



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

FLORE

Repository istituzionale dell'Università degli Studi di Firenze

Possibili effetti benefici del consumo di Feijoa: studio multidisciplinare di frutti di diverse cultivar per potenziali

Questa è la Versione finale referata (Post print/Accepted manuscript) della seguente pubblicazione:

Original Citation:

Possibili effetti benefici del consumo di Feijoa: studio multidisciplinare di frutti di diverse cultivar per potenziali applicazioni in settori merceologici differenziati / Campo M., V.P. - ELETTRONICO. - (2025), pp. 237-256. (XXXI Congresso Nazionale AISME 2023 Roma 16-18 novembre 2023) [10.13134/979-12-5977-448-4].

Availability:

The webpage <https://hdl.handle.net/2158/1453601> of the repository was last updated on 2026-02-12T11:23:50Z

Publisher:

roma tre-press

Published version:

DOI: 10.13134/979-12-5977-448-4

Terms of use:

Open Access

La pubblicazione è resa disponibile sotto le norme e i termini della licenza di deposito, secondo quanto stabilito dalla Policy per l'accesso aperto dell'Università degli Studi di Firenze (<https://www.sba.unifi.it/upload/policy-oa-2016-1.pdf>)

Publisher copyright claim:

Conformità alle politiche dell'editore / Compliance to publisher's policies

Questa versione della pubblicazione è conforme a quanto richiesto dalle politiche dell'editore in materia di copyright.

This version of the publication conforms to the publisher's copyright policies.

La data sopra indicata si riferisce all'ultimo aggiornamento della scheda del Repository FloRe - The above-mentioned date refers to the last update of the record in the Institutional Repository FloRe

(Article begins on next page)

Possibili effetti benefici del consumo di Feijoa: studio multidisciplinare di frutti di diverse cultivar per potenziali applicazioni in settori merceologici differenziati

Margherita Campo

Università degli Studi di Firenze

Pamela Vignolini

Università degli Studi di Firenze

Patrizia Pinelli

Università degli Studi di Firenze

Chiara Cassiani

Università degli Studi di Firenze

Irene Falsetti

Università degli Studi di Firenze

Gaia Palmi

Università degli Studi di Firenze

Teresa Iantomasi

Università degli Studi di Firenze

Maria Luisa Brandi

Fondazione Italiana Ricerca sulle Malattie dell'Osso

Carolina Santilli

Università degli Studi di Firenze

Stefano Biricolti

Università degli Studi di Firenze

Edgardo Giordani

Università degli Studi di Firenze

Massimo Gori

Università degli Studi di Firenze

Abstract

La Feijoa o “guayabo” (*Feijoa sellowiana* [O. Berg] O.Berg) è una specie arbustiva cespugliosa sempreverde dai frutti e fiori edibili. Nei paesi di origine del Sud America viene consumata come frutta fresca o trasformata mentre in Europa, pur essendosi ben adattata, ha avuto scarso successo a causa di problematiche agronomiche. Questo studio preliminare è stato svolto su frutti di cultivar Apollo a seguito dell'analisi genetica AFLP che ha mostrato scarse differenze genetiche tra cultivar; sono state eseguite analisi pomologiche e fisico-chimiche, la determinazione del contenuto di solidi solubili ed acidità titolabile come indicatori di maturazione, la valutazione *in vitro* dell'attività antiossidante correlata al contenuto di polifenoli totali e la messa a punto di un metodo di caratterizzazione quali-quantitativa HPLC-DAD-MS dei composti bioattivi polifenolici. Sono stati inoltre testati gli effetti di estratti di polpa sulla vitalità cellulare in un modello *in vitro* di adenocarcinoma del colon-retto over-esprimente il recettore estrogenico β (ER β).

I risultati fin ora ottenuti costituiscono la base per una ricerca finalizzata a mostrare l'impatto del consumo dei frutti di Feijoa sulla salute e sul benessere umano. Effetti positivi potrebbero incentivare il consumo fresco e di conseguenza la produzione e la ricerca di nuove cultivar. Sarà inoltre valutata

la prospettiva di realizzare semilavorati e prodotti finiti per settori merceologici differenziati quali principalmente il nutraceutico, sia utilizzando frutti e fiori, sia considerando la possibilità di applicare modelli di economia circolare mediante il recupero delle foglie e della buccia, per le cultivar ove quest'ultima non è edibile.

Parole chiave: *Feijoa sellowiana* (O. Berg) O.Berg, polifenoli, HPLC-DAD-MS, AFLP, variabilità genetica, recettore estrogenico β

1. Introduzione



La feijoa o “guayabo” (*Feijoa sellowiana* [O. Berg] O.Berg) è una specie arbustiva cespugliosa sempreverde dai frutti e fiori edibili originaria del Sud America, in particolare del Brasile meridionale, nord dell’Argentina, Paraguay e Uruguay. Alcune tra le principali cultivar (Apollo, Gemini, Mammoth, Triumph) sono state selezionate dopo l’esportazione e la diffusione della pianta in Nuova Zelanda, nel XX secolo (Schotsmans et al., 2011), mentre in tempi più recenti nuove cultivar sono state selezionate in Brasile e in Colombia. Nei paesi di origine del Sud America viene consumato il frutto fresco o trasformato di feijoa, mentre in Europa, pur essendosi ben adattata, la pianta ha avuto scarso successo a causa di problematiche agronomiche ed è presente solo a scopo ornamentale, se si escludono i pochi impianti specializzati presenti nelle aziende siciliane, dove negli ultimi anni si sono diffuse anche altre specie tropicali come mango e avocado. Anche il fiore viene utilizzato a scopo alimentare come prodotto di nicchia, poiché possiede un sapore particolarmente dolce. Le caratteristiche della feijoa rendono necessaria una scelta mirata delle cultivar e delle pratiche agronomiche per la coltivazione, oltre a una corretta gestione delle fasi di raccolta, trasporto e stoccaggio dei frutti per poter mantenere gli adeguati standard qualitativi. La refrigerazione e la conservazione in atmosfera modificata permettono di mantenere intatti più a lungo i frutti nonostante la scarsa resistenza a urti e pressione in seguito a cui tendono ad ammaccarsi e annerire per l’alto contenuto di polifenoli. In tempi recenti, studi scientifici hanno messo in evidenza le caratteristiche nutrizionali dei frutti di feijoa, che si mostrano ricchi in potassio, calcio, acido ascorbico, folati e polifenoli a fronte di un ridotto contenuto in lipidi e colesterolo; tali caratteristiche conferiscono ai frutti la capacità di contribuire alla salute e al benessere dei consumatori grazie agli effetti

antiossidanti, antinfiammatori e antimicrobici (Aoyama et al., 2018; Zhu et al., 2018). L'accresciuto interesse verso il consumo dei frutti freschi e trasformati ha incrementato il potenziale della feijoa nello sviluppo di colture sostenibili e le possibilità di commercializzazione sia nei Paesi di origine, sia in Italia, grazie alla crescente attenzione verso il *made in Italy* anche per specie tradizionalmente importate. Una caratterizzazione approfondita della composizione e delle proprietà dei frutti potrebbe costituire una base per incentivare la ricerca di nuove cultivar e promuovere la diffusione di questa coltura. In sede preliminare è stata svolta una ricerca sulla variabilità genetica con lo scopo di caratterizzare le cultivar della specie *Acca sellowiana* per valutare le accessioni da utilizzare per le successive analisi. L'analisi genetica ha tuttavia evidenziato una variabilità molto ridotta tra le diverse cultivar commerciali e nessuna accessione si è particolarmente distinta dalle altre, per cui sono state scelte 4 delle più importanti ('Gemini', 'Triumph', 'Apollo' e 'Mammoth') per le analisi quali-quantitative dei frutti e la cultivar Apollo anche per gli aspetti chimici e biologici.

Sui frutti sono state eseguite analisi pomologiche e fisico-chimiche, la determinazione del contenuto di solidi solubili ed acidità titolabile come indicatori di maturazione, la valutazione *in vitro* dell'attività antiossidante correlata al contenuto di polifenoli totali e la messa a punto di un metodo di caratterizzazione quali-quantitativa HPLC-DAD-MS dei composti polifenolici noti per le loro proprietà biologiche. Sono stati inoltre testati gli effetti di estratti di polpa sulla vitalità cellulare in un modello *in vitro* di adenocarcinoma del colon-retto over-esprimente il recettore estrogenico β (ER β). I risultati ad ora ottenuti costituiscono la base per una ricerca finalizzata a mostrare l'impatto del consumo dei frutti di feijoa sulla salute e sul benessere umano. La prosecuzione dello studio sarà volta ad approfondire gli attuali risultati e a valutare le possibilità di utilizzo di semilavorati e prodotti finiti a base di frutti e fiori in settori quali quello degli alimenti funzionali, ma sarà presa in esame anche la possibilità di applicare modelli di economia circolare mediante il recupero dei frutti inadatti al mercato del fresco, delle foglie ed altri scarti, per applicazioni in settori merceologici differenziati quali il nutraceutico, il cosmetico o la mangimistica animale, secondo l'esempio di modelli già applicati per altre filiere dell'agroindustria (Romani et al., 2020; Chamorro et al., 2022; Abad et al., 2023).

2. Metodologia

Un precedente studio, non ancora pubblicato, ha evidenziato una ridotta variabilità genetica su una popolazione di 131 accessioni di feijoa costituite sia da cultivar selezionate provenienti da diverse parti del mondo, sia da piante originarie dell'area di speciazione nella regione subtropicale di Misiones in Argentina. Nonostante l'elevata rappresentatività del campione delle cultivar selezionate

la variabilità genetica riscontrata è stata estremamente bassa e nessuna accessione o gruppo di accessioni si è distinta in modo particolare. Le accessioni provenienti dall'area di speciazione si sono invece diversificate e hanno evidenziato un livello molto più alto di variabilità genetica. Tenendo in considerazione i suddetti risultati la scelta dei frutti da analizzare è stata limitata ad alcune cultivar commerciali ('Gemini', 'Triumph', 'Apollo' e 'Mammoth') per gli aspetti pomologici, e sulla cultivar "Apollo" per le analisi chimiche e biochimiche, in base alla disponibilità di frutti certificati.

2.1 Materiale vegetale per analisi pomologica

I frutti di 4 cultivar di *Feijoa sellowiana*, 'Gemini', 'Triumph', 'Apollo' e 'Mammoth', sono stati conservati inizialmente a 4 °C per meno di una settimana, prima del loro utilizzo per le analisi.

Tutti i frutti di ciascuna cultivar sono stati raccolti in Italia. I 7 frutti 'Triumph' e gli 8 frutti 'Gemini' provengono da CREA-OFA (Caserta), gli 8 frutti 'Mammoth' dall'Az. Agr. Versil Green (Massarosa, Lucca) e i 57 frutti 'Apollo' sono stati offerti da un agricoltore locale a Firenze.

2.2 Analisi pomologica e qualitativa

Per la valutazione del grado di maturazione dei frutti sono state considerate le caratteristiche pomologiche e qualitative in accordo con Sánchez-Mora et al. (2019).

Le caratteristiche analizzate includono la lunghezza (mm) e il diametro equatoriale (mm) dei frutti, determinando così anche il rapporto lunghezza/diametro. Il colore della buccia dei frutti valutato tramite colorimetro portatile 3nh NH310 (Shenzhen ThreeNH Technology Co., Ltd), che ha permesso di misurare i valori di L* (luminosità), a* (asse verde-rosso), b* (asse blu-giallo), C* (chroma) e h (hue). A partire dalla cultivar 'Apollo', 32 frutti sono stati selezionati per l'analisi distruttiva, mentre per le altre cultivar sono stati utilizzati tutti i frutti disponibili. La durezza della buccia (kg/cm²) è stata valutata tramite penetrometro TR 53200 (T.R. Turoni Srl) con puntale da 8 mm. Il peso (g) dei frutti interi, delle polpe e delle bucce è stato misurato tramite bilancia di precisione Sartorius TE 1502S (Sartorius AG), ottenendo così il rapporto polpa/frutto intero in percentuale, chiamata resa polpa.

Il contenuto dei solidi solubili (TSS, °Brix) della polpa è stato misurato tramite rifrattometro a mano TR 53002 (T.R. Turoni Srl). Per valutare le differenze di acidità titolabile tra le cultivar (TA, % acido citrico), circa 1 g di polpa è stata prelevata da ciascun frutto delle cultivar 'Gemini', 'Triumph' e 'Mammoth'. Invece, i frutti della cultivar 'Apollo' sono stati divisi in 2 gruppi in base ai valori di TSS, bassi valori (<14 °Brix) e alti valori (≥14 °Brix). Approssimativamente 1 g di polpa è stata prelevata da 7 e 8 frutti di ciascun gruppo, rispettivamente. I 5 *bulk* di polpa ottenuti sono stati

diluiti in 600 mL di acqua distillata e divisi in 4 aliquote ciascuno. Il pH iniziale di ciascuna aliquota è stato misurato tramite Crison pH meter BasiC 20 (Hach Lange Spain, S.L.U.) e sono state successivamente titolate con NaOH 0.1 N fino al raggiungimento di pH 8.2. Il risultato è espresso in percentuale di acido citrico, tramite la formula:

$$TA = (W_{eq} \times N \times V_{NaOH}) \times 100/W_p$$

Dove W_{eq} è il peso equivalente dell'acido citrico monoidrato, 0.07 g/mEq; N è la normalità della soluzione di NaOH utilizzata; V_{NaOH} è il volume (mL) di NaOH necessario a far raggiungere alla soluzione pH di 8.2; W_p è il peso del *bulk* utilizzato. Inoltre, è stato determinato il rapporto tra il contenuto dei solidi solubili e l'acidità titolabile (TSS/TA). Le polpe e le bucce dei frutti sono state conservate a -20 °C.

2.3 Contenuto in polisaccaridi e polifenoli, attività antiossidante *in vitro*

Per l'estrazione dei polisaccaridi, 10.0g di polpa liofilizzata sono stati polverizzati ed estratti mediante decozione in 400mL di acqua deionizzata. L'estratto è stato centrifugato a 5000 rpm a -2°C per 10 minuti, quindi il solido è stato eliminato e al surnatante sono stati aggiunti 700mL di etanolo 96%; la miscela è stata mantenuta in bagno di ghiaccio per 1h, ottenendo la formazione di un gel che è stato separato dalla soluzione mediante passaggio su setaccio a maglie di 1.5 mm e centrifugato ad una temperatura di -2°C per 20 minuti. La soluzione limpida è stata recuperata per ripetere la stessa procedura. Il solido ottenuto è stato liofilizzato fino a completa essiccazione e pesato. Per l'estrazione dei polifenoli, 15.0g di polpa liofilizzata sono stati polverizzati ed estratti in 100.0mL di una miscela 70:30 EtOH:H₂O acidificata a pH 3.2 per aggiunta di acido formico, sotto agitazione meccanica, a temperatura ambiente per 24h. L'estratto è stato filtrato e centrifugato a 14000 rpm per eliminare i residui di matrice solida, quindi riportato ad un volume esatto di 100.0mL col solvente di estrazione.

Le analisi HPLC-DAD-MS sono state effettuate utilizzando un cromatografo liquido HP-1260 munito di un rivelatore DAD e uno spettrometro di massa HP 1100 MSD API-electrospray (Agilent Technologies) operante in positivo e in negativo, con una colonna Poroshell EC C18 150×3.0mm, 4µm (Agilent) termostata a 26°C. Gli eluenti utilizzati sono H₂O, acidificata a pH 3.2 per aggiunta di acido formico, e acetonitrile. È stato applicato un gradiente lineare a più step partendo da 100% acqua fino a 100% acetonitrile, ad un flusso di 0.7mL/min per un tempo totale di 80 minuti. L'identificazione dei singoli composti è stata effettuata mediante tempi di ritenzione e dati spettrofotometrici e spettrometrici, mediante il confronto con standard specifici ove disponibili e con i dati presenti in letteratura. La quantificazione è stata effettuata in HPLC/DAD usando curve di

regressione a 5 punti con $R^2 > 0.9998$, alle lunghezze d'onda di massima assorbanza UV-Vis, applicando la correzione dei pesi molecolari. I derivati dell'acido ellagico sono stati calibrati con acido ellagico a 254nm; le procianidine sono state calibrate a 280nm con catechina idrato. Le analisi sono state eseguite in triplicato ottenendo deviazioni standard inferiori al 5%. Il saggio spettrofotometrico con reattivo di Folin-Ciocalteu è stato eseguito aggiungendo 125µL di campione opportunamente diluito a 500µL di H₂O e a 125µL di reattivo; dopo 6 minuti di incubazione sono stati aggiunti 1.25mL di soluzione satura di Na₂CO₃ e 1.00mL di H₂O e la soluzione mantenuta in incubazione al buio per 85 minuti. I campioni sono stati quindi centrifugati per 5 minuti a 5000 rpm ed è stata misurata l'assorbanza a 725nm. Il contenuto in fenoli è stato determinato usando una curva di calibrazione a 5 punti in acido gallico ed espresso in GAE (Gallic Acid Equivalents).

2.4 Saggio di attività lisosomiale *in vitro*

Al fine di valutare possibili effetti antiproliferativi delle molecole fitoestrogeniche contenute nell'estratto di feijoa, le HCT8-β8, cellule di adenocarcinoma di colon trasfettate con il vettore plasmidico pCZN2-hERβ al fine di overesprimere il recettore estrogenico β (ERβ) (Martineti et al., 2005), sono state trattate con l'estratto idro-alcologico ottenuto dalla polpa della feijoa per la valutazione dei lisosomi, vescicole intracellulari indicatori dello stato di vitalità cellulare. La rilevazione della formazione dei lisosomi è stata condotta mediante colorazione della linea cellulare con l'Arancio di Acridina (AO), un colorante che ha la caratteristica di essere metacromatico.

La metacromasia dell'AO è dovuta al fatto di essere un composto organico permeabile, in grado di emettere fluorescenza nel verde o nel rosso in seguito rispettivamente al legame al DNA o all'RNA. Inoltre, l'AO permette di evidenziare, ove presenti eventuali differenze citosoliche di pH. Se il pH citosolico è 7.4-7.5, le molecole di AO si distanziano tra loro ed emettono fluorescenza intorno a 530nm (verde/giallo). Viceversa, se il pH citosolico è acido (condizione che ad esempio si verifica proprio all'interno delle vescicole lisosomiali), le molecole protonate di AO formano aggregati che precipitano nel citoplasma ed emettono fluorescenza intorno a 630 nm (rosso).

Le HCT8-β8 sono state coltivate a 37°C, in atmosfera umidificata al 5% di CO₂, in terreno di coltura RPMI-1640 addizionato con 100µg/mL di penicillina, 100µg/mL di streptomycin, 1mmol/L di sodio piruvato, 2mmol/L di L-glutamina e con 280,45µg/mL di geneticina (terreno completo) con 10% di siero fetale bovino (SFB). Per la determinazione della vitalità cellulare, le cellule sono state piastrate in mw da 24 ad una densità di $2,5 \times 10^3$ /pozzetto in terreno completo contenente il 5% di SFB. Dopo 72 ore, le cellule sono trattate o non con l'estratto idro-alcologico della polpa di feijoa contenente 30µM di polifenoli totali. Il mezzo di coltura con o senza l'estratto di feijoa è stato cambiato ogni 2/3 giorni.

Dopo 7 giorni di trattamento (168 ore totali), le cellule lavate tre volte con tampone fosfato salino (PBS) sono state incubate a 37°C, in atmosfera umidificata al 5% di CO₂ con una soluzione allo 0,2% di AO in PBS per 5 minuti. Successivamente, dopo tre lavaggi con PBS, è stato aggiunto il terreno di coltura RPMI-1640 addizionato di fosfato per evitare la sofferenza cellulare durante il periodo di osservazione al microscopio confocale LSM-900 (Zeiss). Le cellule sono state, quindi, osservate in microscopia confocale laser e le immagini acquisite tramite il software ZEN 3.1 (Zeiss).

3. Discussione dei risultati

L'analisi genetica tramite marcatori AFLP ha mostrato come la variabilità delle cultivar commerciali sia bassa contrariamente alle accessioni argentine. È nostra opinione che le cultivar commerciali attualmente coltivate nel mondo abbiano avuto origine da un numero limitato di individui ancestrali raccolti nel centro di origine della specie sul cui *pool* genico è stato successivamente interamente basato il miglioramento genetico finora condotto, giustificando quindi la ridotta variabilità tra le accessioni. Per il presente studio sono state quindi scelte 4 delle più importanti ('Gemini', 'Triumph', 'Apollo' e 'Mammoth') per le analisi quali-quantitative dei frutti e la cultivar Apollo anche per gli aspetti chimici e biologici.

3.1 Caratteristiche pomologiche e qualitative

Il peso dei frutti è molto variabile tra le cultivar, da un minimo di 24.60 ± 6.33 g (Mammoth) ad un massimo di 59.29 ± 8.46 g (Triumph), mentre tra Triumph e Gemini non si sono riscontrate differenze significative (Tabella 1). Tra la lunghezza e il diametro è presente una relazione (il rapporto L/D) che permette di descrivere la forma dei frutti, poiché valori uguali a 1 indicano frutti sferici.

I frutti di feijoa analizzati mostrano una forma oblunga e resa della polpa statisticamente non differente tra le varie cultivar. Al contrario, la durezza della buccia è estremamente variabile sia all'interno delle cultivar che tra queste (Tabella 1). I valori ottenuti nelle cultivar Mammoth e Apollo indicano frutti di dimensioni minori rispetto a quanto trovato in letteratura (Pasquariello et al., 2015, Patterson, 1990). Tuttavia, è importante notare come i valori presenti in questo lavoro rientrano nella variabilità delle caratteristiche generali della feijoa riportate da Schotsmans et al. (2011), ed anche i frutti Gemini e Triumph mostrano caratteristiche pomologiche coerenti con Pasquariello et al. (2015). Il colore di base della buccia dei frutti è il verde, con variazioni tra il marrone (Apollo) e il verde scuro (Triumph). La cultivar Triumph presenta mediamente buccia più scura, caratterizzata da luminosità di 41.87 ± 2.15 , mentre Apollo è la più chiara con luminosità media di 46.85 ± 3.22 .

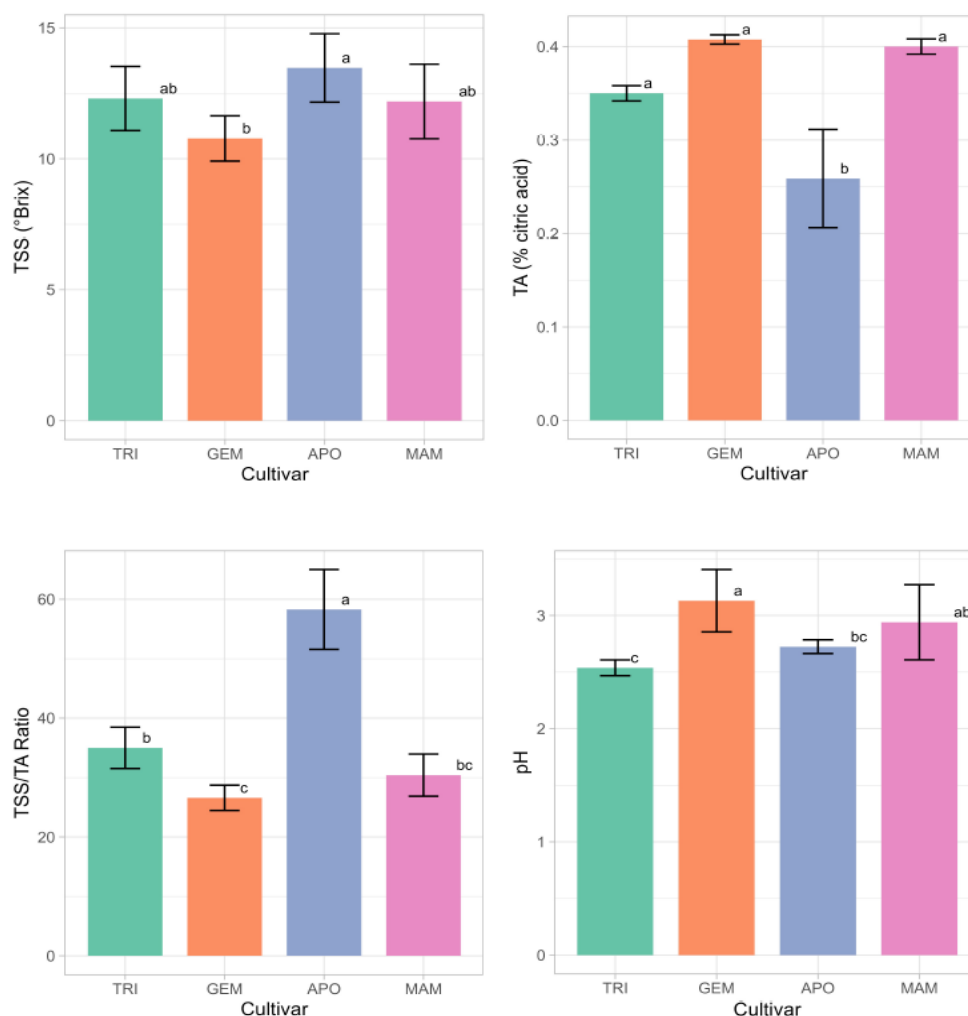
Gemini e Mammoth mostrano invece valori intermedi come riportati nella Tabella 1. Questi valori differiscono da quelli presentati da Yimeng et al. (2023), in cui i valori L* delle cultivar Triumph e Apollo sono maggiori ed anche i valori di a* risultano più tendenti al verde, con la cultivar Apollo che ha inoltre valore b* più tendente al blu rispetto a quanto misurato.

Tabella 1 – Valori medi del peso, diametro (D), lunghezza (L), rapporto L/D, resa polpa e durezza dei frutti interi e valori medi delle caratteristiche cromatiche (L*, a*, b*, C*, h) della buccia di frutti di feijoa (*Feijoa sellowiana*). I valori sono espressi come media $\pm$ deviazione standard. Per i vari parametri è stata effettuata un'analisi della varianza (ANOVA) a un fattore e test di Tukey per il confronto multiplo. Lettere diverse per lo stesso parametro indicano valori significativamente differenti con $p < 0.05$.

Parametro	Cultivar			
	Triumph	Gemini	Apollo	Mammoth
Peso (g)	59.29 $\pm$ 8.46 a	59.01 $\pm$ 3.08 a	37.80 $\pm$ 9.70 b	24.60 $\pm$ 6.33 c
Lunghezza (mm)	59.57 $\pm$ 3.95 a	57.12 $\pm$ 3.23 a	56.89 $\pm$ 5.67 a	43.12 $\pm$ 5.67 b
Diametro (mm)	42.29 $\pm$ 2.69 a	43.62 $\pm$ 1.51 a	35.77 $\pm$ 3.60 b	34.12 $\pm$ 2.03 b
Rapporto L/D	1.41 $\pm$ 0.16 b	1.29 $\pm$ 0.08 b	1.59 $\pm$ 0.15 a	1.25 $\pm$ 0.09 b
Resa polpa (%)	35.35 $\pm$ 2.42 a	41.74 $\pm$ 1.51 a	40.61 $\pm$ 6.61 a	36.24 $\pm$ 2.74 a
Durezza (kg/cm ²)	7.00 $\pm$ 3.14 a	5.77 $\pm$ 2.61 a	1.07 $\pm$ 0.57 b	1.41 $\pm$ 0.72 b
L*	41.87 $\pm$ 2.15 b	45.00 $\pm$ 3.51 ab	46.85 $\pm$ 3.22 a	45.69 $\pm$ 1.73 ab
a*	-6.53 $\pm$ 0.96 b	-7.88 $\pm$ 1.72 b	-3.55 $\pm$ 1.48 a	-6.92 $\pm$ 0.95 b
b*	20.14 $\pm$ 3.14 c	20.86 $\pm$ 3.34 c	34.52 $\pm$ 3.51 a	26.34 $\pm$ 3.11 b
C*	21.24 $\pm$ 2.78 c	22.42 $\pm$ 2.81 c	34.72 $\pm$ 3.55 a	27.24 $\pm$ 3.01 b
h	108.41 $\pm$ 4.76 b	123.36 $\pm$ 30.52 a	96.06 $\pm$ 2.33 c	104.85 $\pm$ 2.59 bc

Il rapporto zuccheri/acidi, espresso come rapporto TSS/TA, contribuisce al sapore caratteristico del frutto ed è quindi un indicatore della maturità commerciale e organolettica. Durante il processo di maturazione, gli acidi vengono degradati, il contenuto zuccherino aumenta e così il rapporto zuccheri/acidi aumenta (OECD, 2015). Nella Figura 1 si osserva come i valori del TSS sono simili tra le cultivar, con l'Apollo che è quella con valore significativamente minore (0.26 ± 0.05 % acido citrico), e risultano coerenti con quanto riportato in letteratura (Parra-Coronado et al., 2015; Pasquariello et al., 2015; Sun-Waterhouse et al., 2013; Schotsmans et al., 2011).

Figura 1 - Contenuto dei solidi solubili (TSS), acidi titolabili (TA), rapporto TSS/TA e pH della polpa di di frutti di feijoa (*Feijoa sellowiana*). TRI=Triumph; GEM=Gemini; APO=Apollo; MAM = Mammoth.



Anche i valori di TA sono in accordo con Sánchez-Mora et al. (2019) e Pasquariello et al. (2015). Il rapporto TSS/TA varia molto tra le varie cultivar e quella con valore maggiore è l'Apollò, ad indicare una predominanza del sapore dolce su quello acido. I pH della polpa differiscono da un massimo di 3.13 ± 0.28 (Gemini) ad un minimo di 2.54 ± 0.07 (Triumph), anche se sono presenti alcune similarità tra le cultivar come mostrato nella Figura 1.

3.2 Contenuto in polisaccaridi e polifenoli, attività antiossidante *in vitro*

Per quanto riguarda il contenuto in polisaccaridi dei frutti di feijoa 'Apollo', è stata valutata la resa in peso di polisaccaridi totali per poi, nelle successive fasi di studio, procedere ad una caratterizzazione più approfondita da punto di vista sia qualitativo che quantitativo. Seguendo la metodologia sopra descritta (par. 2.3), da 10g di polpa liofilizzata sono stati estratti 0.64g di polisaccaridi, con una resa del 6.4%. Considerando il contenuto medio in acqua perso con la liofilizzazione (83%), la resa in polisaccaridi totali è 1.1% rispetto alla polpa fresca. La consistenza gelatinosa dei polisaccaridi precipitati aggiungendo etanolo al decotto sembra confermare la presenza

di pectine come precedentemente riportato (Bell et al., 2018); come sopra specificato, per una caratterizzazione approfondita della componente polisaccaridica del campione verranno effettuate ulteriori analisi nelle fasi successive dello studio. Il profilo cromatografico HPLC-DAD-MS dell'estratto di polpa liofilizzata indica una composizione complessa in polifenoli, costituita da molecole con massimo di assorbimento UV-Vis principalmente a 254nm e 280nm, con pesi molecolari compresi tra 302Da (acido ellagico) e 936Da (casuarictina/potentillina). Le simili proprietà cromatografiche tra i composti presenti in miscela rendono difficile la messa a punto di un metodo analitico che permetta una separazione efficiente dei singoli polifenoli e una completa risoluzione dei picchi cromatografici. Alcuni dei composti polifenolici presenti, allo stato attuale non definitivamente identificati, sono riportati nella tabella sottostante come altri derivati ellagici e sono stati calibrati come acido ellagico (e), o come derivati ellagici calibrati in acido ellagico e corretti per il peso molecolare (9 e 10).

Tabella 2 – *Analisi HPLC-DAD-MS dei composti polifenolici nella polpa di feijoa*

	Composto	mg/g polpa liofilizzata	mg/g polpa fresca
1	Pedunculagina isomero I	0.091	0.016
2	Pedunculagina isomero II	0.164	0.028
3	HHDP-glucosio	0.023	0.004
f	Derivato flavonoidico	tracce	tracce
4	Casuarictina/potentillina	0.028	0.005
5	Acido ellagico esoside I	0.020	0.003
6	Acido ellagico arabinoside I	0.059	0.010
7	Acido ellagico arabinoside II	0.012	0.002
8	Acido ellagico esoside II	0.017	0.003
9	Acido ellagico derivato m/z 491	0.120	0.020
10	Acido ellagico derivato m/z 423	0.024	0.004
e	Altri derivati ellagici	0.163	0.028
11	Procianidina dimero I	0.147	0.025
12	Procianidina dimero II	0.337	0.057
13	Procianidina dimero III	0.079	0.013
Totale		1.284	0.218

L'analisi quali-quantitativa dei metaboliti secondari polifenolici, la cui metodologia è tuttora in corso di ottimizzazione, ha permesso fin ora di identificare e quantificare i composti riportati in Tabella 2, appartenenti alle sottoclassi dei tannini idrolizzabili (in particolare derivati di acido ellagico e HHDP-glucosio: composti 1-10 e composti contrassegnati con “e”) e dei tannini condensati (procianidine, presenti come dimeri in tre diverse forme isomeriche, composti 11-13), mentre è stato rilevato un solo flavonoide in tracce. Il totale di polifenoli riportato in tabella si riferisce ai composti che il metodo analitico permette di isolare e identificare allo stato attuale dello studio, e non

necessariamente al totale dei polifenoli presenti per i quali tale metodo richiede un'ulteriore elaborazione; si considerano quindi affidabili i dati quantitativi relativi ai singoli composti identificati, mentre il totale costituito dalla loro somma rappresenta sicuramente una sottostima del quantitativo di polifenoli presenti nella polpa di feijoa. I risultati fin ora ottenuti, dal punto di vista qualitativo, concordano con i dati disponibili in letteratura (Weston, 2010; Aoyama et al., 2018; de Oliveira Schmidt et al., 2020). L'attività antiossidante è stata determinata mediante saggio spettrofotometrico *in vitro* con reattivo di Folin-Ciocalteu, che fornisce una stima di tale attività correlata con il contenuto in fenoli e polifenoli totali. Il saggio indica un contenuto in fenoli/polifenoli totali di 8.07 ± 1.01 mg/g GAE (Galli Acid Equivalents) rispetto al peso di polpa liofilizzata (1.37 mg/g GAE rispetto al peso di polpa fresca con un contenuto in acqua dell'83%). L'ottimizzazione dei metodi analitici per caratterizzare la polpa di feijoa è tuttora in corso, ma i risultati ad oggi ottenuti indicano la presenza di un interessante contenuto in polisaccaridi, verosimilmente pectine, e soprattutto di una grande varietà di polifenoli appartenenti per la quasi totalità alle sottoclassi dei tannini sia idrolizzabili che condensati, caratterizzati da numerose proprietà biologiche tra cui l'attività antiossidante, per la quale è stata effettuata una valutazione *in vitro*. La prosecuzione dello studio permetterà una caratterizzazione quali-quantitativa completa e approfondita del contenuto polisaccaridico e polifenolico della matrice oggetto di studio.

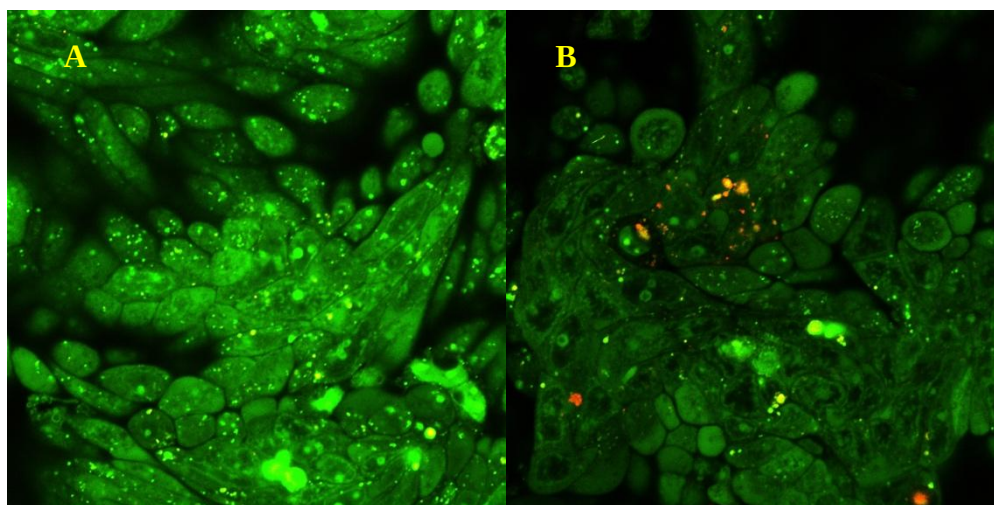
3.3 Saggio attività lisosomiale *in vitro*

È stato dimostrato che il recettore estrogenico β (ER β), ha un ruolo protettivo sulla mucosa nell'insorgenza del cancro del colon, pertanto, l'allestimento di un modello cellulare overesprimente questo recettore, come la linea cellulare HCT8- β 8, permette sia di valutare *in vitro* il ruolo di ER β nella tumorigenesi del colon sia di studiare come i fitoestrogeni, molecole di origine vegetale che presentano un'analogia strutturale con il 17 β -estradiolo, ligando endogeno naturale di ER β , si leghino al recettore e quali possano essere gli effetti di tale legame sulla tumorigenesi del colon. Per lo studio della vitalità cellulare è stata inizialmente valutata la formazione dei lisosomi che, sebbene siano normalmente presenti all'interno delle cellule, svolgendo la funzione di eliminare ciò che alla cellula non è più necessario, aumentano in condizioni di stress cellulare.

I risultati ottenuti mostrano che le HCT8- β 8 non trattate con l'estratto (controllo) presentavano una fluorescenza verde brillante ed omogenea (Figura 2A), mentre quelle trattate con l'estratto di feijoa assumevano una fluorescenza verde pallida con un numero maggiore di lisosomi, evidenziati da un colore rosso/arancio brillante (Figura 2B).

Figura 2. Saggio attività lisosomiale. Le HCT8- β 8 sono state trattate con l'estratto di feijoa per

168h e successivamente colorate con AO. Lem HCT8-b8 non trattate (controllo) emettono una fluorescenza verde brillante (A), al contrario le HCT8-b8 trattate emettono una fluorescenza verde meno intensa e in queste si possono osservare i lisosomi, evidenziati da una fluorescenza brillante rosso/arancio (B). Osservazione in LSM con colori convenzionali. Obiettivo: 63X a immersione.



4. Conclusioni

Feijoa sellowiana presenta valide prospettive di sviluppo nell'agricoltura biologica grazie alla sua elevata capacità di adattarsi a diverse condizioni agronomiche e alla sua bassa suscettibilità a parassiti e malattie (Schotsmans et al., 2011). Tuttavia, questa pianta rimane una specie sottoutilizzata tra i frutti e le verdure, principalmente a causa della sua presenza stagionale sul mercato e della limitata area di coltivazione in tutto il mondo (Vatrano et al., 2022). I pregressi risultati dell'analisi genetica suggeriscono che un migliore sfruttamento delle risorse genetiche presenti nei centri di origine della specie potrebbe essere fondamentale per futuri progetti di miglioramento genetico per la ricerca di caratteri in grado di esaltare le caratteristiche nutraceutiche del frutto. Inoltre, una caratterizzazione quali-quantitativa approfondita della composizione e delle proprietà dei frutti potrebbe costituire una base per incentivare il consumo e promuovere la diffusione di questa coltura.

L'analisi pomologica e qualitativa evidenzia come i frutti siano altamente variabili tra le cultivar e all'interno della cultivar stessa, ciò è dovuto probabilmente alle caratteristiche ambientali e all'età della pianta, come evidenziato anche in molti altri studi (Pasquariello et al., 2015; Sánchez-Mora et al., 2019; Fischer et al., 2020). Pertanto, ad oggi è difficile poter utilizzare questi parametri, in particolare la lunghezza, il diametro e il colore della buccia, come riferimenti per determinare il periodo di maturazione dei frutti. Al contrario, le caratteristiche chimiche della polpa, quali TSS e TA, rappresentano indici di maturazione più consistenti e affidabili. Lo sviluppo di nuove cultivar

con qualità superiori dei frutti e maggiore adattabilità ai diversi ambienti rappresenta un fattore cruciale per l'ottimizzazione della gestione agronomica, al fine di garantire una regolarità dei frutteti commerciali. Per questo, sono già in corso ulteriori analisi genetiche tramite *marker* AFLP su campioni fogliari per ampliare le conoscenze genetiche e genomiche e semplificare il miglioramento genetico di questa specie e delle sue cultivar.

La caratterizzazione chimica della polpa dei frutti di feijoa 'Apollo' ha permesso di rilevare la presenza di polisaccaridi, probabilmente pectine, e di un'ampia varietà di polifenoli appartenenti alle sottoclassi dei tannini idrolizzabili e dei tannini condensati. Tali composti sono caratterizzati da importanti proprietà biologiche che rendono il frutto di feijoa capace di apportare benefici se consumato fresco o trasformato, ma lo rendono adatto anche all'ipotesi di eventuali ulteriori utilizzi come ingrediente in prodotti destinati al settore nutraceutico o degli alimenti funzionali (Serrano et al., 2009; Zhu, 2018; Fraga-Corral et al., 2021). Diversi studi hanno ad oggi dimostrato che un'alimentazione ricca in frutta e verdura aiuta a prevenire l'incidenza di diversi tumori e questo sembra essere effettivamente in parte legato all'alto contenuto di polifenoli che ritroviamo in questi alimenti (Maiuolo et al., 2021; Bakrim et al., 2022). *In vitro* è stato dimostrato che tali molecole naturali possono avere un effetto antiproliferativo, antinfiammatorio e antiossidante, limitando la tumorigenesi (Pampaloni et al., 2014; Zhou et al., 2016). Considerando che i polifenoli, grazie alla loro analogia strutturale con l'estrogeno endogeno, il 17 β -estradiolo, sono in grado di ridurre la tumorigenesi del colon, in questo studio siamo andati ad analizzare per la prima volta se anche i polifenoli contenuti nell'estratto della polpa della feijoa possano avere effetti analoghi. I primi dati ottenuti dall'analisi dell'attività lisosomiale nel modello cellulare scelto di adenocarcinoma del colon overesprimente il ER β trattato con l'estratto con una concentrazione di polifenoli totali di 30 μ M, hanno mostrato un aumento dell'attività lisosomiale rispetto alle cellule non trattate, dimostrando come l'estratto sia in grado di indurre uno stress cellulare nella cellula tumorale, compromettendone la vitalità. Alla luce di questo primo risultato ottenuto, si può ipotizzare che i polifenoli contenuti nella polpa di feijoa possano svolgere un ruolo antineoplastico nella tumorigenesi del colon, nonché un possibile ruolo protettivo. Sono oggi in corso ulteriori test *in vitro* per confermare il dato ottenuto, per indagare i meccanismi molecolari e cellulari che possono essere alla base dell'effetto antitumorale della feijoa, e per valutare se gli effetti dei polifenoli in essa contenuti siano dovuti alla loro possibile interazione con il ER β .

Ulteriori studi saranno volti alla valutazione di modelli di economia circolare, mediante il recupero dei frutti inadatti al consumo in alimentazione umana e l'utilizzo in settori differenziati, dalla mangimistica animale alla produzione di semilavorati e specifici materiali (Bell et al., 2018; Fonseca et al., 2023), o mediante la caratterizzazione e l'utilizzo delle foglie e della buccia, per le cultivar ove quest'ultima non è edibile (Moradian et al., 2019; Cebi et al., 2021; Santos et al., 2021).

I risultati dello studio potrebbero incentivare la produzione e la ricerca di nuove cultivar di feijoa in Italia, dove attualmente è presente solo come specie ornamentale, ma anche nei Paesi di origine della pianta (Brasile, Argentina, Paraguay, Uruguay), con la creazione di nuove filiere e nuove sinergie, e le conseguenti positive ricadute a livello socio-economico.

Bibliografia

Aoyama, H., Sakagami, H., & Hatano, T. (2018). Three new flavonoids, proanthocyanidin, and accompanying phenolic constituents from Feijoa sellowiana. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 82(1), 31-41.

Bakrim, S., El Omari, N., El Hachlafi, N., Bakri, Y., Lee, L. H., & Bouyahya, A. (2022). Dietary Phenolic Compounds as Anticancer Natural Drugs: Recent Update on Molecular Mechanisms and Clinical Trials. *Foods*, 11(21), 3323.

Bell, T. J., Draper, S. L., Centanni, M., Carnachan, S. M., Tannock, G. W., & Sims, I. M. (2018). Characterization of polysaccharides from feijoa fruits (*Acca sellowiana* Berg.) and their utilization as growth substrates by gut commensal *Bacteroides* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(50), 13277-13284.

Cebi, N., & Sagdic, O. (2021). Characterization of Feijoa sellowiana leaves based on volatile and phenolic compound compositions and antimicrobial properties. *Food Science and Technology*, 42, e14221.

de Oliveira Schmidt, H., Rockett, F. C., Klen, A. V. B., Schmidt, L., Rodrigues, E., Tischer, B., ... & Rios, A. D. O. (2020). New insights into the phenolic compounds and antioxidant capacity of feijoa and cherry fruits cultivated in Brazil. *Food Research International*, 136, p. 109564.

Fischer, Gerhard, Alfonso Parra-Coronado, & Helber Enrique Balaguera-López (2020). Aspects of Crop and Physiology of Feijoa (*Acca sellowiana* [Berg] Burret). A Review. *Ciencia y Agricultura* 17.3, 11–24.

Fonseca, N. V. B., Cardoso, A. D. S., Bahia, A. S. R. D. S., Messana, J. D., Vicente, E. F., & Reis, R. A. (2023). Additive tannins in ruminant nutrition: An alternative to achieve sustainability in animal production. *Sustainability*, 15(5), 4162.

Fraga-Corral, M., Otero, P., Echave, J., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Jarbou, A., ... & Prieto, M. A. (2021). By-products of agri-food industry as tannin-rich sources: A review of tannins' biological activities and their potential for valorization. *Foods*, 10(1), 137.

Maiuolo, J., Gliozzi, M., Carresi, C., Musolino, V., Oppedisano, F., Scarano, F., ... & Mollace, V. (2021). Nutraceuticals and cancer: Potential for natural polyphenols. *Nutrients*, 13(11), 3834.

Martineti, V., Picariello, L., Tognarini, I., Sala, S. C., Gozzini, A., Azzari, C., ... & Brandi, M.

L. (2005). ER β is a potent inhibitor of cell proliferation in the HCT8 human colon cancer cell line through regulation of cell cycle components. *Endocrine-related cancer*, 12(2), 455-469.

Moradian, M., Ganjloo, A., & Bimakr, M. (2019). Effect of feijoa leaf polysaccharides on the physicochemical and sensory properties of low fat yogurt during storage. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 14(2), 105-115.

OECD (2015). Guidelines on Objective Tests. OECD, 1–38.

<<https://www.oecd.org/agriculture/fruit-vegetables/publications/oecd-guidelines-fruit-vegetables.htm>>

Pampaloni, B., Palmini, G., Mavilia, C., Zonefrati, R., Tanini, A., & Brandi, M. L. (2014). In vitro effects of polyphenols on colorectal cancer cells. *World journal of gastrointestinal oncology*, 6(8), 289.

Parra-Coronado, Alfonso, Gerhard Fischer, & Jesús Hernán Camacho-Tamayo (2015). Development and quality of pineapple guava fruit in two locations with different altitudes in Cundinamarca, Colombia. *Bragantia* 74, 359–366.

Pasquariello, Maria Silvia, Francesco Mastrobuoni, Donatella Di Patre, Luigi Zampella, Laura Rita Capuano, Marco Scortichini, & Milena Petriccione (2015). Agronomic, nutraceutical and molecular variability of feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) germplasm. *Scientia Horticulturae* 191, 1–9.

Patterson, K. J. (1990). Effects of pollination on fruit set, size, and quality in feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 18.2-3, 127–131.

Sánchez-Mora, Fernando David, Luciano Saifert, Marlise Nara Ciotta, Humberto Nunes Ribeiro, Vanessa Samara Petry, et al. (2019). Characterization of Phenotypic Diversity of Feijoa Fruits of Germplasm Accessions in Brazil. *Agrosystems, Geosciences & Environment* 2.1.

Santos, P. H., Kammers, J. C., Silva, A. P., Oliveira, J. V., & Hense, H. (2021). Antioxidant and antibacterial compounds from feijoa leaf extracts obtained by pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. *Food Chemistry*, 344, 128620.

Schotsmans, W.C., W.C. East, G. Thorp, & A.B. Woolf (2011). 6 - Feijoa (*Acca sellowiana* [Berg] Burret). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, 115–135e.

Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., & Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular nutrition & food research*, 53(S2), S310-S329.

Sun-Waterhouse, Dongxiao, Wei Wang, Geoffrey I. N. Waterhouse, & Sandhya S. Wadhwa (2013). Utilisation Potential of Feijoa Fruit Wastes as Ingredients for Functional Foods. *Food and*

Bioprocess Technology 6, 3441–3455.

Vatrano, Thomas, Margherita Amenta, Andrea Copetta, Maria Guardo, Angelina Nunziata, Maria Concetta Strano, & Milena Petriccione (2022). Multifunctional Role of *Acca sellowiana* from Farm Management to Postharvest Life: A Review. *Agronomy* 12.8.

Weston, R. J. (2010). Bioactive products from fruit of the feijoa (*Feijoa sellowiana*, Myrtaceae): A review. *Food Chemistry*, 121(4), 923-926.

Yimeng, Zhao, Ariefandie Febrianto Noor, & Zhu Fan (2023). Characterization of physicochemical properties, flavor volatiles and phenolic compounds of feijoa fruit varieties. *Food Chemistry* 419, 136074.

Zhou, Y., Zheng, J., Li, Y., Xu, D. P., Li, S., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2016). Natural polyphenols for prevention and treatment of cancer. *Nutrients*, 8(8), 515.

Zhu, F. (2018). Chemical and biological properties of feijoa (*Acca sellowiana*). *Trends in Food Science & Technology*, 81, 121-131.