antiossidante durante la conservazione, di una varietà di susino europeo, la President, sottoposta a due diverse temperature di disidratazione. Sui frutti appena essiccati e durante lo stoccaggio alla temperatura di 20°C sono stati analizzati i composti fenolici (catechine, acidi idrossicinnamici, antociani e flavonoli), l'acido ascorbico e la capacità antiossidante. I risultati ottenuti hanno evidenziato, per i campioni sottoposti alle due diverse temperature, un decremento significativo sia dell'acido ascorbico sia dei polifenoli totali, soprattutto a carico del campione a 60°C, durante lo stoccaggio. La capacità antiossidante, in entrambi i casi, ha subito una diminuzione ai 4 mesi di conservazione per poi aumentare portandosi ad un livello uguale o addirittura superiore al valore iniziale dopo 8 mesi di conservazione.

SUMMARY

INFLUENCE OF PROCESSING ON PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY DURING STORAGE IN PRUNES

Changes in phenolic content, antioxidant capacity and ascorbic acid in prunes dried at 85° and 60°C, during eight months of storage at 20°C, were studied. Results obtained showed a significant decrease for ascorbic acid and phenolic content in both prune samples during storage. Antioxidant capacity underwent a significant decrease at fourth month of storage in both prunes while it increased, up to reach and go over the initial value, at the eight month of storage.