

MONICA ASSUNTA MADRAU, ALESSANDRA DEL CARO, COSTANTINO FADDA,
ANNA MARIA SANGUINETTI, ANTONIO PIGA

INFLUENZA DELLA TEMPERATURA DI ESSICCAMENTO SUI POLIFENOLI E SULLA CAPACITÀ ANTIOSSIDANTE DELLE SUSINE “STANLEY”

Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi, Viale Italia 39, 07100 Sassari, Italia

INTRODUZIONE

Gli studi effettuati sulla composizione chimica delle susine e delle prugne pongono in evidenza gli effetti biologici di alcuni costituenti sulla salute umana, tanto da elevarli a rango di “alimenti nutraceutici”(1), specialmente per il loro apporto quali-quantitativo di composti fenolici e per la capacità antiossidante (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). Infatti, il loro elevato contenuto in acidi idrossicinnamici, come il clorogenico ed il neoclorogenico (4), e di flavonoidi (2) esplica una marcata azione antiossidante *in vitro* nei confronti delle LDL umane, con il risultato di prevenire diverse malattie degenerative, come quelle a carico dell'apparato cardiocircolatorio ed i tumori. In un recente lavoro è stato dimostrato che alte temperature, nella prima fase della disidratazione, inducono un aumento della capacità antiossidante in susine “Sugar” e “President” (12), ma non si hanno notizie relative agli effetti di alte temperature di disidratazione mantenute per lunghi periodi. Nel presente lavoro si è voluta verificare l'influenza di un'alta temperatura di disidratazione (85°C) mantenuta per tutto il periodo del processo sulla composizione fenolica e sulla capacità antiossidante delle susine “Stanley”, facendo al contempo un confronto con una bassa temperatura (60°C).

MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata condotta sulla varietà “Stanley”, acquistata presso un mercato locale e pretrattata ed essiccata secondo le modalità riportate in precedenza (12). 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 alla fine del processo; b) temperatura di 60 °C. I parametri relativi al flusso e all'umidità dell'aria sono stati mantenuti identici. Le prugne sono state confezionate con una pellicola barriera e conservate a 20 °C. Sui frutti essiccati sono state effettuate, in triplo, le seguenti determinazioni: *pH*, mediante pH-metro (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; *sostanza secca (ss %)*, mediante stufa sotto vuoto per 12 h a 70

°C; *aw*, 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 (13).

La determinazione della capacità antiossidante è stata effettuata mediante l'utilizzo del radicale DPPH seguendo la metodica di Brand-Williams (14), come riportato in (12) ed esprimendola come $-D.O.^3 \text{ min}^{-1} \text{ g s.s.}^{-1}$.

I polifenoli sono stati estratti e analizzati, in doppio, in HPLC in accordo con i metodi descritti in (4) e (16). I composti sono stati quantificati come già riportato (13) ed espressi come mg/kg s.s.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza ad una via (ANOVA) usando il software MSTAT-C, considerando come "group variable" il trattamento. 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 in seguito al processo sono riportate nella Tab. 1. Si evidenzia che il contenuto in acido ascorbico diminuisce significativamente dopo la disidratazione, come ampiamente riportato in letteratura (17).

Tab. 1 - Variazioni delle caratteristiche chimico-fisiche, dell'acido ascorbico e della capacità antiossidante di susine Stanley essiccate a 85°C e 60°C.

Campione	Aw	pH	Acidità (g ac. malico 100 g s.s. ⁻¹)	Acido ascor. (mg 100 g s.s. ⁻¹)	Capacità antiossidante (-DO ³ min ⁻¹ g ss ⁻¹)
Fresco	0,949a	3,62a	2,59b	15,30*a	21,19b
Ess. 85°C	0,505b	3,59a	3,42a	2,61b	189,90a
Ess. 60°C	0,516b	3,49a	3,29a	2,76b	14,13c

* i dati, per ciascuna colonna e temperatura, seguiti da lettere diverse differiscono significativamente secondo il Duncan's Multiple Range Test per $P < 0,01$.

Come si può notare e come già riportato (4, 6, 7, 9, 10, 12), gli acidi idrossicinnamici sono i componenti fenolici maggiormente presenti nelle susine (tab. 2). L'acido prevalente è il neoclorogenico (circa il 70% dei totali). Non sono stati trovati, inoltre, gli acidi caffeico e p-cumarico. Per i flavonoli si è riscontrata la rutina, come già riportato (6, 12); per gli antociani l'unico composto evidenziato è stato la cianidina-3 rutinoside, già riscontrata da altri autori (4, 6). Il contributo delle antocianine, sul contenuto polifenolico complessivo, è minimo.

L'evoluzione dei polifenoli in seguito alla disidratazione è veramente interessante. Per quanto riguarda l'acido neoclorogenico si sono avuti un incremento ed una diminuzione significativi alla temperatura più alta e più bassa, rispettivamente. Nel caso dell'acido clorogenico, invece, l'aumento si è verificato alla temperatura più alta. È noto che la degradazione di questi acidi può essere influenzata dall'attività della polifenolossidasi (PPO).

Tab. 2 - Variazioni nel contenuto polifenolico e dell'HMF (espresso in mAU) delle prugne della varietà Stanley dopo essiccazione a 85°C e 60°C.

Polifenoli (mg kg s.s. ⁻¹)	Campione		
	Fresco	Essiccato 85°C	Essiccato 60°C
Acido neoclorogenico	438,15b	521,49a	148,33c
Acido clorogenico	13,30b	128,84a	17,20b
Ac. Clorog. equiv. (1)	48,14a	35,79b	5,21c
Ac. Clorog. equiv. (2)	59,59b	106,17a	11,68c
Acido <i>p</i> -cumarico	-c	9,69a	1,13b
Acido <i>p</i> -cum. equiv. (1)	30,21a	34,54a	10,96b
Acido <i>p</i> -cum. equiv. (2)	8,18a	7,42a	-b
Acido caffeico	-b	6,64a	-b
Rutina	28,78a	26,31a	6,08b
Rutina equivalente	-c	6,87a	1,76b
Quercetina 3-glucoside	-c	2,98a	0,12b
Cianidina 3-rutinoside	1,83a	-b	-b
Polifenoli totali	628,18b	886,74a	202,47c
HMF (mAU)	-c	3200a	110b

* i dati, per ciascun riga, seguiti da lettere diverse differiscono significativamente secondo il Duncan's Multiple Range Test per $P < 0,01$.

È riportato che l'attività della PPO durante la disidratazione delle prugne rimane elevata per lunghi periodi a temperature intorno ai 55°C, mentre è modesta a temperature superiori a 75°C (8, 15). Tale comportamento è confermato anche da un recente lavoro (12). L'aumento di acido neoclorogenico potrebbe essere ascrivibile a meccanismi di rigenerazione fenolica a partire dai chinoni, in seguito ad azioni di ossidazione accoppiata (18). Sono stati evidenziati, sia nelle susine, sia nelle prugne, due picchi con identità spettrale per l'acido clorogenico, che abbiamo definito clorogenico equivalenti 1 e 2. Il primo compare in quantità maggiore nel fresco, seguito dal disidratato ad 85°C e a 60°C; per il secondo, invece sono state ritrovate quantità superiori nel campione disidratato ad 85°C, seguito dal campione fresco ed essiccato a 60°C. Per questi andamenti valgono i ragionamenti fatti in precedenza. Compare nelle prugne l'acido *p*-cumarico e l'acido caffeico, come già riportato (7, 12), probabilmente per idrolisi dei cinnamati durante la disidratazione. Sono stati evidenziati, sia nelle susine, sia nelle prugne, due picchi con identità spettrale per l'acido *p*-cumarico, che abbiamo definito *p*-cumarico equivalenti 1 e 2. In questo caso si è avuta una diminuzione significativa solamente nel campione disidratato a 60°C. È stata evidenziata una distruzione totale degli antociani, come riportato in letteratura (19). Durante la disidratazione, l'equilibrio tra le diverse forme degli antociani si sposta verso forme che vengono distrutte attraverso diversi meccanismi (ipotizzati) di ossidazione per dare composti di tipo diverso, tra cui alcuni bruni ad alto peso molecolare (20). Non è stata evidenziata la presenza di catechina. Per quanto riguarda i flavonoli si può notare l'assenza nelle susine e la comparsa nelle prugne, con quantità

statisticamente superiori nel campione a 85°C. Tale presenza, comunque, è minima e potrebbe essere ascritta ad una maggiore estraibilità dei flavonoidi nelle matrici essiccate.

La capacità antiossidante mostra un andamento simile a quello presentato in un precedente lavoro sulle susine President (12). Infatti, si rileva una diminuzione significativa nel campione essiccato a 60°C, ma un aumento di circa nove volte in quello essiccato a 85°C (Tab. 2). Il decremento nella tesi a 60°C può essere dovuto sia alla diminuzione significativa del contenuto in acido ascorbico, sia alla diminuzione del contenuto polifenolico (6, 17, 22, 23). Nel caso delle susine essiccate a 85°C invece, si potrebbe pensare che l'aumento dell'attività possa essere dovuto all'aumento del contenuto in polifenoli. In realtà, il dato relativo ai polifenoli prende in considerazione solo i polifenoli riconosciuti e quantificati, ma se si considerano le aree relative ai polifenoli dell'intero cromatogramma si ha una diminuzione (dati non mostrati). Si ha, inoltre, una diminuzione significativa dell'acido ascorbico. Comunque, l'aumento virtuale di polifenoli non potrebbe sicuramente spiegare un aumento della capacità antiossidante di ben nove volte, che può essere, invece, legato alla formazione di nuovi composti ad attività antiossidante derivanti dalla reazione di Maillard, la cui aumentata capacità antiossidante è da attribuirsi principalmente alla formazione di composti bruni ad elevato peso molecolare, che si formano negli stadi più avanzati della reazione (23, 24). La determinazione su prugne da parte di Kayano *et al.* (25), di sette nuovi composti fenolici con alta attività antiossidante non può essere una valida spiegazione dell'aumento da noi riscontrato, anche perché gli autori non ricercano gli stessi componenti sui frutti di partenza. Uno dei prodotti intermedi della reazione di Maillard è l'idrossimetilfurfurale (HMF) da noi rilevato nei nostri cromatogrammi a 280 nm, quantificato in unità di mAu (Tab. 2). Da una comparazione tra valori di HMF e capacità antiossidante, si può vedere che all'aumento del primo aumenta anche il secondo parametro, ad eccezione del campione essiccato a 60°C (Tab. 2). Quest'ultima apparente anomalia potrebbe essere spiegata dal fatto che l'incremento di capacità antiossidante dovuta ai prodotti della reazione di Maillard può essere stata superata dalla contemporanea diminuzione dovuta alla degradazione dell'acido ascorbico e dei polifenoli.

RINGRAZIAMENTI

Lavoro finanziato da Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica (MIUR) and Università degli Studi di Sassari, Programmi di Ricerca Scientifica di Rilevante Interesse Nazionale (PRIN 2005), "Influenza di diverse condizioni di processo e della conservazione sulla capacità antiossidante delle prugne".

BIBLIOGRAFIA

1. M. Stacewicz-Sapuntzakis, P.E. Bowen, E.A. Hussain, B.I. Damayanti-Wood., N.R. Farnsworth, "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.I., 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-ESIMS 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, 1989.
9. D. Dim, "Quantification of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6509-6514, 2003.
10. O. Chun, "Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7240-7245, 2003.
11. S. Kayano, "Quantitative evaluation of antioxidant components in prunes (*Prunus domestica* L.)", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1480-1484, 2003.
12. A. Piga, 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.
13. AOAC. Official Methods of Analysis, 15th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA, 1990.
14. W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, "Use of free radical method to evaluate antioxidant activity", *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 28, 25-30, 1995.
15. J. Raynal, M. Moutounet, "Intervention of phenolic compounds in plum technology". 2. Mechanism of anthocyanin degradation", *J. Agric. Food Chem.*, 37, 1051-1053, 1989.
16. V. Dragovic-Uzelac, B. Levaj, V. Mrkic, D. Bursac, M. Boras, "The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region", *Food Chem*, 102, (3), 966-975, 2007.
17. J. Ryley, P. Kayda, "Vitamins in thermal processing", *Food Chem.*, 49, 119-129, 1993.
18. 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.
19. G. Mazza, E. Miniati, "Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains". CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 184-185, 1993.
20. C.O. Chichester, R. McFeeters, "Pigment degeneration during processing and storage". In "The biochemistry of Fruits and Their Products, Hulme, A. C., (Ed.), Academic, London, Vol. 2, pp. 707-719, 1970.
21. 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 per fruits", *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1132-1137, 1995.
22. 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.

23. C. Kaur, H.C. Kapoor, "Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health", Intern. J. Food Sci. Techn., 36, 703-725, 2001.
24. M.C. Nicoli, M. Anese, M. Parpinel, "Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables", Trends Food Sci. Techn., 10, 94-100, 1999.
25. S. Kayano, H. Kikuzaki, T. Ikami, T. Suzuki, T. Mitani, N. Nakatani, "A new bypyrrole and some phenolic constituents in prunes (*Prunus domestica* L.) and their oxygen radical absorbance capacity (ORAC)", Biosci. Biotechnol. Biochem., 68, 942-944, 2004.

RIASSUNTO

Lo studio ha riguardato l'evoluzione dei composti fenolici e dell'attività antiossidante di susine della varietà Stanley in seguito all'essiccamento a due temperature. Sui frutti freschi ed essiccati sono stati analizzati i composti fenolici, l'acido ascorbico e la capacità antiossidante. I risultati ottenuti hanno evidenziato un decremento significativo dell'acido ascorbico nei campioni essiccati. Si evidenzia che l'uso di un'alta temperatura porta ad un mantenimento della componente polifenolica ed a un aumento di oltre 9 volte dell'attività antiossidante *in vitro*, rispetto ai frutti freschi, mentre nelle susine essiccate a 60°C si ha una diminuzione di entrambi i parametri.

SUMMARY

INFLUENCE OF DRYING TEMPERATURE ON PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF STANLEY PRUNES

Changes in phenolic content, antioxidant capacity and ascorbic acid in prunes dried at 85°C and 60°C, were studied. Results obtained showed a significant decrease for ascorbic acid. It has to be highlighted that drying at 85°C resulted in keeping the polyphenolic pool and sharply raising the antioxidant activity, while the opposite happened for plums dried at 60°C.