

ANALIZA ALIMENTELOR FUNCȚIONALE

1. Alimente funcționale de origine vegetală. Antioxidanții naturali

Cercetările actuale, întreprinse pe segmente extinse de populație aparținând unor zone geografice diferite, cu obiceiuri alimentare diferite, au evidențiat faptul că marii consumatori de produse vegetale se confruntă mai rar cu neoplasmelor. Numeroase studii internaționale privind rolul substanțelor naturale asupra sănătății au demonstrat că legumele au un rol protector față de riscul de apariție al tumorilor maligne la femei, localizate în special la sân și ovare. De exemplu riscul de cancer la sân este de două ori mai mic la populația asiatică, consecventă consumatoare de soia.

1.1. Vitamina C

Există o evidență a studiilor in vitro care arată că vitamina C are rol în refacerea tocoferolului din radicalul tocoferoxil care se formează prin inhibarea peroxidării lipidice de către vitamina E. Acest proces va permite transportul unui radical dintr-un compartiment lipofilic într-unul apos unde va fi preluat de sistemele enzimatice de apărare eficiente.

Toleranța și siguranța vitaminei C ingerate la subiecții umani au fost studiate extensiv în ultimul deceniu. Într-o metaanaliză mai recentă efectuată de către Bendich și colaboratorii săi, în 22 de studii controlate placebo, nu s-au constatat efecte secundare ale unei doze zilnice mai mari de 6 mg de vitamina C.

Faptul că un număr mare de oameni ingeră cu regularitate doze mari de vitamina C fără a raporta vreun efect advers, demonstrează că această vitamină nu implică riscuri. Este limpede că supradozajul de vitamina C nu poate apărea la om nici măcar la un aport foarte mare.

Ca atare, eventualele probleme care ar putea apărea datorită unei supradozări prin ingestia de vitamina C în cantități ridicate prin intermediul consumului mare de legume suprapus peste alte adaosuri și suplimente, nu sunt un motiv de îngrijorare. Chiar dacă legumele și fructele studiate de noi au un conținut semnificativ de vitamina C ele pot fi consumate în cantități mari în condiții de siguranță deplină.

1.2. β -carotenul

Pentru utilizarea β -carotenului ca aliment, medicament sau supliment nutritiv, a fost nevoie de studii de toxicitate extinse. S-a evidențiat astfel absența rolului mutagen, fapt confirmat de studii ce au utilizat teste pe micronuclei de măduvă provenind de la șoareci. Diferite trialuri de toxicitate au plasat β -carotenul în categoria alimentelor în general recunoscute ca fiind sigure de către US - FDA.

Se poate concluziona că suplimentarea la indivizii normali cu cantități moderate de β -caroten nu prezintă riscuri. Cu atât mai mult putem considera că este lipsită de riscuri o alimentație îmbogățită în fructe și legume cu conținut ridicat de β -caroten, care este administrat în formă naturală ca principiu bioactiv ce face parte dintr-un complex vitaminic cu efect sinergic în creșterea nivelului calității vieții.

1.3.Flavonoidele

Există câteva date despre absorbția, metabolismul și posibile efecte adverse ale flavonoidelor și compușilor înrudiți cu acestea, precum genisteina, daidzeina sau acizii fenolici. Din moment ce acești compuși sunt prezenți în alimentația noastră zilnică, se consideră că nu generează probleme de sănătate. Din moment ce concentrația fenolică din plantele comestibile, fructe și vegetale variază considerabil, se estimează un aport zilnic de 100mg - 1000mg.

Se pare că absorbția flavonoidelor alimentare la om se face pe două căi majore. Microorganismele intestinale hidrolizează glicozizii flavonoizi rezultând agliconă și zahăr. Majoritatea agliconelor sunt în continuare metabolizate de către microorganisme; o mică parte e absorbită.

Nu există date sigure despre toxicitatea flavonoidelor și a altor antioxidanți non-nutritivi, existând numeroase controverse în literatura de specialitate. Recent s-a publicat o metodă sigură și ușor de reprodus, care demonstrează că flavonoidele sunt într-adevăr absorbite în organismul uman, și permite măsurarea în plasma umană a flavonoidelor și a glicozizilor lor la o concentrație de 0.5-1.6 mmol/l.

Cu toate acestea prezența flavonoidelor în alimentație printr-o utilizare a dietelor bogate în legume și fructe nu duce la decelarea unor cantități semnificative a acestora în plasma umană pe de o parte datorită faptului că sunt introduse prin intermediul componentelor bioactive naturale și pe de altă parte datorită modului în care aceste componente sunt metabolizate în organismul uman.

În concluzie, un consum ridicat de legume protejează de bolile cardiovasculare, de cancer, de sindromul metabolic și degenerescența maculară, ajută la controlul tensiunii arteriale și al nivelului de colesterol și la prevenirea diverselor probleme digestive. Activitatea organismului este astfel îndreptată asupra însănătoșirii, sunt activate procesele de refacere și de întinerire.

2. Analiza antioxidantilor din probele vegetale

2.1.Colectarea și tratarea probelor de produse vegetale

Prelucrarea probelor de produse vegetale parcurge mai multe etape.

Recoltarea

Probele de produse vegetale vor fi recoltate din flora cultivată, sau spontană. Pentru fiecare produs vegetal trebuie prelevate 3 eșantioane, (colectate în general la vârsta adultă). Probele trebuie identificate, etichetate și se notează aspectul eșantionului. O parte din fiecare probă poate fi păstrată în laborator pentru eventuale verificări.

Uscarea și măcinarea

După recoltare, probele se omogenizează, se îndepărtează părțile neutilizabile, se spală cu apă deionizată, (umiditatea reziduală se evaporă la temperatura camerei) și se usucă (timp de 2 – 3 zile pe o hârtie albă). Produsele vegetale uscate, sunt măcinate în moara pentru produse vegetale până la o pulbere fină, apoi sunt omogenizate și pasate printr-o sită cu 30 ochiuri/cm².

Extracția

Solvenții organici utilizați la extracțiile componentelor active cu efect antioxidant, după comportamentul lor sunt:

- *Solvenți apolari:* care nu dizolvă antocianozide, antocianidoli, chiar la temperaturi înalte – s-a utilizat benzenul și eterul de petrol;
- *Solvenți organici polari:* dizolvă la fel de bine atât antocianidolii cât și antocianozidele, la rece; s-a utilizat metanol și etanol
- *Solvenți amfipolari:* asigură o solubilitate medie a antocianilor în comparație cu celelalte tipuri de solvenți; s-a utilizat butanol

Schema de tratare a materiei prime cu scopul extragerii compușilor cu proprietăți antioxidante (antociani, polifenoli *etc.*) include extracții succesive cu eter de petrol, benzen și alcooli (metanol și etanol). Modul de folosire al solvenților poate varia în dependență directă cu raportul componentelor din materia primă.

2.1.1. Determinarea conținutului în substanțe fenolice

Analiza substanțelor fenolice

Pentru caracterizarea și analiza substanțelor fenolice poate fi utilizată metoda Folin – Ciocâlteu.

Principiul metodei

Metoda se bazează pe proprietățile reducătoare ale polifenolilor față de molibdenul hexavalent din polifosfomolibdatul conținut de către reactivul Folin – Ciocâlteu. În mediu puternic acid molibdenul hexavalent este redus parțial de către polifenoli la stări inferioare (+4 și +5). Compușii obținuți, în mediu alcalin sunt colorați în albastru (albastru de molibden) prezentând benzi de absorbție specifice. Aceste absorbții sunt datorate benzilor de transfer de sarcină specifice metalelor tranziționale aflate la stări de valență inferioare.

Modul de lucru

Inițial se trasează curba de calibrare utilizând soluție de pirocatehol cu titru 0,03 mg/mL.

Apoi proba cu volumul de 1 – 10 mL de extract ce conține substanțe fenolice, se introduce într-un balon cotat de 100 mL. În balon se adăugă 1 mL soluție Folin – Ciocâlteu și peste 15 minute – 10 mL soluție saturată Na_2CO_3 . Soluția se diluează cu 20 mL apă și se lasă în repaos 15 min., apoi se adus la cotă cu apă distilată.

Absorbanța soluțiilor se măsoară la 670 nm. Soluția martor poate fi obținută prin diluarea a 1 mL reactiv Folin – Ciocâlteu și 10 mL Na_2CO_3 până la 100 mL cu apă distilată.

2.1.2. Determinarea capacității antioxidante a probelor de legume

Vitamina C

Acidul ascorbic (vitamina C) se determină titrimetric având în vedere faptul că acidul ascorbic este un agent reducător puternic, ce pierde ușor atomii de hidrogen, transformându-se în acid dehidroascorbic care prezintă de asemenea acțiune vitaminică. Activitatea vitaminică se pierde când ciclul lactonic al acidului dehidroascorbic este hidrolizat formându-se acidul dicetogulonic.

CHIMIA FACTORILOR DE MEDIU, IGIENĂ ȘI NUTRIȚIE

Lucrări practice – REFERAT 13

Metoda utilizată se bazează pe titrarea acidului ascorbic din extractele vegetale cu 2,6-diclorindofenolul până la apariția culorii roz persistente cel puțin 5 secunde. Stabilirea titrului soluției de 2,6-diclorindofenol se realizează cu o soluție de concentrație exactă de vitamina C proaspăt preparată și titrată în aceleași condiții ca și probele.

Activitatea antioxidantă a extractului apos a amestecului format din probele de legume recoltate, poate fi studiată prin analize în care conținutul de vitamină C este determinat titrimetric.

Pentru determinarea capacității antioxidante totale este utilizată metoda compensării cu acid ascorbic. Avantajele acestei metode constau în utilizarea unei tehnici ușor accesibile, realizarea rapidă și reproductibilitatea înaltă a rezultatelor. Cea mai importantă caracteristică a metodei constă în faptul, că în proba supusă analizei nu se adaugă nici o substanță străină.

Instalația experimentală constă din celula de măsurare I, în care se introduce soluția substanței cercetate, care mai conține solvenți, stabilizatori, modelatori de pH *etc.* (excipienți). În celula de referință II se introduce soluția – model, care conține aceiași excipienți, însă nu conține substanța cercetată. Diferența de potențial între celulele I și II va fi determinată exclusiv de proprietățile reducătoare ale substanței cercetate. În celula II se dozează soluția – etalon, care conține acid ascorbic de concentrația cunoscută și aceeași excipienți, ca și sistemul cercetat. Acidul ascorbic se adaugă până la atingerea egalității dintre potențialele celulelor I și II, semnalate de potențiomtru.

Capacitatea reducătoare sau activitatea antioxidantă (AA) a sistemului cercetat se exprimă ca un raport procentual între capacitatea antioxidantă a componentelor reducătoare din probă și cea a corespondentului cantitativ de acid ascorbic per 1 g de substanță uscată (SU).

Sensul fizic al parametrului calculat K este cantitatea acidului ascorbic, care manifestă aceleași proprietăți reducătoare, ca și 1 g din substanța respectivă.

Evaluarea potențialului activității antioxidante a legumelor

Această activitate potențial antioxidantă se discută în sensul eliberării din molecula antioxidantilor a unor protoni care să stabilizeze speciile reactive de oxigen.

Acizii sunt considerați a fi substanțe chimice care în soluție apoasă pun în libertate H^+ care se hidratează în ioni de hidroniu (H_3O^+). În procesele vegetale predomină acizii organici (citric, lactic, malic, oxalic, tartric), în produsele de origine animală – acidul lactic, fosforic. Aciditatea poate fi:

- totală – Aciditatea totală = Aciditatea fixă + Aciditatea volatilă;
- fixă – Aciditatea fixă = Aciditatea totală – Aciditatea volatilă;
- volatilă – acizi formic, acetic (volatili);
- activă (pH).

Determinarea acidității produselor vegetale se face titrimetric cu o soluție de NaOH 1N și se exprimă în:

- grade de aciditate – volumul de NaOH 1N necesar neutralizării a 100g(ml) produs;
- grade de acid predominant în produs;
- grade Thörner – volumul în ml de soluție NaOH 0,1N necesar neutralizării acidității a 100g(ml) produs.