

RELAZIONE PROVA RIPAGA SU MELO

CONTRATTO PER L'AFFIDAMENTO DEL SERVIZIO DI INDIRIZZO ED ASSISTENZA DELLE ATTIVITA' DI RICERCA DEL PROGETTO "Valutazione bio-agronomica degli effetti delle applicazioni di prodotti contenenti estratti vegetali su colture frutticole AGAFERT-FRUIT"

AGAFERT E CREA-OFA SEDE DI CASERTA

Introduzione

La fertilizzazione non ha solo l'obiettivo di massimizzare la produzione o equilibrare il flusso di elementi nutritivi del suolo, ma influenza in modo significativo la qualità delle colture, migliorandole o riducendole, con ripercussioni spesso importanti sul prezzo dei prodotti e sulle loro caratteristiche nutrizionali, nutraceutiche e sanitarie. Le pratiche di fertilizzazione incidono anche su altri aspetti legati all'efficienza d'uso dei nutrienti apportati, e all'impatto sull'ambiente e sugli ecosistemi. Al fine di massimizzare gli obiettivi produttivi, qualitativi e ambientali è importante conoscere le pratiche di concimazione che vadano oltre la tradizionale somministrazione di macroelementi (azoto, fosforo e potassio), ma che possano avvalersi di prodotti che apportino elementi della nutrizione diversi o in formulati che espletino funzioni differenti o complementari rispetto ai concimi minerali tradizionali. Nell'ambito del progetto è stato testato un concime organico minerale che migliora la qualità del frutto, assicura l'uniformità della maturazione e colorazione (Ripaga). E' un prodotto che garantisca di non avere residui sui frutti, costituito da ingredienti naturali che creano una forte stimolazione nel raccolto in modo da produrre una forte maturazione e un colore intenso.

Materiali e metodi

Impianto e disegno sperimentale

La prova sperimentale è stata condotta nell'azienda Pieretti, ubicata a Pietravairano (CE) su un impianto di melo "Royal Gala" realizzato nel 2006, innestato su M26, allevato a palmetta libera con sesto di impianto di 4 x 1.20 metri. La gestione del melo ha seguito le agrotecniche ordinarie previste dal disciplinare di produzione integrata della Regione Campania. Le applicazioni di Ripaga

CREA - Centro di ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura
CREA - Research Centre for Olive, Fruit and Citrus Crops

@ ofa@crea.gov.it fofa@pec.crea.gov.it
W www.crea.gov.it

Contrada Li Rocchi Vermicelli, 83 - 87036 Rende (CS) Sede amministrativa
Via di Fioranello, 52 - 00134 Roma
Via Torrino, 2 - 81100 Caserta
Via La Canapona, 1bis - 47121 Forlì
Corso Savoia, 190 - 95024 Acireale (CT)

T +39 0984 4052
T +39 06 7934811
T +39 0823 256201
T +39 0543 89428
T +39 095 7653111

sono state effettuate in due somministrazioni 27 luglio 2021 e 10 agosto 2021 quando i frutti erano allo stadio inizio invaiatura utilizzando la dose di 250 ml per 100 litri di acqua. I frutti sono stati raccolti in data 24 agosto 2021 e per ogni campione, sono stati preparati tre replicati biologici costituiti da un pool di venti frutti su cui sono state condotte le analisi chimico-fisiche e qualitative.

Valutazione di parametri chimico-fisici

Il colore della buccia del frutto è stato determinato mediante un colorimetro (Minolta CR5, Milano) utilizzando lo spazio di colore L*a*b* (noto anche come CIELAB) che è attualmente uno degli spazi di colore più diffusi per la misurazione del colore di un oggetto. L* indica la luminosità mentre a* e b* indicano le coordinate di cromaticità. Il residuo secco rifrattometrico (RSR) è stato determinato con rifrattometro digitale sul succo ottenuto da cinque frutti ed espresso in °Brix. L'acidità titolabile (TA) è stata determinata mediante una titolazione con NaOH 0,1 M fino al raggiungimento del pH 8.1 ed espressa come mg acido malico/L. Il pH del succo è stato determinato mediante pH digitale.

La durezza dei frutti è stata determinata con l'ausilio di un penetrometro (Fruit Firmness Tester, Turoni) sulle due superfici equatoriali del frutto, utilizzando un puntale da 8 mm ed esprimendo il valore in Newton.

Estrazione di composti bioattivi da polpa e buccia

I campioni sono stati separati in polpa e buccia e omogeneizzati, in mortaio, utilizzando metanolo (80%) (1:10 w/v), trasferiti in provette di vetro e lasciati in agitazione al buio per 24 ore. L'omogenato è stato centrifugato a 13000 rpm per 10' e il surnatante utilizzato per la determinazione dei composti bioattivi e dell'attività antiossidante.

Determinazione del contenuto di polifenoli totali (TP)

La determinazione del contenuto di polifenoli totali è stata effettuata secondo il metodo colorimetrico di Folin-Ciocalteu (Singleton et al. 1965). Il saggio è stato condotto in triplicato per ogni campione utilizzando:

- 20 µL di estratto (buccia/polpa)
- Reattivo di Folin-Ciocalteu

- Na_2CO_3 7,5% (w/v)

I campioni dopo essere stati miscelati sono stati lasciati al buio per 2 ore a temperatura ambiente, successivamente è stata determinata l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 765 nm. Il contenuto di polifenoli presenti nel campione è stato determinato mediante interpolazione dei dati ottenuti con quelli di una retta di taratura costruita con soluzioni a concentrazioni note di acido gallico, usato come standard, ed i valori sono stati espressi come mg di acido gallico equivalenti/100 g di peso fresco (mg GAE/100 g *fresh weight* FW).

Determinazione del contenuto di flavonoidi (FLAV)

Il saggio è stato condotto secondo la metodica descritta da Adiletta et al. (2019), utilizzando

- 200 μL di estratto per la buccia e 400 μL di estratto per la polpa
- NaNO_2 (5% w/v)
- AlCl_3 (10 % w/v)
- NaOH (1 M)

I campioni sono stati incubati per 15 minuti e successivamente è stata registrata l'assorbanza a 510 nm. Il contenuto di flavonoidi presenti nel campione è stata determinato mediante interpolazioni dei dati ottenuti una retta di taratura costruita con soluzioni a concentrazione nota di catechina, utilizzata come standard. I valori sono stati espressi come mg di catechina equivalenti/100 g di peso fresco (mg CE/100g FW).

Determinazione del contenuto di acido ascorbico (AA)

L'estrazione e il dosaggio dell'acido ascorbico è stato condotto secondo la metodica modificata di Mallik & Singh (2005). 2.5 g di buccia o polpa del frutto sono stati omogenizzati in un mortaio con 10 ml di una soluzione contenente acido metafosforico (16% v/v) ed EDTA (0.18% w/v) con aggiunta di sabbia di quarzo (150 mg). Il campione è stato centrifugato a 12.500 rpm per 10 minuti a 4 °C ed è stato raccolto il surnatante.

Il saggio è stato effettuato in un volume finale di 2 ml, miscelando:

- 400 μL di estratto
- Acido metafosforico 0,3%
- Reattivo di Folin-Ciocaltau diluito 1:50 con H_2O

I campioni sono stati lasciati al buio per 10 minuti dal termine del saggio e successivamente è stata letta l'assorbanza a 760 nm. La quantità di acido ascorbico nel campione è calcolata utilizzando una retta di taratura costruita con diverse concentrazioni di acido ascorbico ed il risultato finale è espresso come mg di acido ascorbico (AA)/100 g FW.

Determinazione del contenuto di antociani (ANT)

Il saggio degli antociani è stato effettuato con il metodo spettrofometrico del pH differenziale (Magri et al. 2020) in un volume finale di 1 mL, utilizzando 50 µL di estratto per la buccia e 100 µL di estratto per la polpa in KCl 0.025M pH 1 e CH₃COONa 0.4M pH 4.5. L'assorbanza di ciascun campione è stata valutata alla lunghezza d'onda di 510 e 700 nm ed il contenuto totale di antociani espresso come mg di cianidina-3-glucoside equivalente/100 g FW (mg C3G/100 g FW).

Determinazione dell'attività antiossidante

Il saggio è stato condotto come descritto da Adiletta et al. (2020) utilizzando:

- 75 µL di estratto
- 1,1-difenil-2-picril-idrazile (DPPH) (634 µM)

È stata misurata la variazione di assorbanza a 515 nm. L'attività antiossidante dei campioni è stata determinata mediante interpolazioni dei dati ottenuti con quelli appartenenti ad una retta di taratura costituita da soluzioni a concentrazione nota di Trolox, utilizzato come standard. I valori sono stati espressi come µmol di Trolox eq/g di peso fresco (µmol/g FW).

Analisi Statistica

I dati sono riportati come media ± deviazione standard. La matrice dei dati è stata sottoposta ad analisi multivariata effettuando un'analisi delle componenti principali (PCA). La PCA è stata usata per evidenziare il diverso posizionamento dei campioni analizzati in funzione dei parametri chimico-fisici e qualitativi dei frutti analizzati.

Risultati

I campioni alla raccolta presentano parametri chimico-fisici senza differenze statisticamente significative ad eccezione dei dati colorimetri (Tab.1).

CREA - Centro di ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura
CREA - Research Centre for Olive, Fruit and Citrus Crops

@ ofa@crea.gov.it jofa@pec.crea.gov.it
W www.crea.gov.it

Contrada Li Rocchi Vermicelli, 83 - 87036 Rende (CS) Sede amministrativa
Via di Fioranello, 52 - 00134 Roma
Via Torrino, 2 - 81100 Caserta
Via La Canapona, 1bis - 47121 Forlì
Corso Savoia, 190 - 95024 Acireale (CT)

T +39 0984 4052
T +39 06 7934811
T +39 0823 256201
T +39 0543 89428
T +39 095 7653111

Tab. 1 Parametri chimico-fisici alla raccolta

Tesi	RSR (° Brix)	TA (mg acido malico/100 ml)	pH	Durezza (N)
Controllo	11.0±0.2 ^a	3.15±0.28 ^a	3.94±0.30 ^a	7.27±1.0 ^a
Trattato	10.7±0.15 ^a	3.63±0.17 ^a	3.85±0.40 ^a	6.37±1.1 ^a

I campioni trattati con Ripaga sviluppano maggiormente il sovracoloro della buccia rispetto al campione controllo con variazioni dei parametri colorimetrici (Tab. 2).

Tab. 2 Parametri colorimetrici alla raccolta

Tesi	Colore di fondo			Sovracoloro		
	L	a	b	L	a	b
Controllo	79.87±3.69 ^a	5.52±1.15 ^a	40.42±3.61 ^a	61.66±5.14 ^a	28.50±3.16 ^a	29.97±3.45 ^a
Trattato	76.96±3.02 ^a	13.68±3.25 ^b	38.37±3.67 ^a	54.36±5.62 ^a	46.66±2.41 ^b	27.31±4.93 ^a

Il valore di +a* indica la direzione del rosso, mentre +b* la direzione del giallo. Nei frutti trattati rispetto ai controlli non ci sono differenze statisticamente significative della luminosità ma varia la percentuale di sovracoloro che nelle mele trattate raggiunge circa l'85% della superficie del frutto rispetto ai controlli che si attestano al 30-40%. Il valore di a* è molto più elevato nel colore di fondo e nel sovracoloro dei frutti trattati con Ripaga (Fig.1).

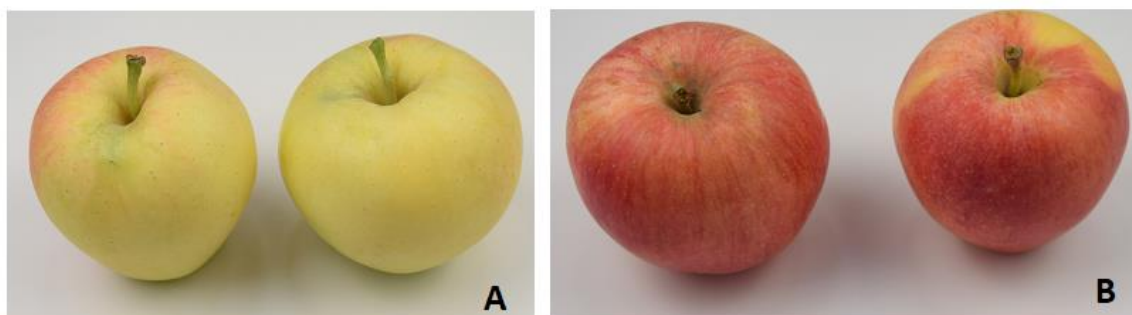


Fig. 1 Campioni di melo non trattati (A) e trattati con Ripaga (B)

Nella tabella 3 è riportato il contenuto di polifenoli, flavonoidi e antociani dei campioni analizzati e nella buccia e nella polpa per le due tesi sperimentali. Analizzando i composti bioattivi è stato

dimostrato un incremento della componente nutraceutica in seguito al trattamento con Ripaga maggiormente nella buccia. In particolar modo è stato riscontrato un aumento significativo del contenuto dei polifenoli e di flavonoidi sia nella buccia che nella polpa. Nelle mele, il profilo dei composti fenolici dipende dalla cultivar analizzata, anche se solitamente la classe di polifenoli maggiormente rappresentata è sempre quella dei flavanoli (71-90 %). Le altre classi individuate sono i derivati dell'acido cinnamico (4–18%), flavonoli (1–11%), diidrocalconi (2–6%), e antociani (1–3%) (Vrhovsek et al. 2004).

Nella buccia è stato anche evidenziato un maggiore contenuto di antociani nei frutti trattati rispetto al controllo ed un maggiore contenuto di acido ascorbico (vitamina C).

Tab.3 Contenuto di polifenoli totali (POL-mg GAE/100 g FW), di flavonoidi totali (FLAV-mg CA/100 g FW) e antociani (ANT-mg C3G/100 g FW) nella buccia e nella polpa.

Campione	POL	FLAV	ANT
Controllo_Buccia	326.61±24.96 ^a	106.83±11.46 ^a	152.84±4.45 ^a
Trattato_Buccia	429.06±35.80 ^b	212.62±11.39 ^b	239.78±3.09 ^b
Controllo_Polpa	60.65±4.75 ^a	23.95±1.53 ^a	17.84±0.71 ^a
Trattato_Polpa	115.79±11.29 ^b	41.17±0.74 ^b	20.31±1.34 ^a

L'attività antiossidante dei frutti trattati è maggiore rispetto al controllo e ciò è dovuto all'alto contenuto di composti bioattivi, responsabili della maggior parte delle proprietà nutraceutiche e farmacologiche attribuita a questa specie frutticola (Tab. 4).

Tab.4 Contenuto di acido ascorbico (AA-mg /100 g FW) e attività antiossidante (DPPH-μmol TE/g FW) nella buccia e nella polpa.

Campione	AA	DPPH
Controllo_Buccia	6.22±0.32	4.89±0.10
Trattato_Buccia	8.15±0.40	7.92±0.12
Controllo_Polpa	15.46±0.47	2.65±0.17
Trattato_Polpa	14.87±1.92	3.29±0.10

Conclusioni

Le colture frutticole, in particolare il melo può sicuramente beneficiare di una strategia di nutrizione attenta e calibrata alle specifiche esigenze ottenendo risultati molto interessanti, il trattamento con Ripaga nella cv Royal Gala ha determinato un miglioramento dell'intensità della colorazione dei frutti e un incremento del contenuto di composti bioattivi in particolare nella buccia. Alla luce dei risultati raggiunti si ipotizza una possibile somministrazione in tre dosi del prodotto con cadenza quindicinale utilizzato dallo stadio di avanzato ingrossamento dei frutti fino alla pre-raccolta.

Bibliografia

- Abuajah, C. I., Ogbonna, A. C., & Osuji, C. M. (2014). Functional components and medicinal properties of food: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2522–2529.
- Adiletta G., Magri A., Albanese D., Liguori L., Sodo M., Di Matteo M., Petriccione M. (2020). Overall quality and oxidative damage in packaged freshly shelled walnut kernels during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization* 14, 3483-3492.
- Adiletta G., Petriccione M., Liguori L., Zampella L., Mastrobuoni F., Di Matteo M. (2019). Overall quality and antioxidant enzymes of ready-to-eat 'Purple Queen' pomegranate arils during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 155, 20 - 28.
- Busatto N., Matsumoto D., Tadiello A., Vrhovsek U., Costa F. (2019) Multifaceted analyses disclose the role of fruit size and skin-russeting in the accumulation pattern of phenolic compounds in apple. *PLoS ONE* 14(7): e0219354
- Cheyrier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 223S–229S.
- Costa F, Cappellin L, Fontanari M, Longhi S, Guerra W, Magnago P, et al. (2012). Texture dynamics during postharvest cold storage ripening in apple (*Malus x domestica* Borkh.). *Postharvest Biol. Technol.*, 69: 54-63.
- Debelo H., Li M., Ferruzzi M.G. (2020). Processing influences on food polyphenol profiles and biological activity. *Current Opinion in Food Science*, 32: 90-102.
- Kalinowska M., Bielawska A., Lewandowska-Siwkiewicz H., Priebe W., Lewandowski W. (2014). Apples: content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiol. Biochem.*, 84: 169-188.

- Lesschaeve, I., & Noble, A. C. (2005). Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 330S–335S.
- Magri, A.; Adiletta, G.; Petriccione, M. Evaluation of Antioxidant Systems and Ascorbate Glutathione Cycle in Feijoa Edible Flowers at Different Flowering Stages. *Foods* 2020, 9, 95.
- Mierziak J., Kostyn K., Kulma A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment *Molecules*, 9: 16240-16255.
- Petriccione, M., Pasquariello, M.S., Mastrobuoni, F., Zampella, L., Patre, D.D., & Scortichini, M. (2015). Influence of a chitosan coating on the quality and nutraceutical traits of loquat fruit during postharvest life. *Scientia Horticulturae*, 197, 287-296.
- Singleton VL and Rossi JA, Colorimetric of total phenolic with phoshomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *AmJ Enol Viticult* 16:144–158 (1995).
- Vicente, A. R., Manganaris, G. A., Sozzi, G. O., & Crisosto, C. H. (2009). Nutritional Quality of Fruits and Vegetables. *Postharvest Handling*, 57–106.
- Vrhovsek U., Rigo A., Tonon D., Mattivi F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6532-6538.
- Zhishen J, Mengcheng T and Wu J, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64:555–559 (1999).