



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI TERAMO

**P.O.R. ABRUZZO – OBIETTIVO 3 PER IL 2000/2006**  
**PROTOCOLLO DI INTESA TRA REGIONE ABRUZZO,**  
**COMITATO DI COORDINAMENTO REGIONALE DELLE UNIVERSITÀ ABRUZZESI**  
**E**  
**UFFICIO SCOLASTICO REGIONALE**  
**PER L'ATTUAZIONE DEL MACROPROGETTO**  
**INNOVAZIONE, COMPETITIVITÀ, GOVERNANCE**  
**(PROGETTO REGIONALE FORMAZIONE TECNICO SCIENTIFICA**  
**E**  
**PROGETTO IN\_CO: AZIONI INTEGRATE PER LO SVILUPPO DI**  
**“INTERMEDIARI DELLA CONOSCENZA TECNOLOGICA, ORGANIZZATIVA E GESTIONALE”)**  
**“ASSEGNI REGIONALI PER ATTIVITÀ DI RICERCA E ALTA FORMAZIONE “ IN MATERIE TECNICO**  
**SCIENTIFICHE, INTERVENTO IC4E – sotto - UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO-**

Relazione Attività periodo Gennaio- Giugno 2007

**ASSEGNISTA DI RICERCA:**

Carla Daniela Di Mattia.

**Tutor/ Responsabile Scientifico:**

Prof. Giovanna Suzzi

**Nome istituzione a cui afferisce laboratorio ospitante:**

School of Pharmacy and Biomolecular Sciences; University of Brighton, United Kingdom. Direttore della Scuola: Prof. John Smart.

**Nome e qualifica del responsabile del laboratorio ospitante:**

: Prof. Dipak Sarker, professore associato

**Durata soggiorno laboratorio ospitante:**

2 Trimestri

## **Studio di sistemi eterofasici stabilizzati da agenti emulsionanti e polifenoli: ruolo delle molecole antiossidanti nella prevenzione dei fenomeni di autossidazione in matrici emulsionate.**

### **Introduzione**

Molecole antiossidanti di origine naturale possono essere aggiunte agli alimenti allo scopo di prevenire o ritardare le reazioni di ossidazione, principale causa di deterioramento di alimenti contenenti lipidi. In sistemi eterofasici emulsionati, le molecole antiossidanti aggiunte si ripartiscono diversamente tra le fasi a seconda delle loro proprietà, andando a influenzare notevolmente le caratteristiche fisiche e chimiche del sistema e la loro stessa capacità antiossidante. L'ossidazione lipidica in alimenti multi-componenti e multi-fasici può essere considerata un fenomeno interfacciale influenzato dalla presenza di composti pro-ossidanti e antiossidanti e dalle interazioni tra le varie componenti del sistema. I fattori in grado di influenzare la cinetica di ossidazione sono molteplici e sono collegati agli aspetti fisici e strutturali del sistema, alle caratteristiche degli agenti emulsionanti usati in formulazione alla composizione della fase acquosa e della fase lipidica e a vari fattori ambientali.

L'attività di ricerca del terzo anno di dottorato ha preso in considerazione lo studio di sistemi eterofasici stabilizzati da agenti emulsionanti e polifenoli con particolare riguardo al ruolo delle molecole antiossidanti nella prevenzione dei fenomeni di autossidazione in matrici emulsionate.

### **Obiettivi della ricerca**

L'obiettivo del lavoro svolto nel periodo febbraio-giugno è stato di valutare l'effetto dell'aggiunta di molecole polifenoliche antiossidanti sulle proprietà reologiche e sulla stabilità fisica e ossidativa di sistemi modello emulsionati. In particolare sono stati presi in considerazione:

- i) se e in che modo le eventuali interazioni tra molecole antiossidanti e agenti emulsionanti all'interfaccia modificano le proprietà fisiche del sistema;
- ii) come le molecole antiossidanti possono influenzare l'ossidazione lipidica;
- iii) se e come l'attività delle molecole antiossidanti modifica le proprietà fisiche dell'emulsione e dello strato interfacciale.

### **Materiali**

Tampone fosfato, Tween 20,  $\beta$ -lattoglobulina, olio di oliva rettificato, acido gallico, catechina, quercetina, azoiniziatori.

### **Metodologie**

Misure di tensione superficiale alle interfacce aria/acqua, acqua/olio.

Misure reologiche per lo studio della viscosità e dell'elasticità delle emulsioni.

Spettroscopia di correlazione fotonica per la caratterizzazione delle particelle disperse da un punto di vista dimensionale e di carica nei sistemi emulsionati e per la valutazione della possibile interazione tra molecola polifenolica-agente emulsionante in sistemi acquosi.

Saggi colorimetrici spettrofotometrici per la determinazione del livello di ossidazione della fase lipidica (TBARs, perossidi).

### **Sintesi dei risultati ottenuti durante periodo febbraio-giugno 2007**

La prima parte del lavoro è stata dedicata allo studio della tensione superficiale delle molecole oggetto di studio all'interfaccia aria/acqua. In figura 1 sono riportate le curve di tensione superficiale di Tween 20,  $\beta$ -lattoglobulina e Tween20: $\beta$ -lattoglobulina in diversi

rapporti molari. Le curve di tensione superficiale evidenziano, come già riportato da altri autori, che le interazioni tra proteina e surfattante sono di natura complessa; è infatti possibile osservare il crossover tra le curve di Tween 20 e di Tween 20:β-lattoglobulina, indice che nelle soluzioni hanno avuto luogo fenomeni di complessazione tra proteina e surfattante, impedendo l'adsorbimento di quest'ultima molecola sull'interfaccia.

La stessa tecnica è stata usata su soluzioni acquose contenenti le molecole polifenoliche in assenza e in presenza di Tween 20, β-lattoglobulina e Tween20: β-lattoglobulina ad un rapporto molare fisso. In Figura 2 (a,b,c) sono riportati i risultati attinenti rispettivamente l'acido gallico, la catechina e la quercetina. Tenendo in considerazione che il valore di tensione superficiale di acqua pura a 25°C è pari a  $72 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ , si può concludere che le diverse molecole antiossidanti espletano un leggero effetto sulla tensione superficiale, poco dipendente dalla concentrazione delle stesse.

In presenza degli agenti emulsionanti, la tensione superficiale delle molecole antiossidanti tende a diminuire. Questo effetto è particolarmente marcato quando in soluzione è presente Tween 20, sia da solo sia associato alla proteina, indice che la molecola domina in entrambi i casi la superficie.

Sulle stesse soluzioni acquose sono state condotte prove di spettroscopia di correlazione fotonica per valutare la possibile interazione antiossidante/agente emulsionante. I risultati (non riportati) hanno messo in evidenza interazioni tra gli antiossidanti e β-lattoglobulina, in accordo con quanto riportato da altri autori, mentre nessun tipo di relazione è stato notato nel caso del Tween 20.

Oggetto di studio della seconda parte del lavoro sono stati i sistemi emulsionati, costituiti da un 20% di olio di oliva rettificato; la fase continua è costituita da tampone fosfato 50 mM, pH 7. Le emulsioni sono state caratterizzate da un punto di vista dimensionale (diametro delle gocce lipidiche disperse,  $D_{4,3}$ ) e reologico ( $G'$ ,  $G''$  e  $\eta^*$ ).

In figura 3 sono riportate le dimensioni della fase lipidica dispersa in funzione della concentrazione di Tween 20, β-lattoglobulina e Tween 20: β-lattoglobulina a diversi rapporti molari, data la concentrazione di proteina.

A parità di condizioni di emulsione, è possibile evidenziare che le dimensioni delle goccioline lipidiche disperse dipendono dalla concentrazione di surfattante; a basse concentrazioni sia di Tween 20 sia di β-lattoglobulina, le goccioline disperse hanno dimensioni piuttosto grossolane e l'emulsione che ne deriva è instabile, cioè le interfacce non sono ricoperte in quantità sufficiente da molecole tensioattive. L'instabilità di tali sistemi emulsionati è evidente se si prendono in considerazione le barre di errore piuttosto importanti (cv di circa 20%). Differenze significative sono state riscontrate nei diametri delle emulsioni contenenti entrambi gli emulsionanti in diversi rapporti molari; tale curva (▲) ha consentito la scelta del sistema modello #1 in cui sono state selezionate concentrazioni tali di Tween 20 e β-lattoglobulina in modo da ottenere in emulsione un'interfaccia contenente la molecola proteica in misura prevalente.

In figura 4 è riportato l'andamento della componente viscosa dei campioni,  $G''$  (mPa), in funzione della concentrazione degli agenti emulsionanti. Non si riscontrano differenze significative da un punto di vista reologico. Lo stesso può essere affermato per  $G'$ , componente elastica, e  $\eta^*$  (dati non riportati).

Nel sistema modello #1 (sm#1) le concentrazioni di Tween 20 e di β-lattoglobulina sono rispettivamente di  $10^{-10}\text{M}$  e  $10^{-4}\text{M}$ . A tale sm#1 sono state aggiunte quantità crescenti di antiossidanti e sono state misurate  $D_{4,3}$ ,  $G'$ ,  $G''$  e  $\eta^*$  per valutare i possibili effetti della loro presenza nel sistema. Alcuni risultati preliminari riguardo le dimensioni della fase dispersa e dei parametri reologici in sm#1 contenenti acido gallico e catechina sono illustrati rispettivamente in Figura 5 e in Figura 6. Le dimensioni della fase dispersa sono invariate nel caso dell'acido gallico mentre nel caso della catechina si assiste ad una leggera diminuzione del diametro all'aumentare della concentrazione di catechina; sembra dunque che tale molecola sia in grado di promuovere la formazione di uno strato interfacciale più robusto e resistente nei confronti della coalescenza.

Nessuna variazione significativa si evidenzia nei parametri reologici (Figura 6).

I dati riguardanti la molecola quercetina sono in fase di elaborazione.



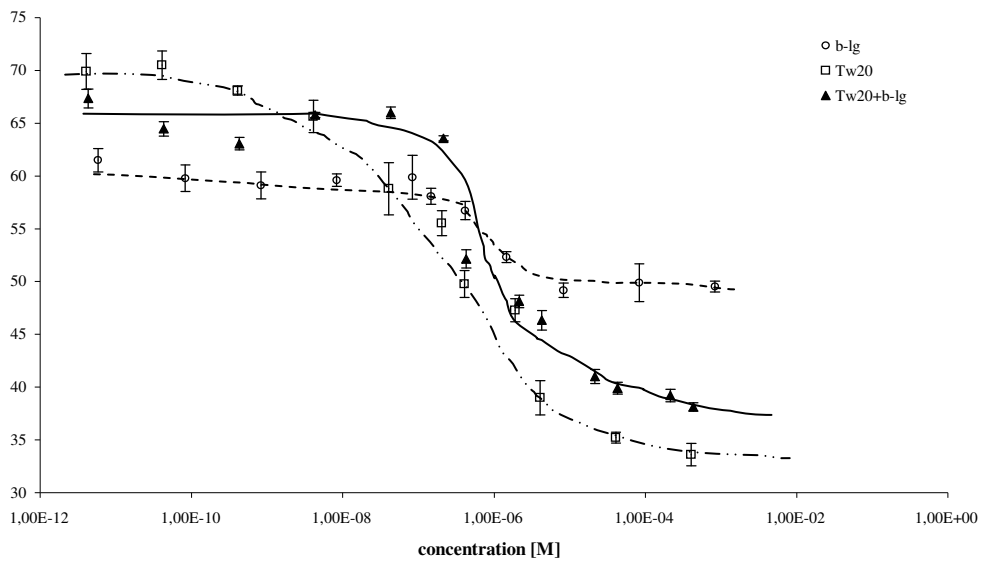


Figura 1: curve di tensione superficiale di soluzioni acquose di  $\beta$ -lattoglobulina, Tween 20 e Tween 20 in presenza di una quantità fissa di  $\beta$ -lattoglobulina ( $10^{-10}\text{M}$ ).

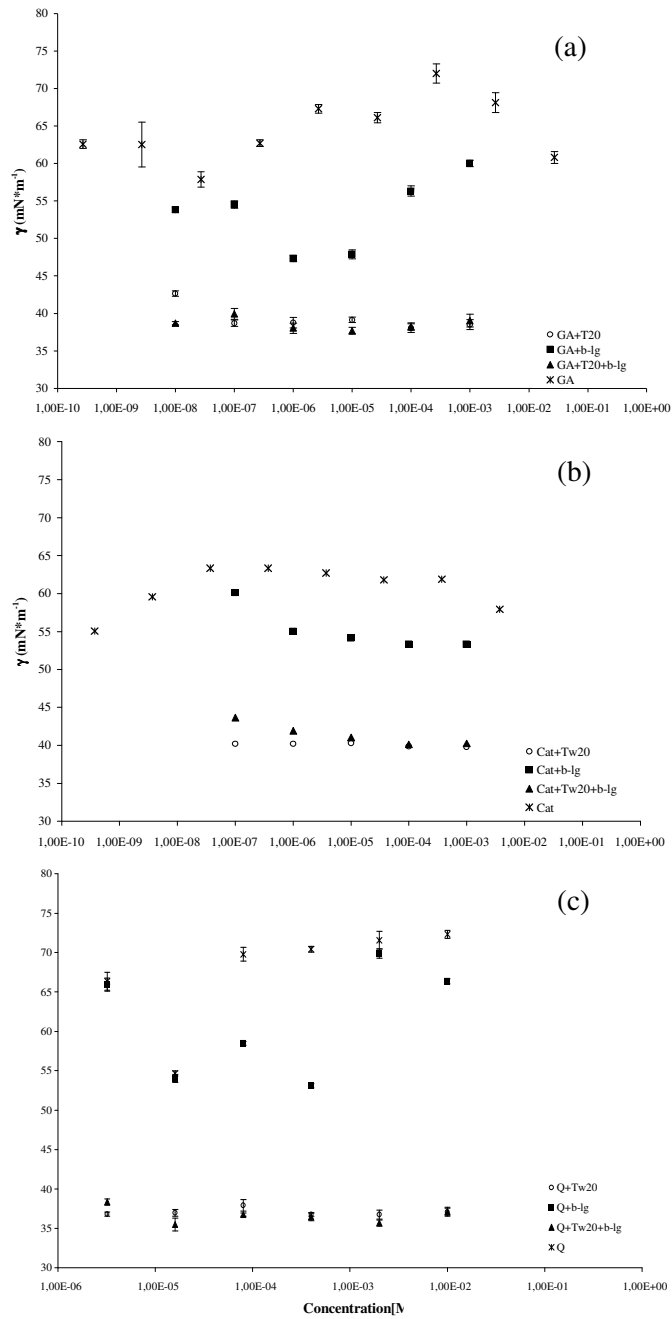


Figura 2: tensione superficiale di acido gallico (a), catechina (b) e quercetina (c) in assenza e in presenza di agenti emulsionanti.

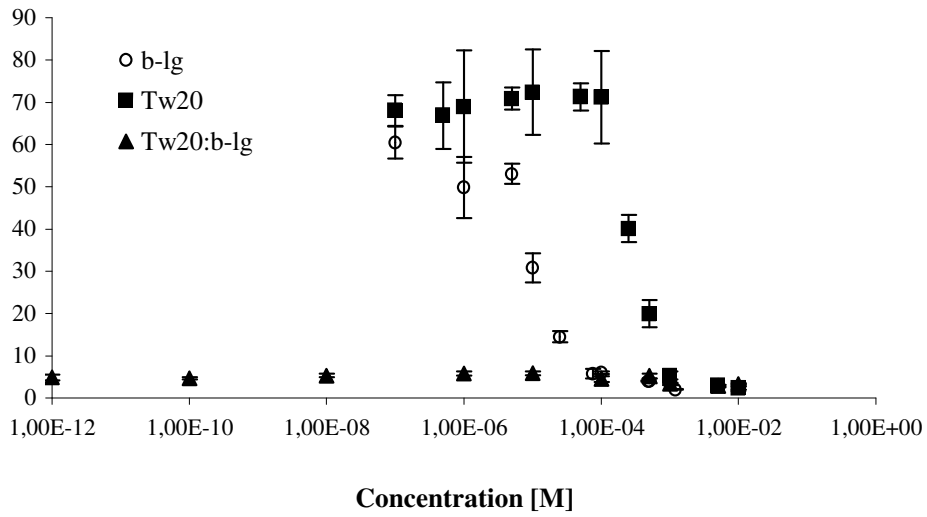


Figura 3: dimensioni della fase lipidica dispersa in funzione della concentrazione di Tween 20,  $\beta$ -lattoglobulina e Tween 20:  $\beta$ -lattoglobulina.

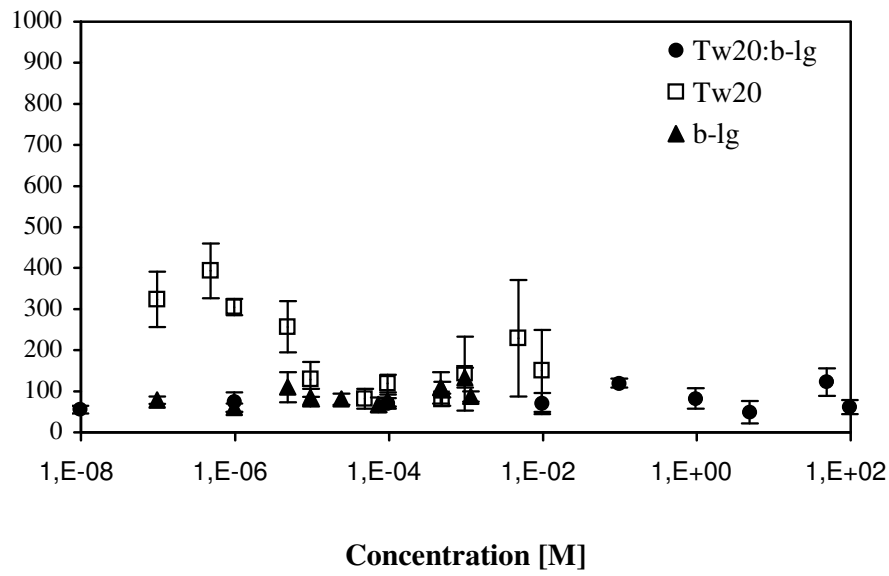


Figura 4: andamento della componente viscosa dei campioni emulsionati in funzione della concentrazione di emulsionanti.



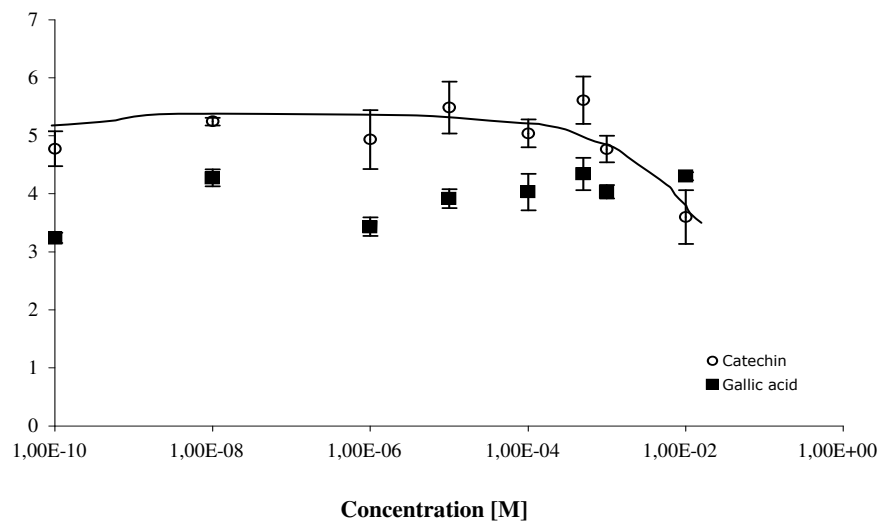


Figura 5: dimensioni della fase lipidica dispersa dei campioni emulsionati in presenza di quantità crescenti di acido gallico e catechina.

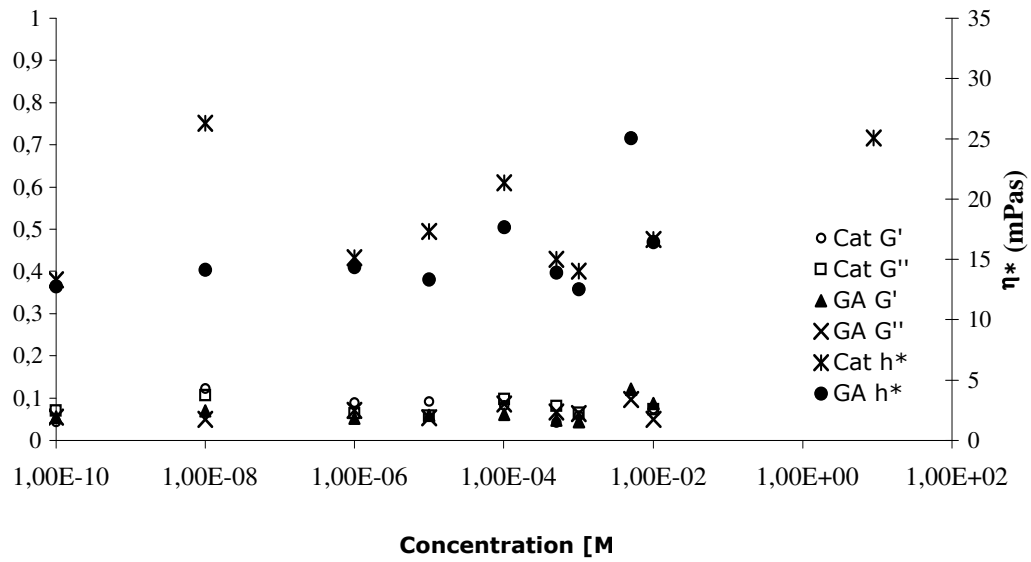


Figura 6: componente viscosa ed elastica dei sistemi emulsionati in presenza di acido gallico e catechina.