



Attività antiossidante di estratti fenolici di olive da mensa commerciali di diverse varietà e ottenute con diversi metodi di trasformazione

Monica Deiana¹, Gabriele Serreli¹, Alberto Angioni², Marco Campus³, Emanuele Cauli³, Piergiorgio Sedda³, Roberto Zurru³

¹Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Cagliari, Cagliari

²Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università di Cagliari, Cagliari

³AGRIS Sardegna - Agenzia Regionale per la Ricerca in Agricoltura, Sassari, Italy

*psedda@agrisricerca.it

Le olive da tavola sono una fonte importante di composti biologicamente attivi come i polifenoli, che sono in parte responsabili della stabilità delle olive all'ossidazione e delle loro caratteristiche organolettiche. I polifenoli possiedono svariate proprietà farmacologiche e svolgono un ruolo importante nella prevenzione delle più comuni patologie degenerative, grazie alla loro azione di agenti antiossidanti e di messaggeri regolatori delle principali vie di segnalazione intracellulare. In questo lavoro è stata valutata la capacità degli estratti fenolici di olive di diverse cultivar, lavorate "Al naturale", ovvero lavorate con il Metodo Sivigliano e Californiano e riferibili anche a diverse cultivar (Tabella 1), di disattivare le specie reattive in un sistema in vitro cell free, durante l'ossidazione di un acido grasso puro, l'acido linoleico. Inoltre, è stata valutata l'attività protettiva di questi estratti in colture di cellule intestinali umane (Caco-2), come capacità di inibire la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) indotta da un agente proossidante, il tert-butil idroperossido (TBH).



Fig. 1 Itrana

| Codice | Cultivar | Metodo di trasformazione | Provenienza |
|--------|----------------------|--------------------------|-------------|
| TC | Tonda di Cagliari | "al naturale" | Sardegna |
| PC | Pizz'e Carroga | "al naturale" | Sardegna |
| LE | Leccino | "al naturale" | Puglia |
| IT | Itrana | "al naturale" | Lazio |
| NMN | Nocellara messinese | "al naturale" | Sicilia |
| NMS | Nocellara messinese | Sivigliana | Sicilia |
| NB | Nocellara del Belice | "al naturale" | Sicilia |
| NBC | Nocellara del Belice | Castelvetrano | Sicilia |
| BCA | Bella di Cerignola | Sivigliana | Puglia |
| BCB | Bella di Cerignola | Sivigliana | Puglia |
| CK | Chalkidiki | Sivigliana | Grecia |
| HJA | Hojiblanca | Californiana | Spagna |
| HJB | Hojiblanca | Californiana | Spagna |

Tab. 1 Selezione di varie cultivar di olive da tavola provenienti da diverse regioni e trasformate con diversi metodi.

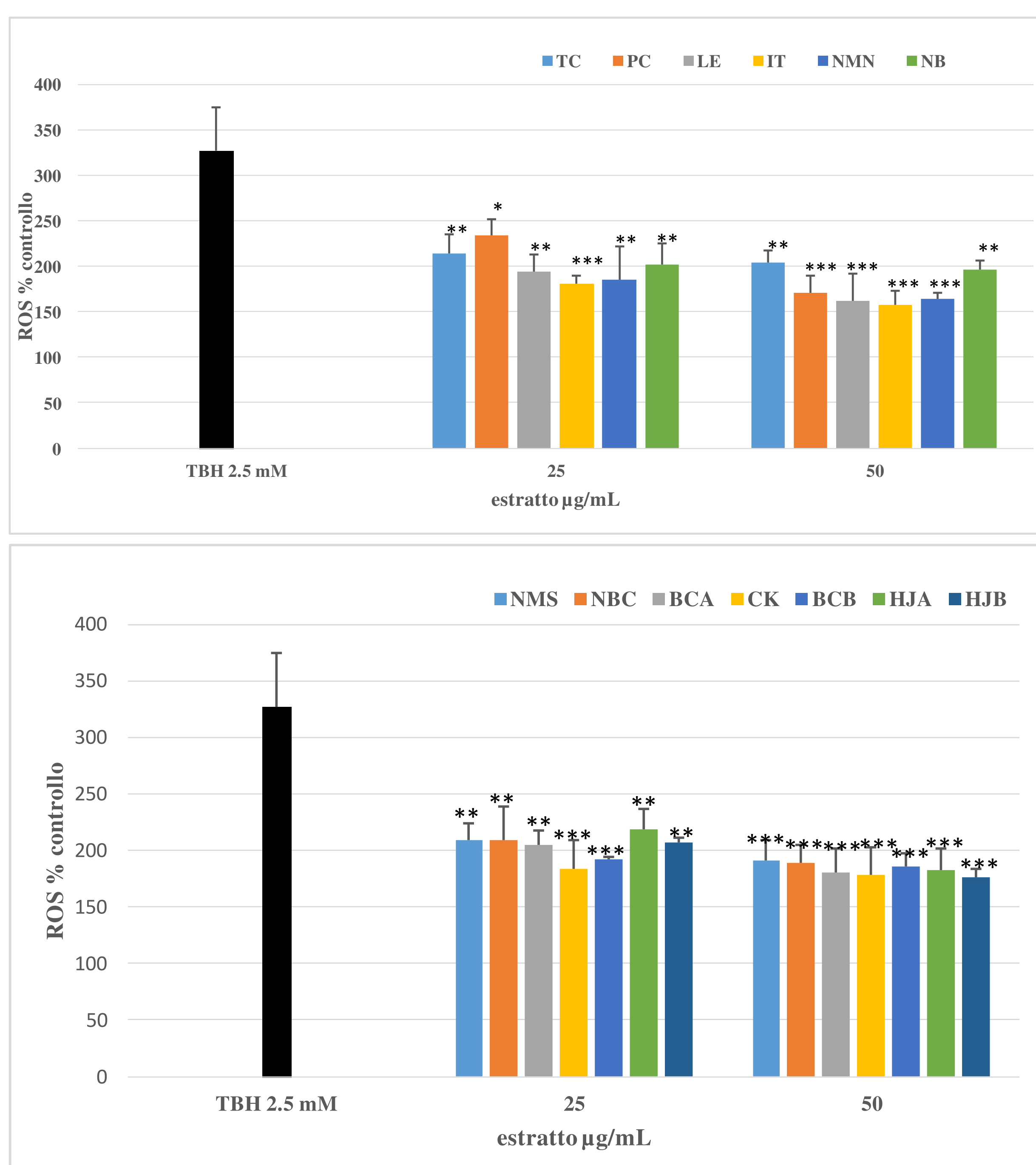


Fig. 3. Produzione di ROS (espressa come % del controllo), misurata in cellule Caco-2 dopo 120 minuti di incubazione con TBH 2.5 mM e trattate con differenti concentrazioni di estratti fenolici di olive (25-50 µg/mL), (n=6). ***p < 0.001, **p < 0.01, *p < 0.05 rispetto a TBH 2.5 mM.

METODI

Ossidazione dell'acido linoleico: L'acido linoleico è stato ossidato a secco per 32 ore a 37°C. Il grado di ossidazione è stato valutato monitorando il consumo dell'acido grasso nel tempo. Brevemente, a 500 µL di acido linoleico in MeOH (1mg/mL) in tubi di vetro sono stati aggiunti gli estratti di olive (concentrazione finale 25-50 µg/mL). Dopo agitazione i campioni sono stati portati a secco e messi ad incubare a 37°C per 32 ore in un bagnetto termostato. Successivamente, i campioni sono stati raffreddati e risospesi in acetonitrile acidificato per la lettura in HPLC (Deiana et al. Food Chem Toxicol, 48, 3008-3016, 2010).

Misura della produzione di ROS: Le cellule intestinali Caco-2 differenziate sono state fatte crescere sino a confluenza (14 giorni); sono state quindi pretrattate con differenti concentrazioni di estratti fenolici delle varie cultivar (concentrazione finale 25-50 µg/mL per 30 min) prima di indurre la produzione di ROS aggiungendo il TBH alla concentrazione di 2.5 mM. La produzione di ROS è stata valutata tramite l'utilizzo della sonda fluorescente 2',7'-diclorofluoresceina e il plate reader Infinite 200, Tecan (Salzburg, Austria), impostando la lunghezza d'onda di eccitazione e di emissione a 490nm e 520nm rispettivamente (Dinicola et al., Br J Nutr, 110, 797-809, 2013).

Per l'analisi statistica tra i diversi gruppi di dati (one-way ANOVA) è stato utilizzato il programma GraphPAD INSTAT (GraphPAD software; San Diego, CA, USA).

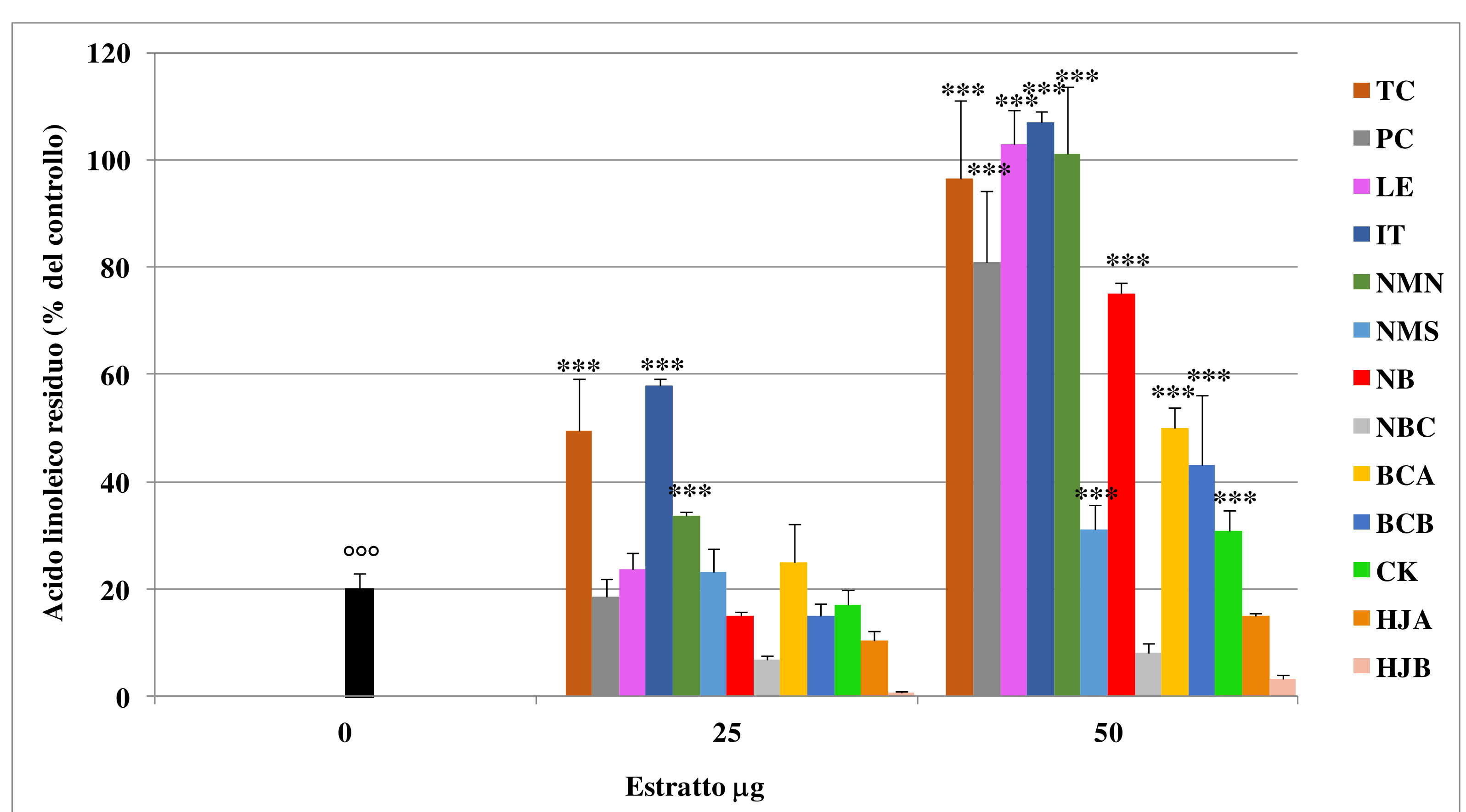


Fig. 2. Ossidazione dell'acido linoleico (espressa come % di acido grasso residuo rispetto al controllo), dopo 32 ore di incubazione in presenza di differenti concentrazioni di estratti fenolici di olive (25-50 µg/mL), (n=6). °°°p < 0.001 rispetto al controllo; ***p < 0.001, **p < 0.01, *p < 0.05 rispetto all'ossidato (0).

L'ossidazione dell'acido linoleico è stata significativamente inibita da alcuni degli estratti testati, in particolare quelli derivanti da olive processate "Al naturale", come indicato dalla maggiore quantità di acido grasso residuo rilevata (Figura 2). Questi estratti hanno mostrato un'azione protettiva concentrazione dipendente, proteggendo completamente l'acido grasso dalla degradazione ossidativa alla concentrazione di 50 µg/mL.

Nelle cellule Caco-2, il trattamento con TBH 2.5 mM ha determinato una significativa produzione di ROS; il pretrattamento con gli estratti fenolici di tutte le cultivar di olive oggetto dello studio ha inibito significativamente l'alterazione dello stato redox cellulare indotta dal TBH (Figura 3). Alle due concentrazioni testate (25-50 µg/mL), tutti gli estratti sono stati in grado di inibire la produzione di ROS. L'estratto "Itrana" così come gli altri derivanti da olive lavorate "Al naturale" è stato il più attivo.

Questo studio ha evidenziato la capacità degli estratti fenolici delle olive da mensa di proteggere dalla degradazione ossidativa un acido grasso insaturo, l'acido linoleico, e limitare la formazione di specie reattive, potenzialmente ossidanti, in cellule intestinali, suggerendo la capacità di contrastare lo stress ossidativo e la perossidazione lipidica a livello intestinale. Non tutti gli estratti fenolici testati hanno protetto l'acido linoleico dalla degradazione ossidativa. In generale, quelli preparati con fermentazione naturale sono risultati più efficaci indipendentemente dalla varietà. Anche gli estratti di olive processate con il metodo Sivigliano hanno esercitato comunque una significativa protezione, mentre quelli ottenuti da olive lavorate con il metodo Californiano hanno mostrato la minore attività. Riguardo all'attività protettiva contro la formazione di ROS, tutti gli estratti fenolici testati si sono mostrati attivi, con qualche differenza che sembra legata al metodo di lavorazione; tuttavia, in questo sistema sperimentale le differenze fra le varie tipologie di campioni sono risultate meno evidenti.