

# Ricerche e innovazioni nell'industria alimentare

volume V



*Consiglio Nazionale delle Ricerche*

*Agropolis*

*Fauctamine*

a cura di

**Sebastiano Porretta**

**CHIRIOTTI EDITORI**

ANTONIO PIGA, ALESSANDRA DEL CARO, VINCENZO VACCA,  
SALVATORE D'AQUINO (\*), MARIO AGABBO

## VARIAZIONE DEI FLAVONOIDI GLICOSILATI E DELL'ACIDO ASCORBICO DURANTE LA CONSERVAZIONE DI AGRUMI MINIMAMENTE TRASFORMATI

### INTRODUZIONE

Negli ultimi due decenni si è assistito ad un crescente interesse da parte dei consumatori per frutta ed ortaggi minimamente trasformati (IV Gamma), per la loro freschezza e "convenienza" d'uso. La minima trasformazione, però, limita fortemente la shelf-life, in quanto vengono accelerati diversi processi metabolici. Il danno meccanico arrecato, infatti, incrementa l'attività respiratoria e la produzione di etilene in pochi minuti, a cui consegue un aumento di alcuni fenomeni biochimici, quali l'imbrunimento enzimatico, la perdita di aroma, di consistenza e delle caratteristiche nutrizionali (1, 2, 3). La riduzione della temperatura di lavorazione e stoccaggio rallenta sensibilmente l'attività biochimica e la proliferazione microbica (2). Infatti, la presenza di superfici lesionate e la conseguente disponibilità di succhi cellulari rappresentano le condizioni ottimali per una decompartimentazione dei substrati e per un rapido incremento dei microrganismi. Per mantenere un buon livello qualitativo, pertanto, è necessario preparare e stoccare il prodotto a temperature di refrigerazione non superiori a 6°C. Attualmente, a livello commerciale sono diffuse tipologie di prodotto appartenenti agli ortaggi, specialmente nei paesi del Nord Europa, mentre per i frutti la diffusione è ancora limitata, sicuramente perché tali prodotti presentano, per la loro costituzione chimico-fisiologica, problemi superiori agli ortaggi.

Tra i frutti, degni di attenzione per le loro proprietà nutrizionali vi sono gli agrumi. Infatti, dato il loro elevato contenuto in acido ascorbico e in polifenoli, possono rientrare a pieno titolo nell'ambito degli alimenti ad elevato potere antiossidante e con caratteristiche di "health promoting capacity". Appare, pertanto, importante valutare gli effetti delle operazioni di minimal processing su questi componenti e, di conseguenza, sulla capacità antiossidante.

Nel presente lavoro saranno discussi i risultati relativi alle variazioni dei flavonoidi glicosilati, dell'acido ascorbico e del potere antiossidante della frazione idrosolubile di derivati agrumari ottenuti con minimi interventi tecnologici (segmenti e succhi).

### MATERIALI E METODI

I frutti sono stati raccolti a maturazione commerciale presso un impianto specializzato.

---

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

(\*) Istituto per la Fisiologia della Maturazione e della Conservazione del Frutto delle Specie Arboree  
Mediterranee - Via dei Mille 48 - 07100 Sassari - Italia

### Agrumi in spicchi

Sono stati utilizzati frutti di arancio (*Citrus sinensis* L. Osbeck) "Shamouti" e di mandarino-simile (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) "Palazzelli". Dopo la raccolta i frutti sono stati selezionati, lavati con acqua sanificata (200 ppm NaOCl), asciugati e sbucciati manualmente. Solamente i segmenti esenti da danni meccanici sono stati posti all'interno di vaschette di plastica del volume di 250 mL (100 g per vaschetta) ed avvolti con un film barriera termosaldabile (15 µm). Le vaschette sono state subito trasferite in cella a 4°C e conservate per 12 giorni. I campionamenti per le analisi sono stati condotti prelevando, alla partenza e dopo 4, 8 e 12 giorni di stoccaggio, 12 vaschette. I campionamenti per le analisi dei gas all'interno delle confezioni sono stati effettuati con cadenza quasi giornaliera.

### Succhi

Sono stati utilizzati frutti di arancio "Shamouti" e di pompelmo (*Citrus paradisi* Macf.) "Red blush". Dopo le operazioni preliminari i frutti sono stati divisi trasversalmente, spremuti ed il succo subito trasferito in provette di materiale plastico da 50 mL, lasciando uno spazio di testa di 5 mL. Le provette sono state refrigerate a 4°C. Alla raccolta e a 5, 10 e 15 giorni di conservazione sono state prelevate 12 provette per le analisi chimiche.

### Analisi chimiche e determinazioni dei gas

I campioni sono stati sottoposti, dopo spremitura, alle seguenti determinazioni: pH, acidità titolabile (% di ac. citrico), sostanza secca (%) secondo (4), solidi solubili totali (SST) in °Brix, acido ascorbico (mg/g s.s.) secondo (4). Le analisi sono state condotte su tutta la parte edule dopo filtrazione su garza. Su un campione di 10 vaschette è stata determinata l'atmosfera interna (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> e C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>), utilizzando un rivelatore accoppiato per CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> (Dansensor Combi Check, Milano), mentre l'etilene è stato quantificato per gascromatografia. Infine è stato determinato il contenuto dei flavonoidi mediante HPLC (5,6,7) utilizzando una colonna Licrospher RP-18 (150x4,6 mm, 5 µm) ed un cromatografo HP 1050 dotato di rivelatore DAD (λ di 280 nm). La capacità antiossidante è stata valutata con il radicale DPPH (8,9). A tal fine 50 µL di succo centrifugato, filtrato e diluito (1/10) sono stati fatti reagire per 15 min (plateau di lettura) in cuvetta contenente 3 mL di una soluzione metanolica 6·10<sup>-5</sup> M di DPPH. La lettura è stata trasformata in % di inibizione della concentrazione del DPPH (con retta di taratura) ed espressa come Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) (10).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Le caratteristiche di composizione dei frutti alla partenza sono riportate in tab. 1. Come si può notare le varietà utilizzate presentano una discreta variabilità nelle caratteristiche chimiche considerate. È da rimarcare l'elevato livello di acidità del succo di pompelmo. La variabilità delle caratteristiche chimiche all'interno degli agrumi trova una logica spiegazione nei fattori genetici e fisiologici (11). Tutti i parametri chimici, comunque, sono rimasti pressoché costanti durante la conservazione, a conferma di numerosi dati ottenuti in precedenti esperienze (dati non pubblicati). Dai risultati si può evincere che queste operazioni, nei casi da noi esaminati, non modificano particolarmente tali proprietà, alcune delle quali (pH, SST, acidità) di sicura importanza per le caratteristiche sensoriali del prodotto. Le variazioni relative ai flavanoni glicosilati, all'acido ascorbico e alla capacità antiossidante sono riportati nella tab. 2. Dall'analisi dei risultati appaiono subito evidenti

Tabella 1 - Variazione delle caratteristiche chimiche di segmenti e succhi di agrumi durante la conservazione a 4°C.

Frutto	Giorni	pH	Acidità malolica (% acido citrico)	SSF (° Brix)	Solidi sacchi (%)
Arancio Shamouti (succhi)	0	3,33	1,28	11,55	12,58
	4	3,31	1,28	11,45	12,15
	8	3,49	1,20	12,00	12,53
	12	3,53	1,16	11,90	12,20
Mondorosso Palazzoli (succhi)	0	3,45	0,78	14,0	15,07
	4	3,45	0,91	14,7	15,63
	8	3,47	0,91	15,0	15,60
	12	3,66	0,93	15,15	15,60
Arancio Shamouti (succhi)	0	3,34	1,21	11,85	12,78
	5	3,31	1,23	12,10	12,74
	10	3,41	1,21	11,85	12,84
	15	3,51	1,32	12,00	12,64
Pomodorino Red Marsh (succhi)	0	3,11	2,52	10,15	10,66
	5	3,22	2,50	10,25	10,61
	10	3,23	2,51	10,20	10,67
	15	3,05	2,51	9,90	10,39

Tabella 2 - Variazione dei flavonoidi, dell'acido ascorbico e del TEAC di derivati agrumari durante la conservazione a 4°C.

Frutto	Giorni	Flavonoidi (mg/g.s.s.)							Ac. Ascorbico (mg/g.s.s.)	TEAC (µmole/l)
		Hesper.	Espin.	Dilid.	Hesper.	Hesper.	Punic.	Total		
Arancio Shamouti (succhi)	0	0,587	0,887	0,066				1,542	5,10	4,58
	4	0,594	2,279	0,077				2,949	5,14	4,29
	8	0,558	2,275	0,078				2,911	5,00	4,36
	12	0,782	2,242	0,100				3,124	5,02	4,34
Mondorosso Palazzoli (succhi)	0	0,269	0,489	0,017				0,775	2,38	2,71
	4	0,212	1,109	0,022				1,343	2,23	2,59
	8	0,243	1,158	0,028				1,429	2,16	2,51
	12	0,243	1,039	0,028				1,313	2,29	2,73
Arancio Shamouti (succhi)	0	0,749	1,030	0,085				1,864	5,50	4,69
	5	0,642	0,480	0,044				1,166	5,26	4,84
	10	0,649	0,464	0,044				1,157	5,07	4,81
	15	0,618	0,431	0,041				1,090	5,51	4,80
Pomodorino Red Marsh (succhi)	0	2,245	0,236	0,096	5,234	0,240	0,271	8,323	4,22	3,42
	5	2,516	0,247	0,110	5,930	0,250	0,311	9,365	4,23	4,29
	10	2,108	0,223	0,095	4,984	0,236	0,227	7,913	4,22	4,24
	15	1,998	0,204	0,094	4,587	0,204	0,271	7,373	4,30	4,24

\* In ogni corrispondenza di flavonoidi (Hesper., Espiridina (Espin.), Dilidione (Dilid.), Hesperidina (Hesper.),  
 Hesperidione (Hesperid.), Punicidione (Punic.).  
 † Index equivalent Antioxidant Capacity (TEAC).

due comportamenti differenti per spicchi e succhi. Infatti, i frutti in spicchi hanno mostrato durante la conservazione un marcato aumento dei flavonoidi, specialmente per quanto riguarda l'esperidina. Nel caso dei succhi, in generale, si è avuta una diminuzione dei singoli flavonoidi e, quindi, dei totali, a parte il primo campionamento (5 giorni) nel pompelmo, in cui si è avuto un andamento opposto. I dati relativi agli agrumi in spicchi sono in accordo con quelli riportati da altri autori su vegetali minimamente trasformati, ed è sicuramente ascrivibile ad un'alterazione del metabolismo dei fenil-propanoidi (2, 12). Infatti, il primo passo del cammino metabolico è la conversione della L-fenilalanina ad acido trans-cinnamico, via enzima fenilalanina ammonio liasi (PAL). Sia le ferite, sia l'esposizione all'etilene stimolano l'attività della PAL, con conseguente nuova produzione dei maggiori composti fenolici e la sintesi di nuovi (13, 14). Nel nostro caso, sia la preparazione preliminare (seppur non drastica come in altri prodotti), ma specialmente l'aumento della concentrazione di etilene all'interno dei confezionamenti (tab. 3), potrebbero rispondere al marcato aumento riscontrato. Nel caso dei succhi, invece, potrebbe aver prevalso l'attività legata all'ossidazione dei componenti fenolici, come già osservato da altri autori su succo di pompelmo e arancio (15). I dati relativi all'acido ascorbico (AA) mostrano una ridotta diminuzione sia negli spicchi, sia nei succhi. Anche questi risultati sono in accordo con dati ottenuti presso il nostro laboratorio e non ancora pubblicati su altre varietà di agrumi e con quelli presenti in letteratura. Infatti, (16) riporta una diminuzione massima dell'8% in AA in succhi freschi di arance pigmentate conservate a 3°C, anche se tale succo era stato pastorizzato e conservato per un tempo superiore (30 giorni). Nel nostro caso, hanno sicuramente contribuito al mantenimento del contenuto in AA la tipologia del confezionamento, la bassa temperatura di conservazione e il ridotto spazio di testa nelle provette. Inoltre, i polifenoli potrebbero sicuramente aver protetto dall'ossidazione l'AA (17). Nel caso dei segmenti è probabile che, oltre alle temperature di stoccaggio ed all'azione protettiva dei polifenoli, anche i valori della CO<sub>2</sub> nello spazio di testa (tab. 3) e l'elevata umidità all'interno delle confezioni possano aver contrastato (18, 19) la degradazione dell'AA. Nella tab. 2 sono riportate le variazioni della capacità antiossidante, espressa come TEAC. Si può evidenziare un comportamento diverso tra succhi e spicchi. Infatti, mentre i valori di TEAC dei frutti in spicchi diminuiscono, seppur lievemente durante tutta la prova (arancio) o nei primi 8 giorni di conservazione (mandarino), quelli dei succhi freschi aumentano leggermente (arancio) e drasticamente nel caso dei frutti di pompelmo dopo appena 4 giorni di conservazione. Questi risultati suggeriscono che oltre all'acido ascorbico altri fattori possono influire sull'attività antiossidante dei campioni in esame. È

Tabella 3 - Evoluzione della concentrazione di CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> e C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> all'interno dei confezionamenti durante 12 giorni di conservazione a 4°C.

Frutti	Preparazione (giorni)	CO <sub>2</sub>			O <sub>2</sub>			C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>		
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Arancio	4	2,39	16,39	0,05	Mandarino	4	3,45	17,02	0,12	
	8	2,06	15,38	0,43		8	2,30	17,71	0,12	
Succo	4	3,59	16,11	0,12	4	2,28	17,34	0,08		
	8	4,65	17,23	0,17	8	2,05	18,83	0,20		
	12	3,43	18,54	0,17	12	4,70	16,89	0,47		
	16	1,85	19,23	0,31	16	3,01	17,97	2,16		
	20	1,63	19,32	0,25	20	2,56	17,57	0,79		
	24	1,63	19,32	0,25	24	2,56	17,57	0,79		

verosimile, come già notato in precedenti esperienze (20), che la frazione polifenolica possa influire sulla capacità antiossidante. Il marcato aumento del TEAC nel caso dei succhi di pompelmo potrebbe essere ascritto, infatti, al maggiore potere antiossidante esercitato dai polifenoli in stati di ossidazione intermedi (21). Questo comportamento è tuttavia transitorio poiché, in stadi di ossidazione più avanzati, le molecole perdono gradualmente queste proprietà con drastica riduzione dell'efficienza antiossidante.

In conclusione, i risultati ottenuti sembrano indicare che le principali caratteristiche chimiche e il contenuto in AA nelle specie e varietà di agrumi testati siano scarsamente influenzati dalle operazioni di preparazione minima. Per quanto riguarda i flavonoidi, invece, i diversi tipi di preparazione influenzano in maniera differente il loro destino, a causa, probabilmente, del particolare metabolismo dei fenil-propanoidi. L'aumento di flavonoidi negli agrumi in segmenti potrebbe essere ascritta, infatti, alla elicitazione da stress di uno degli enzimi chiave del metabolismo (PAL). L'aumento dei valori di TEAC nel caso del pompelmo può probabilmente essere spiegato da particolari meccanismi di ossidazione della frazione polifenolica. Sulla base di questi dati, quindi, appare evidente come le principali proprietà nutrizionali e salutistiche nei frutti di agrumi considerati rimangano pressoché inalterate in seguito alle operazioni di trasformazione minima.

## BIBLIOGRAFIA

1. A.K. Matto, J.D. Anderson "Wound-induced increase in l-aminocyclopropane-l-carboxylic synthase activity: regulatory aspects and membrane association of the enzyme". In: Fuchs Y. And Chalutz E. (eds.). Ethylene: Biochemical, physiological and applied aspects. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague, 139-147, 1984.
2. R.S. Rolle, G.W. Chism III "Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables", *J. Food Qual.*, 10, 157-177, 1987.
3. A.E. Watada, K. Abe, N. Yamauchi "Physiological activities of partially processed fruits and vegetables", *Food Technol.* XX:116, 118, 120-122, 1990.
4. AOAC, Official Methods of Analysis. Horwitz E. (Ed.), Assoc. Off. Anal. Chem. Intern., 1990.
5. Y. Nogata, H. Ohta, K. Yoza, M. Berhow, S. Hasegawa "High-performance liquid chromatographic determination of naturally occurring flavonoids in Citrus with a photodiode-array detector", *Journal of Chromatography A*, 667, 59-66, 1994.
6. P. Mouly, E.M. Gaydou, A. Auffray "Simultaneous separation of flavanone glycosides and polymethoxylated flavones in citrus juices using liquid chromatography", *J. of Chrom. A*, 800, 171-179, 1998.
7. H.M. Merken, G.R. Beecher. "Measurement of Food Flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography: A Review", *J. Agric. Food Chem.*, 48 (3), 577-599, 2000.
8. B. De Ancos, E.M. Gonzales, M.P. Cano, "Ellagic Acid, Vitamin C, and Total Phenolic Contents and Radical Scavenging Capacity Affected by Freezing and Frozen Storage in Raspberry Fruit", *J. Agric. Food. Chem.*, 48 (10), 4565-4570, 2000.
9. V. Bondet, W. Brand-Williams, C. Berset, "Kinetics and Mechanism of Antioxidant Activity using the DPPH\* Free Radical Method", *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 30, 609-615, 1997.
10. N.J. Miller, C. Rice-Evans, M.J. Davies, V. Gopinathan, A. Milner, "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates", *Clinical Science*, 84, 407-412, 1993.
11. J.F. Kefford, B.V. Chandler, "General composition of citrus fruits". In J.F. Kefford & B.V. Chandler, *The chemical constituents of citrus fruits*, Academic Press, Orlando, FA, USA, 5-22, 1970.
12. G. Peiser, G. López-Gálvez, M. Cantwell, M.E. Saltveit, "Phenylalanine ammonia lyase inhibitors control browning of cut lettuce", *Postharvest Biology and Technology*, 14, 171-177, 1998.
13. D. Ke, M.E. Saltveit, "Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce", *Physiol. Plant.*, 76, 412-418, 1989a.
14. F.A. Tomas-Barberan, J. Loaiza-Velarde, A. Bonfanti, M.E. Saltveit, "Early wound-and ethylene-induced changes in phenylpropanoid metabolism in harvested lettuce", *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 122, 399-404, 1997a.

15. J.L. Supri, K. Persons, E. Ross, "Degradation of flavonoids in orange and grapefruit juices", IFT'S Annual Meeting, June 20-24, 1998.
16. A. Trifirò, S. Gherardi, M. Calza, "Effects of storage time and temperature on the quality of fresh juices from pigmented oranges", *Industria Conserve*, 70 (3) 243-251, 1995.
17. N.J. Miller, C. Rice-Evans, "The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink", *Food Chem.*, 60, 3, 331-337, 1997.
18. C.Y. Wang, "Effect of short-term high CO<sub>2</sub> treatment on the market quality of stored broccoli", *J. Food Sci.*, 44-1478, 1979.
19. B.D. Ezell, M.S. Wilcox, "Loss of vitamin C in fresh vegetables as related to wilting and temperature", *J. Agric. Food. Chem.*, 7-507, 1959.
20. A. Piga, M.C. Nicoli, V. Vacca, M. Agabbio, "Effetto di diversi interventi tecnologici sulle proprietà antiossidanti di derivati agrumari", In "Ricerche e Innovazioni nell'Industria Alimentare" Vol. IV, 836-844, Chiriotti Editori, Pinerolo, 2000.
21. H.S. Cheigh, S.H. Um, C.Y. Lee "Antioxidant characteristics of melanin-related products from enzymatic browning reaction of catechin in a model system", *ACS Symposium Series 600*, Amer. Chem. Soc., 200-208, 1995.

## RIASSUNTO

Diversi prodotti ortofruitticoli sono sottoposti, prima del consumo, ad operazioni di trasformazione e conservazione, che possono portare a variazioni di carattere nutrizionale. Sicuramente degni di nota, sia in prospettiva di sviluppo futuro, sia perché già diffusi, sono i derivati degli agrumi ottenuti con minimi interventi tecnologici (segmenti, succhi freschi). Tali prodotti si caratterizzano dal punto di vista nutrizionale specialmente per il loro contenuto in acido ascorbico e flavonoidi glicosilati, responsabili pressoché in toto delle proprietà antiossidanti dell'alimento. Data la particolare importanza, pertanto, è stato verificato il destino di tali frazioni in seguito alla preparazione minima ed alla conservazione.

## SUMMARY

### *CHANGES IN FLAVANONE GLYCOLIDE AND ASCORBIC ACID DURING STORAGE OF LIGHTLY PROCESSED CITRUS FRUITS*

*Fruits and vegetables are subjected to processing and storage prior to consumption, thus leading to nutritional changes. Minimally processed citrus derivatives are noteworthy because of their high nutritional value and antioxidant properties. Therefore, the variability of ascorbic acid and flavonoids, responsible for the antioxidant capacity of citrus fruits, was studied after minimal processing and during storage.*