

# Perchè il succo delle centrifughe separa in strati e l'estrattore no? Quali conseguenze ha sulla qualità del succo?

Probabilmente uno dei migliori consigli che si può dare a chi deve scegliere quale elettrodomestico acquistare per fare dei succhi di frutta, è quello di verificare se una volta ottenuto il succo e versato nel bicchiere questo stratifici separando i vari componenti del succo, oppure se il succo resti perfettamente omogeneo. In questo articolo vengono presentati dei validi motivi, tratti da pubblicazioni scientifiche da [Pubmed](#), quindi della massima reputazione scientifica. Tali motivi ci inducono a preferire senza alcun dubbio, il succo che resta omogeneo, cioè un succo estratto, anziché centrifugato, non solo per il gusto, ma soprattutto per il valore nutrizionale del succo stesso.

Il succo ottenuto con la centrifuga, detto centrifugato, si separa a causa dell'azione meccanica di spremitura ad alta velocità della centrifuga. Ciò causa tra l'altro l'incorporazione nello strato superiore del succo centrifugato di un gran numero di bollicine di aria.

Tali bolle si formano come normale effetto della denaturazione delle proteine o delle sostanze pectiche durante il processo meccanico di centrifugazione che è molto violento ed è causa del normale processo fisico di formazione degli ioni positivi di idrogeno per lo più distribuiti sulla superficie e nel primo strato del succo, come facilmente osservabile ad occhio nudo e comunque come certificato scientificamente dallo studio [qui in allegato](#) e di cui alla tabella A). Ovviamente questo fenomeno causa una più veloce ossidazione del succo con conseguente denaturazione dei principi volatili oltre che delle diverse vitamine *fotosensibili e termolabili*. Inoltre le bolle di aria che si formano nel succo centrifugato possono facilmente incorporare componenti insolubili come tessuti e fibre, causando la separazione in strati.

Le sostanze pectiche sono componenti strutturali delle cellule vegetali e sono localizzate prevalentemente nella lamella mediana della parte cellulare. Si trovano principalmente nei frutti delle piante erbacee dove una certa rigidità dei tessuti sembrano giocare un ruolo nel controllo dei movimenti dell'acqua e dei fluidi, durante la crescita delle piante.

Le sostanze peptiche sono polimeri dell'acido poligalatturonico che si differenziano per il grado di metilazione dei gruppi carbossilici dell'acido. Possono essere distinte in: acidi peptici, quasi privi di gruppi metilici, acidi peptinici, parzialmente metilati, pectine, solubili in acqua, con più alto grado di metilazione.

Le sostanze pectiche sono ampiamente usate nella preparazione di prodotti farmaceutici. Fanno parte delle cosiddette fibre alimentari che possono essere usate in dietetica per prevenire l'obesità e regolarizzare la funzionalità dell'apparato gastrointestinale, inoltre agiscono efficacemente nel controllo dei livelli ematici del colesterolo. Sono presenti negli estratti, ma non nei centrifugati a causa della rottura delle cellule e conseguente liberazione del contenuto intracellulare, che avviene con il violento processo meccanico di centrifugazione.

Nei succhi preparati con l'estrattore invece, detti anche estratti, si osservavano solo poche bolle d'aria. In aggiunta la forma delle cellule nel succo preparato con l'estrattore si può distinguere chiaramente, mentre nel centrifugato non è possibile in quanto l'azione meccanica violenta data dalla velocità della centrifuga produce la distruzione della maggior parte delle cellule del succo.

Alla struttura cellulare del succo centrifugato si fissano velocemente le bolle di ossigeno dell'aria contribuendo alla separazione in strati. Questa rottura delle cellule e conseguente liberazione del contenuto intracellulare nel succo significa in termini fisici una diminuzione delle capacità nutraceutiche e quindi nutrizionali del succo, cioè in termini di linguaggio comune, della freschezza del succo oltre ad un maggiore deterioramento causato da queste inevitabili reazioni ossidative oltre che destabilizzanti sia a livello organolettico che nutrizionale.

Chiaramente com'è comprensibile anche a livello intuitivo le bolle d'aria aumentano la superficie con cui l'ossigeno può legarsi per produrre ed accelerare l'ossidazione del succo, come dimostra anche il documento scientifico che pubblichiamo in anteprima per l'Italia alla fine di questo articolo. Nell'estratto ottenuto con la spremitura a bassa velocità a 40 giri (contro le migliaia di giri al minuto dei vari modelli di centrifughe) la struttura cellulare viene invece preservata, tanto più è basso il numero dei giri. Per questa principale ragione tutti i produttori mondiali di estrattori hanno ridotto nel corso del 2015 il numero dei giri, rispetto alla precedente generazione di estrattori a 80 giri, già ridotta a sua volta dalla prima generazione di estrattori a 120-110 giri. Grazie a questa minore rotazione si riesce a produrre ancor più un succo omogeneo e di buona qualità.

Tra i molti studi che ci sono pervenuti, abbiamo trovato questo studio pubblicato in ambiente scientifico validato [pubmed](#), che evidenzia come il metodo di estrazione

influenzi la qualità e la funzionalità del succo di broccoli. Come è risaputo le [crucifere](#) ( broccoli, verze, cavoli, cavolini di bruxelles, rucola, etc.) sono ottime fornitrici per il nostro organismo di importanti antiossidanti ed enzimi (vedi il [glutazione](#)). Abbiamo scelto questo studio anche per la garanzia di neutralità, in quanto si tratta sempre della stessa azienda ( la NUC) che produce sia l'estrattore, che la centrifuga, che il frullatore.

## **Influenza del metodo di estrazione sulla qualità e funzionalità del succo di broccoli.**

*Abstract:*

*lo studio che segue è stato compiuto per comparare la qualità e la funzionalità del succo di broccoli a seconda del metodo di estrazione (comparazione tra estrazione e centrifugazione ). Il succo di un broccolo è stato estratto con tre metodologie: la prima metodologia con un estrattore della Nuc , la seconda metodologia con una centrifuga della Nuc, la terza metodologia con un mixer (frullatore), sempre della Nuc. Le proprietà qualitative del succo di broccoli sono state analizzate usando le tre diverse metodologie. Inoltre le attività antiossidative, anti cancerogene ed anti-iperlipemiche del succo di broccoli preparato con le tre diverse metodologie sono state investigate in vitro.*

*Il succo di broccoli prodotto con la prima metodologia **cioè con l'estrattore** è stato quello che conteneva la più alta quantità di polifenoli e di flavonoidi , cioè rispettivamente **1,226.24 mg/L** e **1,018.32 mg/L** . In modo particolare il succo di broccoli preparato con un estrattore, ha mostrato maggiori azione [DPPH](#) e [ABTS](#) di riduzione dei radicali liberi rispetto al succo prodotto dalla centrifuga e quello prodotto dal frullatore. Inoltre il succo di broccoli fatto con l'estrattore ha dimostrato la maggiore crescita degli effetti inibitori contro le cellule cancerogene HeLa, A549, AGS e HT29.*

*Il succo di broccoli prodotto con l'estrattore ha il più alto effetto inibitore della  $\alpha$ -glucosidasi.*

*Questi risultati indicano che ci sono delle importanti differenze sulle qualità chimiche e funzionali tra i succhi ottenuti con le diverse tecniche.*

### **INTRODUZIONE**

Il mercato corrente richiede e promuove prodotti intensivamente processati con caratteristiche somiglianti a prodotti freschi e a misure di salute preventiva tali quali diete con alti contenuti di frutta verdura (1). Frutta e verdura crude sono un importante fonte naturale di molte vitamine, minerali e polifenoli essenziali ma la lavorazione od il processo di estrazione può facilmente distruggere alcuni di questi nutrienti (2).

Inoltre le vitamine, i minerali, i polifenoli e gli enzimi che sono presenti nella frutta e verdura non cotte, sono gli stessi che si trovano nei loro succhi estratti. I succhi freschi di frutta e verdura sono generalmente percepiti come i più sani e saporiti rispetto a quelli che subiscono un processo di lavorazione. I succhi freschi possono avere sapore, fenoli totali, capacità antiossidante e fitonutrienti tali quali i flavonoidi che differiscono dai succhi ottenuti con processi di tipo industriale.(3)

Precedenti lavori hanno dimostrato come nella frutta e verdura processata risultino grosse perdite di polifenoli e flavonoidi. Comunque esistono diverse possibilità nella catena di produzione dei succhi per accrescere il contenuto in flavonoidi dei succhi di frutta e verdura (4.5.). Di conseguenza ogni tipo di metodo di estrazione può avere le sue particolari caratteristiche in termini concentrazione delle componenti bioattive così come della qualità del succo (6).

I broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), un raccolto vegetale che appartiene alla famiglia delle Brassicaceae è ampiamente consumato tutto l'anno come una verdura fresca nell'Europa occidentale, negli Usa e nei paesi dell'estremo oriente asiatico (7). Il broccolo è conosciuto come il "gioiello della corona della nutrizione" a causa della sua ricchezza in vitamine, l'alto contenuto di fibra e le basse proprietà caloriche. I germogli di broccolo contengono quote sostanziali di antiossidanti, vitamina C, carotenoidi e componenti fenoliche (8). Il broccolo è anche ricco di sulforafano, un fitochimico con proprietà anticancerogene (9.10.). Il sulforafano dimostra proprietà antiossidanti che prevengono malattie multiple, compresi diversi tipi di cancro, alta pressione sanguigna, degenerazione maculare ed ulcere allo stomaco (11.12.). Gli obiettivi di questo studio sono di investigare i cambiamenti nella qualità nella funzionalità della stessa partita di broccoli, dovuta alle differenze dei metodi di estrazione. Il succo di broccolo è stato estratto utilizzando tre diverse tipologie di macchinari e quindi analizzato per le sue proprietà qualitative e funzionali (effetti antiossidativi, anticancerogeni e anti-iperglicemici).

## **I MATERIALI ED I METODI**

### **I materiali**

Tutte le sostanze chimiche sono state acquisite dalla Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA), ove non diversamente indicato. I reagenti per la cultura cellulare sono stati acquistati dalla Gibco BRL (Rockville, MD, USA) ed il siero fetale bovino (FBS) è stato acquisito dalla Hyclone (Logan, UT, USA). Tutte le linee cellulari sono state acquisite dalla coreana Cell Line Bank (Seoul, Korea).

### **La preparazione del succo di broccoli**

I Broccoli sono stati acquistati sul mercato sudcoreano. I Broccoli (100 gr) sono stati tagliati e trasformati in succo di broccoli usando un estrattore KNJ-992250W, NUC

Electronics Co., Ltd., Daegu, Korea, una centrifuga NJ-9300A, NUC Electronics Co., Ltd., ed un frullatore manuale NFM-3003; NUC Electronics Co., Ltd. sotto le seguenti condizioni operative:

*Estrattore (metodo I)*: i broccoli sono stati torchiati da un torchio rotante alla velocità di 80 g/min. Il succo di broccoli è stato estratto passando attraverso un filtro a  $0.35 \pm 0.05$  mm.

*Centrifuga (metodo II)*: Una centrifuga spremiagrumi taglia il broccoli con una lama da taglio piatta rotante alla velocità di 15.000 giri al minuto, per separare il succo dalla polpa.

*Frullatore manuale (metodo III)*: i broccoli sono stati spremuti con un frullatore ad immersione. L'intero campione è stato utilizzato senza separare il succo dalla polpa.

#### **Analisi qualitativa**

Il contenuto di umidità dei campioni di succo di broccoli

Sono stati misurati utilizzando una bilancia di determinazione di umidità FD-720, Kett Electric Lab., Tokyo, Japan. I solidi solubili totali (ovvero il grado di Brix) Sono stati misurati usando un refrattometro manuale PAL-3, Atago, Tokyo, Japan. La resa di succo è stata determinata ed espressa come una percentuale sul peso dei broccoli. Il colore del succo di broccoli è stato determinato utilizzando un metro di colori CR-400, Minolta Holdings Ltd., Tokyo, Japan Con le seguenti condizioni operative:

- Luce: D65
- Misurazione su una superficie di 8 mm
- È stata registrata la media di tre valori
- Sistema colorimetro: L, a, e b.
- 

#### **Determinazione dei polifenoli e flavonoidi totali**

La concentrazione dei polifenoli e flavonoidi totali è stata misurata utilizzando il metodo Folin-Denis (13) Ed il metodo è stato descritto rispettivamente da Nieva Moreno et al. (14). I contenuti di polifenoli e flavonoidi sono stati espressi come Acido tannico e Quercetina molare equivalente, rispettivamente.

#### **Riduzione dei radicali liberi**

L'attività di riduzione dei radicali liberi del campione è stata misurata utilizzando  $\alpha$ - $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH). Questo test è stato tratto come descritto da Blois (15) con alcune modifiche. Brevemente, 0.15 mM soluzione di DPPH• radicale preparata in etanolo e 40  $\mu$ L di questa soluzione è stata aggiunta a 160  $\mu$ L Della soluzione campione in etanolo a diverse concentrazioni. Dopo 30 min, l'assorbimento è stato misurato a 517 nm. Un minore assorbimento della miscela di reazione indica una più alta attività di riduzione dei radicali liberi. La reazione di riduzione dei radicali liberi di ogni soluzione è stata poi calcolata come percentuale di inibizione in accordo con la seguente equazione:

$$[(A_o - A_e) / A_o] \times 100$$

(A<sub>o</sub>=Assorbimento senza succo di broccoli, A<sub>e</sub>=Assorbimento con succo di broccoli).

L'analisi spettrofotometrica di ABTS+• riduzione dell'attività dei radicali È stata determinata secondo il metodo di Re e al. (16). L' ABTS+• Catione radicale è stato prodotto da una reazione fra 7 mM ABTS in H<sub>2</sub>O e 2.45 mM persulfato di Potassio Durante un immagazzinamento al buio a temperatura ambiente per ventiquattr'ore. Prima dell'uso la Soluzione ABTS+• È stata diluita con un tampone di fosfato (0.1 M, pH 7.4) per ottenere un assorbimento di 0.70±0.02 at 732 nm. Poi, una soluzione di 990 µL of ABTS+• è stata aggiunta ad un campione di 10 µL. Dopo 1 min, la percentuale di inibizione a 732 nm è stata calcolata per ogni concentrazione relativa all'assorbimento a vuoto.

#### **Cultura cellulare.**

Cancro cervicale umano (HeLa), Cancro al fegato umano (HepG2), Cancro al polmone umano (A549), Cancro allo stomaco umano (AGS), Cancro al seno umano (MDA-MB-231), Cancro al colon umano (HT-29) e le normali cellule di fegato umano (Chang) in 100 µL del Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) 1640 media (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) aumentato con il 10% di penicillina FBS, 100 U/mL , e 100 µg/mL di streptomina. Tutte le cellule sono state incubate di notte alla temperatura di 37°C in 5% CO<sub>2</sub> per l'adesione cellulare.

#### **Test MTT**

Questo test è stato condotto come descritto da Carmichael e al. (17). Brevemente, le cellule cancerogene sono state seminate in 96-pozzetti plates ad una densità di 1×10<sup>4</sup> cellule/pozzetto in un mezzo 100 µL RPMI. Dopo ventiquattr'ore il mezzo è stato rimosso e le cellule sono rimaste incubate per ventiquattr'ore con RPMI in assenza o presenza di un 5% (v/v) di succo di broccoli. Dopo l'incubazione, è stato aggiunto 5 mg/mL di reagente MTT ad ogni pozzetto, ed i piatti sono stati incubati di nuovo per quattro ore in un incubatore di CO<sub>2</sub> a 37°C. È stato aggiunto DMSO (100 µL) a ciascun pozzetto per dissolvere le cellule. I piatti sono stati tenuti a temperatura ambiente per 10 min, E l'assorbimento è stato misurato a 550 nm usando uno spectrophotometro multi-pozzetto (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA).

$$\text{Tasso di crescita inibitoria (\%)} = (1 - S/C) \times 100$$

S: O.D. del campione, C: O.D. di controllo

#### **Test di inibizione α-Glucosidasi**

L'attività inibitoria α-Glucosidasi è stata valutata con il metodo su micropiastra usando come substrato p-nitro-phenyl-α-D-glucopyranoside (PNPG)

Comethe substrate (18).  $\alpha$ -Glucosidase (50  $\mu$ L, 0.2 U/mL), PNPG (100  $\mu$ L, 12 mM), sample (50  $\mu$ L, 10% (v/v)), e tampone di fosfato di potassio (50  $\mu$ L, 0.1 M, pH 6.8), mixati e preincubati a 37°C per 20 min. La reazione è stata terminata aggiungendo 100  $\mu$ L di soluzione 0.1 M NaOH, e l'assorbimento è stato misurato a 405 nm. Acarbosio è stato utilizzato come controllo positivo.

Attività di inibizione  $\alpha$ -Glucosidasi (%) =  $(1 - S/C) \times 100$

S: O.D. del campione, C: O.D. di controllo

### Analisi statistica

I dati sono espressi come  $\pm$  media deviazione standard di almeno tre esperimenti separati. Le analisi statistiche sono state eseguite con un'analisi unidirezionale della varianza seguita da un Test di gamma multipla di Duncan usando la versione SPSS 17.0 per Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Una  $P < 0.05$  è stata considerata statisticamente significativa.

## Risultati e discussione

### Caratteristiche qualitative

La resa, il contenuto di umidità, ed il contenuto di solidi solubili del succo di broccoli sono mostrati nella seguente Tabella 1.

**Tabella 1**

Proprietà qualitative del succo di broccoli fatto con i tre diversi metodi

Metodo	Resa (%)	Brix (°Bx)	Umidità(%)
Metodo I	45.50	4.8	95.19
Metodo II	42.75	4.2	96.51
Metodo III	100.00	4.7	91.91

1)Metodo I: ESTRATTORE; Metodo II: CENTRIFUGA; Metodo III: FRULLATORE MANUALE.

La resa del succo di broccoli estratto col metodo I (ESTRATTORE), metodo II (CENTRIFUGA), e metodo III (FRULLATORE MANUALE) sono 45.50, 42.75, e 100.00% rispettivamente. L'ordine del contenuto di umidità secondo il metodo di estrazione è metodo II > metodo I > o metodo III, mentre il contenuto di Brix (solidi solubili) è metodo II < metodo III < metodo I. valori del colore del succo di broccoli preparato utilizzando le tre diverse metodologie Sono mostrati nella Tabella 2. I valori di L, a, e

b Nel succo di broccoli sono 25.36~26.61, -4.91~-3.85, and 5.93~8.07. Non è stata osservata nessuna differenza dei valori di colore tra i tre diversi metodi.

**Tabella 2**

Colore del succo di broccoli fatto con i tre diversi metodi

Valore di colore di Huter			
Metodi	L	a	b
Metodo I	26.61±0.18 <sup>ns5)</sup>	-3.85±0.09 <sup>ns</sup>	5.93±0.17 <sup>ns</sup>
Metodo II	25.89±1.46	-4.91±0.25	7.15±0.31
Metodo III	25.36±0.94	-4.52±1.51	8.07±1.96

1) Metodo I: ESTRATTORE; Metodo II: CENTRIFUGA; Metodo III: FRULLATORE MANUALE.

2) valore L (0: Nero, 100: Bianco).

3) valore a (+: Rosso, -: Verde).

4) valore b (+: Giallo, -: Blu).

5) Ogni valore è medio SD ± (n≥3).

ns: non significativo

### **Determinazione dei polifenoli totali e del contenuto di flavonoidi nel succo di broccoli**

I composti fenolici sono metaboliti secondari diffusi nelle piante. I Fenoli hanno strutture e pesi molecolari diversi e sono per lo più composti da flavonoidi. I composti fenolici contengono gruppi ossidrilici fenolici funzionali (OH) che si legano facilmente alle proteine ed alle macromolecole ed hanno attività antiossidante, anticancerogena e varie altre attività fisiologiche (19). I flavonoidi sono uno di più diversi e diffusi gruppi di composti naturali che prevengono la caduta dei denti, sopprimono l'ipertensione ed hanno effetti sbiancanti, anti-AIDS, anticancerogeni, ed anti-ossidati. (20).



I polifenoli totali ed il contenuto di flavonoidi nel succo di broccolo preparato utilizzando i tre diversi metodi sono stati misurati usando rispettivamente acido tannico e coerchetina, come composti standard (Tabella 3). Il contenuto di Polifenoli totali dei succhi di broccoli variavano da 723.79 a 1,226.24 mg/L ed il contenuto di flavonoidi variava da 601.64 a 1,018.32 mg/L. Particolarmente, il succo di broccoli preparato con il metodo I, cioè con l'estrattore mostrava il più alto contenuto di polifenoli totali e flavonoidi.

**Tabella 3**

Contenuto di polifenoli totali e flavonoidi nel succo di broccoli fatto con i tre differenti metodi

Metodi	Polifenoli Totali (mg/L)	Flavonoidi Totali (mg/L)
Metodo I	1,226.24±36.74a <sup>4)</sup>	1,018.32±57.80a
Metodo II	724.37±48.05b	616.64±26.44b
Metodo III	723.79±47.44b	601.71±66.99b

1) Metodo I: ESTRATTORE; Metodo II: CENTRIFUGA; Metodo III: FRULLATORE MANUALE.

2) Milligrammi di contenuto di polifenoli totali L di succo basati sull'acido tannico come da standard.

3) Milligrammi di contenuto di flavonoidi L di succo basati sulla quercetina come da standard.

4) Ogni valore è mediamente ±SD.

I valori con diversi esponenti all'interno della stessa colonna sono significativamente diversi dal test a intervallo multiplo di Duncan a  $P < 0.05$ .

#### **Attività di riduzione dei radicali liberi**

I radicali liberi sono stati implicati nella patogenesi di molte malattie, inclusa l'ischemia cerebrale e miocardica, arteriosclerosi, diabete, artrite reumatoide, infiammazione, inizio del cancro, e l'invecchiamento (21).

Il DPPH viene ridotto dall'acido L-ascorbico (L-AsA), tocoferolo e composti aromatici poliossidrilici, e si presenta di colore purpureo scuro, che trova applicazione frequentemente per lo screening di sostanze antiossidanti da vari materiali naturali. L'effetto di riduzione del succo di broccoli sui radicali DPPH e gli antiossidanti

naturali/sintetici come il butilidrossianisolo (BHA) e L-ASA è stato confrontato con i tre diversi metodi di estrazione del succo (figura 1). L'effetto di riduzione del 10% (v/v) di succo di broccoli fatto con i metodi I e II sui radicali DPPH è stato rispettivamente del 52% e del 17%. L'effetto di riduzione aumentava dopo l'esame della relazione fra il contenuto di polifenoli e l'attività di riduzione dei radicali liberi.

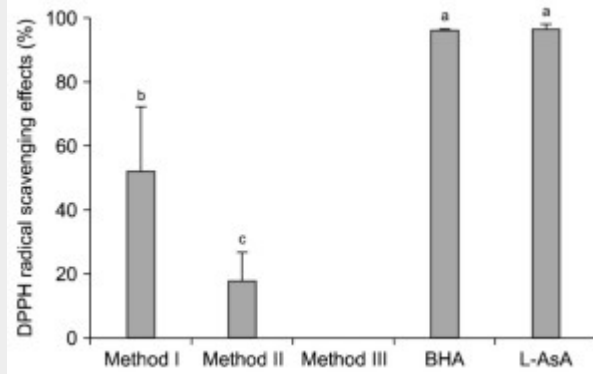


Fig. 1 Riduzione dei radicali liberi con i diversi metodi di estrazione

Figura 1.

Gli effetti della riduzione dei radicali DPPH del succo di broccoli fatto con i tre diversi metodi. Succo di Broccoli: 10% (v/v), BHA e acido ascorbico: 10 µg/mL. t-Butylatedhydroxyanisolo (BHA) e acido L-ascorbico (L-AsA) sono stati usati a riferimenti positivi. Ogni valore è media ± SD. I valori con diverse lettere sulle barre sono significativamente diversi dal test a intervallo multiplo di Duncan a P <0,05.

Il sistema ABTS è stato comunemente usato per misurare lo stato totale antiossidativo di vari campioni biologici, misurando la riduzione dei radicali attraverso la dazione dell'elettrone (22).

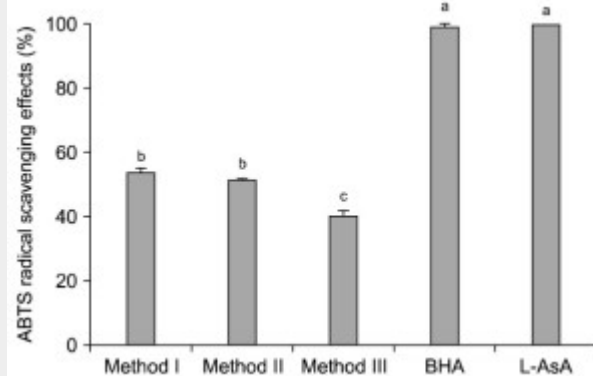


Figura 2

L'attività antiradicalica ABTS del succo di broccoli attraverso i tre differenti metodi di estrazione è mostrato nella figura 2.

Nonostante i risultati del test ABTS fossero simili a quelli del test DPPH, il succo di

broccoli ha mostrato maggiore attività antiradicalica dei radicali ABTS rispetto ai radicali DPPH.

Succo di broccoli : 1% (v/v), BHA e acido L-ascorbico: 10 µg/mL. t-

Butylatedhydroxyanisolo (BHA) e acido L-ascorbico (L-AsA) sono stati usati a riferimenti positivi. Ogni valore è su media  $\pm$ SD. I valori con diverse lettere sulle barre sono significativamente diversi dal test a intervallo multiplo di Duncan a  $P < 0,05$ .

### Attività anticancro

L'attività anticancro del succo di broccoli preparato usando i tre diversi metodi è stata investigata utilizzando il test MTT e diverse linee di cellule di cancro umano (cellule HeLa, HepG2, A549, AGS, MDA-MB-231, and HT-29) e linee di cellule normali (Chang). Il test MTT misura formazano viola convertito dal reagente MTT da succinato deidrogenasi, un enzima mitocondriale delle cellule in vivo. Il formazano prodotto è direttamente proporzionale al numero di cellule vitali presenti(23).

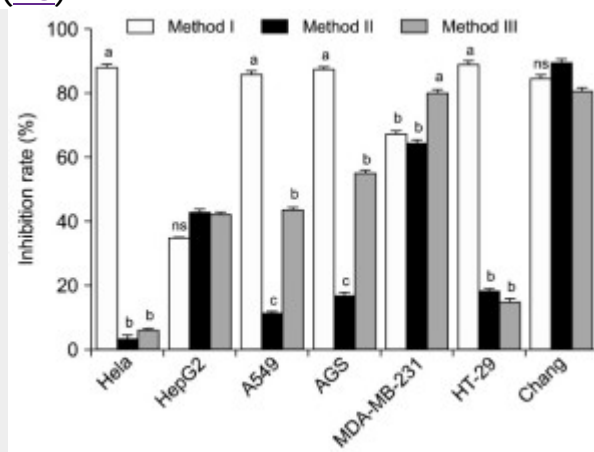


Figura 3

Come mostrato nella figura 3. il succo di broccoli ha espresso attività inibitoria contro le sei linee di cellule cancerogene testate in una soluzione al 5% (v/v). Particolarmente il succo di broccoli preparato col metodo I (Estrattore) ha dimostrato forte attività anticancerogena verso le cellule HeLa, A549, AGS, and HT-29. Inoltre i risultati mostrano che il succo di broccoli preparato con il metodo I, metodo II e metodo III non hanno una significativa inibizione della crescita delle cellule contro le cellule del fegato umano (Chang).

Effetti di inibizione alla crescita del succo di broccoli fatto con i tre diversi metodi contro cellule umane cancerogene e contro normali cellule umane.

Succo di Broccoli: 5% (v/v). Ogni valore è su media  $\pm$ SD.

I valori con diverse lettere fra i diversi metodi sono significativamente diversi dal test a intervallo multiplo di Duncan a  $P < 0,05$ . . ns: non significativo.

### Attività inibitoria dell' $\alpha$ -Glucosidasi

Inibire l' $\alpha$ -glucosidasi è un approccio terapeutico alternativo per il trattamento del diabete mellito non insulino-dipendente, perché questi enzimi chiave sono coinvolti nella decomposizione dell'amido e l'assorbimento intestinale. La digestione e l'assorbimento dei carboidrati diminuisce significativamente inibendo l' $\alpha$ -glucosidasi, che riduce i livelli di glucosio nel sangue postprandiale nei pazienti con diabete

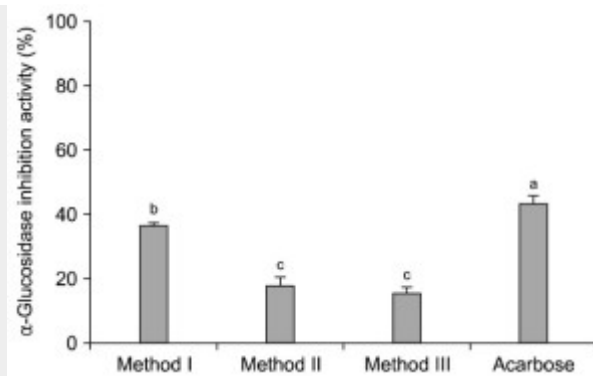


Figura 4. Attività inibitoria dell' $\alpha$ -Glucosidasi del succo di broccoli fatto con i 3 diversi metodi di estrazione. Succo di Broccoli : 10% (v/v), Acarbosio: 5 mg/mL. Ogni valore su media  $\pm$ SD.

mellito non insulino-dipendente(24). L'Acarbosio è attualmente utilizzato come inibitore dell' $\alpha$ -glucosidasi. L'Acarbosio in dose di 5 mg/mL può inibire l'attività  $\alpha$ -glucosidasi di circa il 45%. Shai e al. (25) riportava un valore IC50 di 0.6 U nella miscela di reazione di 17 mg/mL di acarbosio contro lievito  $\alpha$ -glucosidasi; Questa disparità è risultato di diverse concentrazioni degli enzimi (0.2 U in questo studio). Le attività di inibizione  $\alpha$ -Glucosidasi del 10% (v/v) di succo di broccoli fatto con il Metodo I, Metodo II, e Metodo III sono rispettivamente 36, 18, e 15%. (Fig. 4). Un'importante attività dei polifenoli è l'inibizione degli enzimi digestivi, soprattutto degli enzimi carboidrati idrolizzanti come l' $\alpha$ -glucosidasi; gli inibitori di questi enzimi digestivi sono in grado di ritardare la digestione dei carboidrati, causando una riduzione del tasso di assorbimento del glucosio. Efficaci polifenoli-tipo inibitori dell' $\alpha$ -glucosidasi inibitori da risorse naturali sono stati segnalati per essere utile nel ridurre l'iperglicemia post-prandiale(26). I risultati indicano che tra i diversi metodi di estrazione del succo di broccoli, il metodo I (Estrattore) è il migliore per l'inibizione ottimale dell'attività  $\alpha$ -glucosidasi.

In conclusione i nostri risultati indicano che il metodo di estrazione o influenzare la qualità e le proprietà funzionali del succo di broccoli. Particolarmente, il succo di broccoli preparato utilizzando il metodo I, cioè quello utilizzando l'estrattore, Mostra maggiori attività antiossidanti, anticancerogene e anti-diabetiche, rispetto ai succhi preparati con il metodo II e III.

## *Referenze*

1. Arts IC, Hollman PC. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:317–325. [[PubMed](#)]
2. Lee BH, Kim SY, Cho CH, Chung DK, Chun OK, Kim DO. Estimation of daily per capita intake of total phenolics, total flavonoids, and antioxidant capacities from fruit and vegetable juices in the Korean diet based on the Korea national health and nutrition examination survey 2008. *Korean J Food Sci Technol.* 2011;43:475–482.
3. Perez-Cacho PR, Rouseff R. Processing and storage effects on orange juice aroma: a review. *J Agric Food Chem.* 2008;56:9785–9796. [[PubMed](#)]
4. Van der Sluis AA, Dekker M, Skrede G, Jongen WM. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice, 1. Effect of existing production methods. *J Agric Food Chem.* 2002;50:7211–7219. [[PubMed](#)]
5. Van der Sluis AA, Dekker M, Skrede G, Jongen WM. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice, 2. Effect of novel production methods. *J Agric Food Chem.* 2004;52:2840–2848. [[PubMed](#)]
6. Nogata Y, Ohta H, Sumida T, Sekiya K. Effect of extraction method on the concentrations of selected bioactive compounds in mandarin juice. *J Agric Food Chem.* 2003;51:7346–7351. [[PubMed](#)]
7. Rosa EAS, Rodrigues AS. Total and individual glucosinolate content in 11 broccoli cultivars grown in early and late season. *Hort Science.* 2001;36:56–59.
8. Jeffery EH, Brown AF, Kurilich AC, Keck AS, Matusheski N, Klein BP, Juvik JA. Variation in content of bioactive components in broccoli. *J Food Compos Anal.* 2003;16:323–330.
9. Fahey JW, Zhang Y, Talalay P. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:10367–10372. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)]
10. Force LE, O'Hare TJ, Wong LS, Irving DE. Impact of cold storage on glucosinolate levels in seed-sprouts of broccoli, rocket, white radish and kohlrabi. *Postharvest Biol Technol.* 2007;44:175–178.
11. Gao X, Dinkova-Kostova AT, Talalay P. Powerful and prolonged protection of human retinal pigment epithelial cells, keratinocytes, and mouse leukemia cells against oxidative damage: The indirect antioxidant effects of sulforaphane. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:15221–15226. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]

12. Zhang Y. Role of glutathione in the accumulation of anticarcinogenic isothiocyanates and their glutathione conjugates by murine hepatoma cells. *Carcinogenesis*. 2000;21:1175–1182. [[PubMed](#)]
13. Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem*. 1912;12:239–243.
14. Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol*. 2000;71:109–114. [[PubMed](#)]
15. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199–1200.
16. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999;26:1231–1237. [[PubMed](#)]
17. Charmichael J, Degraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay, assessment of chemosensitivity testing. *Canc Res*. 1987;47:936–941. [[PubMed](#)]
18. Matsui T, Ueda T, Oki T, Sugita K, Terahara N, Matsumoto K.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. *J Agric Food Chem*. 2001;49:1948–1951. [[PubMed](#)]
19. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*. 1996;20:933–956. [[PubMed](#)]
20. Zhao MM, Yang B, Wang JS, Li BZ, Jiang YM. Identification of the major flavonoids from pericarp tissues of lychee fruit in relation to their antioxidant activities. *Food Chem*. 2006;98:539–544.
21. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*. 1993;262:689–695. [[PubMed](#)]
22. Rufian-Henares JA, Morales FJ. Functional properties of melanoidins: In vitro antioxidant, antimicrobial, and antihypertensive activities. *Food Res Int*. 2007;40:995–1002.
23. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Meth*. 1983;65:55–63. [[PubMed](#)]
24. Puls W, Keup U, Krause HP, Thomas G, Hoffmeister F. Glucosidase inhibition. A new approach to the treatment of diabetes, obesity, and hyperlipoproteinaemia. *Naturwissenschaften*. 1977;64:536–537. [[PubMed](#)]
25. Shai LJ, Masoko P, Mokgotho MP, Magano SR, Mogale AM, Boaduo N, Eloff JN. Yeast alpha glucosidase inhibitory and antioxidant activities of six medicinal plants collected in Phalaborwa, South Africa. *S Afr J Bot*. 2010;76:465–470.
26. Gao H, Huang YN, Gao B, Xu PY, Inagaki C, Kawabata J.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory effect by the flower buds of *Tussilago farfara* L. *Food Chem*. 2008;106:1195–1201.