



ANNALI

DELLA FACOLTA' DI AGRARIA DELL' UNIVERSITA'
SASSARI

studi sassaresi

Sezione III

1982

Volume XXIX

ANNALI

DELLA FACOLTA' DI AGRARIA DELL' UNIVERSITA'

————— SASSARI —————

DIRETTORE: G. RIVOIRA

*COMITATO DI REDAZIONE: M. DATILO - S. DE MONTIS - F. FATICHENTI
C. GESSA - L. IDDA - F. MARRAS - A. MILELLA - P. PICCAROLO - A. PIETRACAPRINA
R. PROTA - G. TORRE - A. VODRET*

studi sassaresi

ORGANO UFFICIALE
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI



Istituto per lo studio dei problemi bio-agronomici
delle colture arboree mediterranee del C.N.R.

(Direttore: Prof. *M. Agabbio*)

M. AGABBIO - M. SCHIRRA - I. CHESSA*

**TEST MORFOQUALITATIVI E CHIMICI APPLICABILI
AI FRUTTI DI AGRUMI FRIGOCONSERVATI**

RIASSUNTO

È stata effettuata una estesa analisi bibliografica da cui sono state ricavate le metodiche per il controllo morfo-qualitativo dei frutti degli agrumi sottoposti a processi di frigoconservazione.

Si è poi proceduto alla *verifica dei diversi metodi suggeriti dalla letteratura specifica per individuare i procedimenti di analisi che meglio esprimono gli aspetti qualitativi e le loro variazioni sugli agrumi frigoconservati. Infine, viene fatta una esposizione delle metodologie suggeribili agli operatori per questo tipo di controllo.*

SUMMARY

A survey and evaluation of morpho-qualitative methods suitable for refrigerated citrus fruit.

A preliminary bibliographical research provided the methods to be followed for a morpho-qualitative control of refrigerated citrus fruit.

The different methods were then checked in order to determine the procedures through which the qualitative aspects and their changes in refrigerated citrus fruit are best shown.

The methods which can be suggested to those *in charge for this type of control are then described.*

PREMESSA

Durante la frigoconservazione i frutti degli agrumi, così come tutti gli altri prodotti ortofrutticoli, vanno incontro a manifestazioni patologiche di origine microbiologica e/o chimico-fisiche, che fanno perdere ai frutti quelle caratteristiche che li rendono idonei al consumo diretto come frutta fresca e quindi ad essere oggetto di commercio (25, 47, 110, 111, 121, 122).

* Rispettivamente Professore Straordinario di Agrumicoltura presso la Facoltà di Agraria di Sassari e Collaboratori Tecnici Professionali del C.N.R.

Gli interventi in cella sui fattori ambientali che consentono un rallentamento e un controllo dei fenomeni degenerativi (7, 15, 17, 29, 44, 45, 46, 56, 59, 62, 85, 90, 91, 104, 115), permettono, in alcuni casi, un notevole prolungamento della conservazione della frutta e ne rendono possibile il consumo in tempi lontani dal momento della raccolta.

Il buon andamento della frigoconservazione ortofrutticola dipende dall'entità delle manifestazioni microbiologiche che, essendo le più evidenti, consentono una prima valutazione sull'andamento della conservazione stessa, nonché delle modificazioni di natura chimico-fisica dovute all'interruzione e all'alterazione di molti processi vitali e al conseguente decadimento dei tessuti costitutivi.

Per studiare sperimentalmente un processo di frigoconservazione è necessario effettuare delle indagini sulle caratteristiche qualitative dei prodotti in esame e sulle modificazioni che si verificano nel corso dell'immagazzinamento. Svolgere queste indagini comporta diverse difficoltà. Infatti, molti dei suddetti caratteri non solo non sono misurabili con metodi oggettivi, ma neppure chiaramente definibili. Dalle considerazioni esposte è scaturita l'opportunità di impostare una indagine di base sui diversi test impiegabili per lo studio dei fenomeni citati, ai quali l'Istituto farà costante riferimento nelle ricerche specificate.

Uno studio preliminare sulle alterazioni di origine diversa da quella microbiologica ha portato a individuare una serie di parametri che consentono di valutare con maggiore esattezza le caratteristiche morfo-qualitative dei prodotti in osservazione e le loro modificazioni durante il periodo di immagazzinamento. Tra i parametri esaminati alcuni, sebbene importanti ai fini della formulazione di un giudizio sulla qualità del prodotto (come ad es. il calibro dei frutti, il numero dei semi, la tessitura e lo spessore della buccia), non verranno presi in considerazione in questa nota in quanto non sembrano fornire, tranne in casi particolari, informazioni sufficientemente oggettive sull'andamento della frigoconservazione.

I parametri che a nostro avviso assumono una certa rilevanza ai fini dell'osservazione dei fenomeni connessi alla conservazione refrigerata sono il colore della buccia e della polpa, la consistenza del frutto, il disseccamento e la resistenza al distacco della rosetta, il gusto, l'aroma e il contenuto in succo, elementi su cui si basa in massima parte il giudizio del consumatore; oltre ad essi verranno considerati alcuni parametri relativi alla composizione chimica, da cui dipendono principalmente le proprietà nutritive del frutto.

COLORE

La buccia e la polpa degli agrumi frigoconservati possono subire una variazione di colore, particolarmente marcata nei pompelmi e nei limoni; la sua valutazione

quantitativa costituisce un interessante elemento di studio, in quanto, oltre ad essere una caratteristica che concorre ai fini della valutazione della qualità del prodotto per il consumo diretto come frutta fresca (5,102), potrebbe rappresentare un indice dello stato di conservazione del frutto stesso (12, 36, 77, 87, 131).

Le misure basate sul confronto con carte colorimetriche o con preparati standards (80,134) sono soggettive e pertanto poco attendibili. Infatti, i risultati dipendono dalle diverse fonti di illuminazione dell'ambiente in cui si opera e dalla sensibilità percettiva dell'osservatore.

I metodi chimici che si basano sull'estrazione e dosaggio dei pigmenti della buccia e della polpa (79, 107, 127, 128) sono troppo laboriosi, pertanto non utilizzabili per analisi di routine anche perché non sempre danno una misura sufficientemente indicativa del colore.

Determinazioni soddisfacenti e oggettive per la misura di questo parametro sono oggi possibili grazie allo sviluppo di tecniche strumentali non distruttive adattabili alle esigenze più specifiche (5, 8, 14, 101, 102, 109, 136). In particolare, per la determinazione del colore dei frutti degli agrumi si prestano bene gli strumenti che si basano sul principio della spettrofotometria tristimulus, noto anche come «metodo tricromatico».¹

Queste tecniche sono basate principalmente su misure di riflettanza, per mezzo di spettrofotometri tristimulus o di trasmittanza mediante spettrofotometri ad alta densità ottica. Le prime si fondano sull'analisi spettrale della luce riflessa dal campione in analisi, le seconde sulla misura della densità ottica della radiazione dopo che ha attraversato il frutto.

Tali tecniche sono facilmente applicabili su campioni che presentano superfici piane, come ad es. la sezione di un frutto, mentre la determinazione del colore su campioni sferoidali come i frutti di agrumi, che spesso presentano irregolarità nella distribuzione del colore e nella conformazione della buccia, è più laboriosa e richiede per ogni campione numerose letture.

Una soluzione di questo problema è stata ottenuta presso l'I.V.T.P.A. di Milano ad opera di Polosello e coll. (101) mediante la realizzazione di un dispositivo che, permettendo la rotazione del campione a distanza costante dalla testata ottica dello strumento, assicura una più corretta determinazione.

¹ In tale metodo si assume che ogni colore possa essere formato dalla mescolanza dei colori rosso (R), verde (V), blu (B) e venga caratterizzato da tre attributi definiti rispettivamente «tono cromatico», «saturazione» e «brillanza», secondo le definizioni di Koning (73). Ogni colore viene così definito da un punto di un particolare sistema di rappresentazione, «triangoli tricromatici» (27), attualmente sostituiti — secondo le norme della Commissione Internazionale di Illuminazione (C.I.E.) — da un sistema cartesiano ove gli assi x e y rappresentano il tono cromatico e la saturazione; la brillantezza viene indicata separatamente (52, 135, 138). Gli spettrofotometri tristimulus permettono di ottenere i valori dei coefficienti di trimulo per convertirli nei valori delle coordinate tricromatiche.

CONSISTENZA

I frutti degli agrumi sottoposti a prolungati periodi di frigoconservazione, tendono a perdere la turgidità che possiedono al momento della raccolta. Essendo la consistenza uno dei parametri fondamentali ai fini della valutazione qualitativa della frutta, la conoscenza della sua variazione durante il periodo di immagazzinamento fornisce indicazioni sul decadimento dei frutti conservati.

Numerosi strumenti di misura basati su differenti principi sono stati realizzati e sono disponibili quindi per la determinazione della consistenza dei prodotti ortofrutticoli; a questo proposito Eccher Zerbini in una sua nota (32), dopo aver discusso sul significato della consistenza come parametro di qualità e analizzato le difficoltà che la sua misura presenta da un punto di vista metodologico, passa in rassegna i metodi strumentali e le tecniche usate per la valutazione oggettiva di questo parametro. Fra questi, lo strumento più diffusamente utilizzato per la misura della consistenza dei prodotti ortofrutticoli, per la sua maneggevolezza e facilità d'uso è il penetrometro di Magness e Taylor (81) il cui funzionamento si basa sulla penetrazione di un organo metallico in senso perpendicolare all'asse del frutto, sino alla profondità prefissata, misurandone la forza necessaria.

Nel caso dei frutti degli agrumi sono state proposte tecniche specifiche basate sul principio del penetrometro di Magness e Taylor (123) o che sfruttano le proprietà viscoelastiche misurando la deformabilità dei frutti (117).

TESSITURA

La tessitura della polpa dei frutti degli agrumi appena raccolti e in condizioni ottimali di maturità si presenta più o meno uniforme, regolare e compatta; in quelli stramaturi, troppo asciutti o sottoposti a frigoconservazione tende ad assumere un aspetto spigato, conferendo alla polpa caratteristiche più scadenti.

Il procedimento che l'Istituto preferisce adottare per la stima di questo parametro è il seguente: per ogni campione da esaminare vengono utilizzati 20 frutti di cui, dopo essere stati sezionati in corrispondenza del piano equatoriale, se ne osserva la distribuzione, forma e dimensione delle vescicole che compongono la tessitura della polpa. Si potrà così esprimere un giudizio, su base numerica, facendo uso della scala qui di seguito riportata:

Tessitura

4	regolare
3	quasi regolare
2	irregolare
1	molto irregolare

I risultati conseguibili attraverso tale procedura sono naturalmente soggettivi e non generalizzabili, ma, se vengono effettuati sempre dallo stesso operatore acquistano sufficiente validità.

DISSECCAMENTO E DISTACCO DELLA ROSETTA

Nei frutti degli agrumi freschi e in condizioni ottimali di maturità, la rosetta assume un caratteristico colore verde e oppone una certa resistenza al suo distacco; col passare del tempo dal periodo della raccolta tende prima ad imbrunire poi a disseccarsi e a staccarsi spontaneamente. Le osservazioni in cella circa il periodo necessario per il disseccamento e successivo distacco forniscono ulteriori indicazioni sul decadimento qualitativo dei frutti frigoconservati.

La valutazione quantitativa sull'andamento del suddetto fenomeno può essere fatta misurando periodicamente la variazione del colore e la resistenza al distacco della rosetta; quest'ultimo parametro può essere determinato utilizzando un dinamometro opportunamente adattato, in cui l'uncino di attacco per le misure di tensione, viene sostituito con un morsetto per la presa del picciolo consentendo così l'applicazione della forza necessaria per il distacco.

CARATTERI ORGANOLETTICI

Per esprimere un giudizio sulla qualità di un frutto non si può prescindere dalla valutazione dei caratteri organolettici (gusto e aroma) basata sul parere espresso da una giuria di assaggiatori (33).

Poiché durante la conservazione queste caratteristiche possono subire variazioni tali da far perdere ai frutti la loro utilizzazione in campo commerciale, appare opportuno disporre di un metodo che consenta la valutazione quantitativa. A tale proposito il procedimento che l'Istituto intende adottare nelle ricerche specifiche, per quanto concerne la formazione della giuria e la preparazione dei campioni da esaminare, è quello indicato da Lombard e Brunk (78). Tale procedimento consiste essenzialmente nel disporre di una giuria costituita da un numero di assaggiatori inesperti non inferiore a 30, ai quali verranno sottoposti per i suddetti esami, non più di quattro campioni per volta. Per ogni campione da esaminare si dovranno scegliere a caso un numero sufficiente di frutti e da ogni frutto prelevare alcuni spicchi da porre in un contenitore mischiati. Ogni membro della giuria assaggerà tre spicchi per ogni campione, avendo cura di sciacquarsi la bocca con acqua prima di effettuare altre prove.

Ogni campione da esaminare dovrà essere accompagnato da un questionario contenente le caratteristiche da ricercare durante il test ed i relativi indici di gradimento.

Poiché i test vengono effettuati da consumatori che ignorano le finalità del lavoro, il linguaggio utilizzato in tale scheda dovrà essere estremamente semplice, di immediata interpretazione. A tale proposito presso il nostro Istituto (I.A.M.), dopo aver individuato le caratteristiche che maggiormente concorrono ai fini della formulazione di un giudizio sui caratteri organolettici dei frutti in questione, è stato preparato un questionario i cui livelli di gradimento vengono presentati mediante una scala edonistica facciale analoga a quella sviluppata dalla Continental Can Company Inc. (34).

Tali caratteristiche comprendono l'aroma del frutto, il sapore, la dolcezza, l'acidità, la succosità e il contenuto in fibra. Per ciascuno di questi parametri l'assaggiatore potrà dare la valutazione semplicemente segnando una croce in corrispondenza al livello di gradimento che meglio esprime il proprio giudizio.

L'evoluzione delle caratteristiche in oggetto, può essere valutata attraverso l'elaborazione statistica dei risultati attribuendo il valore 2 al livello di gradimento più basso e aumentando di due punti per ognuno dei cinque livelli indicati, sino a quello più elevato a cui si darà il valore 10.






		INDICE DI GRADIMENTO				
						
campione N°	caratteristiche					
	aroma					
	sapore					
	dolcezza					
	acidità					
	succo					
	fibra					

Fig. 1 - Scala edonistica facciale con i suoi parametri organolettici ritenuti più idonei per una completa valutazione dei caratteri qualitativi.

Rating scale of organoleptic parameters for sensory quality evaluation.

Per quanto concerne le modificazioni della composizione chimica dei frutti degli agrumi frigoconservati rivestono maggiore interesse il contenuto percentuale di acidi liberi, i solidi totali solubili, l'indice di maturazione, l'etanolo, l'acetaldeide, la quantità di aminoacidi liberi, il complesso accettore di ossigeno, la vitamina C (1,4, 10, 11, 13, 24, 31, 37, 38, 39, 48, 51, 53, 54, 57, 58, 66, 67, 68, 69, 70, 74, 75, 76, 88, 105, 106, 118, 119, 120, 124, 125, 132).

ACIDITÀ

La misura dell'acidità totale libera è importante in quanto da questa dipende, in un certo qual modo, l'appetibilità dei frutti degli agrumi. Tale valore è dovuto principalmente al contenuto in acido citrico e malico; gli altri acidi (tartarico, benzoico ecc.) sono infatti presenti solo in tracce.

L'acidità totale libera diminuisce sensibilmente con la conservazione refrigerata (28, 70), viene espressa in % di acido citrico e si determina per titolazione con soda 0.1 N usando come indicatore la fenolftaleina (71). Quando i campioni da analizzare sono molto colorati, è indispensabile l'uso del pHmetro.²

SOLIDI TOTALI SOLUBILI

I solidi totali solubili dei succhi degli agrumi sono costituiti in massima parte da zuccheri e, in misura minore, da acidi organici, proteine, sali minerali, vitamina C e pectine (114). Poiché il loro contenuto varia con le condizioni di immagazzinamento dei frutti (35, 106) ai fini delle ricerche in oggetto è importante conoscere l'entità di queste variazioni.

La valutazione di questo parametro mediante la misura del peso specifico è laboriosa e nel caso di campioni molto densi e viscosi di difficile esecuzione. In pratica si preferisce pertanto ricorrere all'impiego del rifrattometro perché le sostanze contenute nel succo hanno un comportamento analogo, per quanto concerne l'indice di rifrazione, a quello delle soluzioni di saccarosio.

Gli apparecchi usati per questa determinazione sono il rifrattometro di Abbe su

² Procedimento: prelevare 10 g ca. di succo e diluire a 100 ml con acqua distillata; aggiungere alcune gocce di fenolftaleina e titolare con soda 0.1 N fino a viraggio dell'indicatore. Nel caso si faccia uso del pHmetro si arresta la titolazione al valore di pH 8,2.

$$\text{Calcolo: acidità (\% ac. citrico anidro)} = 0.64 \times \frac{V}{g}$$

dove: V = volume (ml) di NaOH 0.1 N utilizzata per la titolazione;
g = grammi di succo su cui viene eseguita la determinazione.

cui si legge l'indice di rifrazione, e i rifrattometri con scala zuccheri (°Brix) su cui si legge direttamente la percentuale di sostanze zuccherine disciolte nel succo in esame.

Nel caso dei succhi di agrumi tuttavia non è possibile esprimere indifferentemente il valore letto in gradi rifrattometrici o in gradi Brix perché questi ultimi non corrispondono al valore reale dei solidi solubili presenti; tale discordanza è tanto maggiore quanto più elevato è il contenuto in acido citrico del prodotto. Le soluzioni di acido citrico infatti non hanno al rifrattometro lo stesso comportamento delle soluzioni zuccherine; queste deviazioni possono essere corrette facendo uso di una apposita tabella (50) nella quale sono riportati i valori da aggiungere al residuo ottico letto per avere i gradi Brix reali di un succo in relazione alla sua acidità. Il valore così ottenuto si indica con la dizione «grado Brix corretto».

La correzione del grado Brix in pratica si effettua soltanto sui campioni con acidità maggiore dell'1% in acido citrico anidro, per gli altri campioni non viene fatta per la modesta incidenza che essa avrebbe sul risultato finale.

È da tener presente inoltre che le letture rifrattometriche vanno effettuate possibilmente a 20°C, in caso contrario l'indice di rifrazione si riporta a questa temperatura usando il coefficiente di correzione 0.00035 da aggiungere o da sottrarre al valore letto per ogni grado di temperatura al disopra o al disotto ai 20°C. Per i rifrattometri con scala in gradi Brix le letture eseguite a temperature diverse da 20°C vanno corrette secondo le apposite tabelle (50, 55, 126).

Attualmente sono disponibili strumenti che consentono la lettura sia rifrattometrica che in gradi Brix ed effettuano in modo automatico la correzione sulla temperatura.

INDICE DI MATURAZIONE

Come è noto, una volta colti dall'albero i frutti degli agrumi non maturano ulteriormente. Il leggero aumento di dolcezza che si può riscontrare è da attribuire all'idrolisi dei disaccaridi a monosaccaridi e non a un aumento reale degli zuccheri, non avendo i frutti acerbi in questione riserve di amido. Le modifiche che avvengono sugli alberi durante la stagione di maturazione consistono principalmente in un aumento dei solidi totali solubili (S.S.T.) e in una riduzione della percentuale di acidità. Per le opposte tendenze di questi due componenti il rapporto S.S.T./acidità rappresenta un parametro sensibile di maturità ed è stato appunto definito «indice di maturazione» (6, 9, 16, 26, 28, 43, 64, 98, 99, 124, 133).

In diversi paesi sono stati stabiliti i valori minimi di maturazione per gli agrumi, diversificati secondo la specie, cultivar e destinazione del prodotto. In Florida ad

es., esiste una precisa normativa che prevede gli indici minimi di maturazione al disotto dei quali i frutti degli agrumi non possono essere commercializzati. Ciò premesso, appare evidente l'importanza della valutazione del rapporto S.S.T./acidità nei frutti in questione al momento della raccolta e la sua evoluzione (dovuta in prevalenza ad una diminuzione di acidità) durante la conservazione refrigerata.

ETANOLO E ACETALDEIDE

Numerose ricerche sui costituenti chimici dei frutti degli agrumi hanno permesso di identificare diversi prodotti di metabolismo, alcuni dei quali, come l'etanolo e l'acetaldeide, rivestono particolare interesse per le ricerche in oggetto.

L'ammontare di questi componenti nel succo aumenta progressivamente durante la stagione di maturazione e, per quanto riguarda l'etanolo, tale aumento è tanto sensibile da essere stato messo in relazione con l'indice di maturità dei suddetti frutti (18, 19). Dopo la raccolta dei frutti, inoltre, è stato osservato che questi componenti volatili aumentano in maniera più marcata in rapporto alle condizioni di immagazzinamento.

L'incremento di tali metaboliti è stato direttamente o indirettamente associato col decadimento qualitativo della frutta conseguente a disordini fisiologici che insorgono nella fase di conservazione, sebbene a tali «endogeni volatili» non sia ancora stato attribuito un preciso ruolo (4, 20, 22, 23, 24, 96, 97, 100, 103, 121, 130).

Per le ragioni precedentemente esposte, la valutazione e lo studio dei suddetti metaboliti potrebbe rappresentare un valido supporto ai fini dello studio della conservazione refrigerata dei frutti.

Per la determinazione quantitativa dell'etanolo e dell'acetaldeide nei frutti sono stati proposti numerosi metodi (3, 21, 40, 41, 95, 97, 110) fra i quali quello suggerito da Davis³ sembra essere il più indicato.

Tale metodo prevede l'utilizzazione della tecnica gascromatografica dello spazio

³ Secondo il metodo proposto da Davis, si preleva una porzione di succo e si pone in un contenitore in vetro da 60 ml che viene chiuso con un setto di gomma e una fascetta di alluminio e successivamente si porta a temperatura costante in un bagno termostatico. Vi si inietta mediante siringa 2 ml di aria e, dopo aver omogeneizzato i vapori dello spazio di testa aspirando e comprimendo il pistone della suddetta per almeno tre volte, si prelevano 2 ml della fase gassosa sovrastante da trasferire nel gascromatografo, equipaggiato di detector a ionizzazione di fiamma a doppia colonna impaccata con Carbowax 20 M di dimensioni 1/4" x 9'; come gas di trasporto si usa l'azoto con un rapporto di flusso di 60 ml/min; la temperatura di esercizio dovrà essere di 110°C, quella di ingresso di 150°C e quella del detector di 180°C. L'analisi quantitativa viene fatta per confronto con degli standard ottenuti addizionando al succo quantità note dei componenti da determinare e misurando l'incremento registrato. Con la procedura descritta è possibile la determinazione simultanea dell'etanolo e dell'acetaldeide.

di testa (49, 72, 93, 94, 137); il procedimento consiste essenzialmente nell'introdurre nel gascromatografo i componenti volatili, in equilibrio ad una certa temperatura con la fase liquida sottostante di un determinato campione.

I vantaggi di questa tecnica, che rappresenta la piú tipica applicazione della gascromatografia per l'analisi dei composti volatili presenti in tracce, sono in pratica legati alla possibilitá di operare su una fase gassosa che risulta arricchita nei componenti piú volatili ed al risparmio di lunghe operazioni di estrazione dei componenti da analizzare, dalla matrice piú pesante e complessa, nella quale possono essere contenuti.

Il metodo prevede il trasferimento del campione da analizzare in un contenitore chiuso che viene poi accuratamente riscaldato ad una temperatura prefissata. Una volta raggiunto l'equilibrio di ripartizione liquido-gas, si preleva una certa aliquota di gas e la si inietta nel gascromatografo. Si otterrà quindi un cromatogramma nel quale l'area del picco relativa al componente volatile da analizzare sarà proporzionale alla concentrazione nella fase liquida.

Il punto piú critico dell'analisi interessa la termostatazione, il prelievo e l'introduzione del campione nel gascromatografo, operazioni che possono essere parzialmente o completamente automatizzate mediante apposito dispositivo che assicura, tra l'altro, la perfetta riproducibilitá di analisi.

ACIDO ASCORBICO

L'acido ascorbico (vitamina C) è un composto assai diffuso in natura ma una delle fonti piú ricche è costituita dai frutti degli agrumi. Le arance coltivate in Italia ad es. ne contengono quantità variabili da 54,8 a 84,7 mg/100 ml di succo (98). Per l'elevato contenuto di questa vitamina nei frutti in questione e per le note proprietà nutritive e terapeutiche (antiscorbutiche e antinfettive), è considerato uno dei piú importanti componenti chimici (92).

L'acido ascorbico non è un composto stabile, la conservazione può causare variazioni nel contenuto che dipendono da fattori quali la durata, la temperatura e i danni meccanici subiti dai frutti durante la raccolta o durante i trattamenti successivi alla raccolta. La valutazione quantitativa di queste variazioni può costituire un ulteriore elemento di studio sul decadimento dei frutti conservati (59, 89).

Il dosaggio di questo composto può essere effettuato con diversi metodi che si basano generalmente sulla ossidazione dell'acido L(+) ascorbico ad acido L(+) deidroascorbico (42, 63, 65, 82, 83, 84, 129, 139).

Un metodo specifico per la determinazione dell'acido ascorbico applicabile per

analisi di routine è stato indicato da Jaselkis e Nelapaty (63)⁴ in cui la vitamina viene ossidata dallo ione Fe(III) il quale riducendosi a ione ferroso, in presenza di ferrozina forma un composto chelato che presenta un assorbimento caratteristico a 562 nm.

INDICE DI FORMOLO

La conoscenza del contenuto degli aminoacidi liberi nel succo dei frutti degli agrumi può dare delle indicazioni interessanti sull'andamento della frigoconservazione: un loro eventuale aumento può essere dovuto alla idrolisi delle proteine da parte degli enzimi proteolitici, mentre una diminuzione potrebbe essere attribuita a processi fermentativi che comportano il consumo degli stessi aminoacidi da parte dei microrganismi.

La valutazione degli aminoacidi liberi contenuti nel succo può essere effettuata mediante la determinazione dell'indice di formolo, definito come il numero di ml di NaOH 0.1 N necessari per neutralizzare i gruppi carbossilici liberi degli aminoacidi presenti in 10 ml di succo di frutta titolando fino a pH 8.2, previa formazione di metilol derivati mediante aggiunta di aldeide formica al succo diluito e portato a pH 8.2⁵ (30, 60, 61, 86).

⁴ Procedimento: In un matraccio da 25 ml porre nel seguente ordine: 5 ml di soluzione tampone, 1 ml di acetato di alluminio 0.1N, 1 ml di Fe(III) solfato 0.002N, una appropriata quantità di acido ascorbico standard (o del campione in analisi), e finalmente 1 ml di ferrozina. Portare a volume con acqua ed effettuare le letture in assorbanza a 562 nm dopo 2 o 3 min. Il valore di assorbanza rimane costante per ore in presenza di acido ascorbico puro e in presenza di succo di arancio, limone e pompelmo.

Reagenti:

- 1) Ferrozina: 3-(2 Pirydy-5,6 bis (4-Phenyl Sulfonic Acid)-1, 2,4 Triazine disodium salt (soluzione 0.01 M);
 - 2) Soluzione tampone acido acetico-sodio acetato (la concentrazione totale di sodio acetato e acido acetico in tutta la soluzione dovrà risultare 0.3 M);
 - 3) Soluzione 0.002 M di Fe (III) preparato da solfato ferrico ammonico mediante dissoluzione in acido perclorico diluito. Può essere usato per parecchie settimane prima che compaia il Fe (II);
 - 4) Acido ascorbico: preparare una soluzione 0.001 M di acido ascorbico contenente 0.001 moli di acido ossalico o di sodio ossalato. L'acqua deve essere portata all'ebollizione per la deareazione prima dell'aggiunta dell'acido ascorbico;
 - 5) Prendere una aliquota di 10 ml della soluzione di A.A. e diluire a un litro con acqua deareata, il contenuto viene trasferito sotto atmosfera di azoto in una buretta di Machlett. La concentrazione di acido ascorbico nella soluzione viene determinata iodimetricamente. Deve essere usata solo soluzione preparata di recente per le misure spettrofotometriche;
 - 6) Soluzione di alluminio acetato: preparare una soluzione 0.1M di alluminio acetato in acido perclorico diluito.
- ⁵ Procedimento: Per l'analisi si prelevano 10 ml di succo e si titolano con soda 0.1 N in presenza di fenolftaleina fino a viraggio, o con l'ausilio di un pH-metro fino a pH 8.2. Si aggiungono poi 10 ml di formaldeide al 40% (neutralizzata di recente con soda 0.1 N usando la fenolftaleina come indicatore) e si titola l'acidità formata con soda 0.1 N. I ml di soda 0.1 N impiegati in questa seconda titolazione rappresentano il valore dell'indice di formolo. L'uso del pH-metro è indispensabile nel caso si titolino succhi torbidi o molto colorati.

VALORE CLORAMINICO

Infine, un parametro che potrebbe essere utilizzato come dato integrativo è il valore o indice cloraminico.⁶ Questo dato consente di valutare in tot il complesso accettore di ossigeno: proteine, aminoacidi, polifenoli, alcoli, aldeidi, vitamine, ecc., contenuti normalmente nel succo e viene definito dal numero di ml di soluzione di cloramina T 0.01 N che reagisce a freddo con 1 ml di succo filtrato (2).⁶ La cloramina non reagisce a freddo con gli zuccheri e gli acidi organici (108, 116).

BIBLIOGRAFIA

- 1) BARTHOLOMEW E.T., and SINCLAIR W.B., 1961 - The lemon fruit, its composition, physiology and products. Univ. of Calif. Press, Berkeley, CA.
- 2) BENK E., STEIN H., 1959 - Über die ermittlung des saft gehaltes in fruchtsaftzubereitungen mit hilfe des chloraminwertes. «Fruchtsaft Industrie», 4, 154.
- 3) BIALE J.B. and SHEPHERD A.D., 1939 - Identification of acetaldehyde among the volatile products of citrus fruits. «Proc. Am. Soc. Hort. Sci.», 37.

- * Procedimento: In un Erlenmeyer da 250 ml con tappo a smeriglio si pone 1 ml di succo filtrato; si aggiungono 50 ml di soluzione 0.01 N di cloramina T, si tappa, si agita brevemente e si lascia al buio per 15 minuti esatti. Si addiziona poi circa 1 g di KJ, si acidifica con H₂SO₄ e si titola lo iodio messo in libertà con la soluzione di tiosolfato sodico 0.01 N fino a che il campione in analisi assume un colore giallopaglierino; indi si addiziona 1 ml di salda d'amido e si continua la titolazione fino a completa decolorazione. L'indice cloraminico è espresso dal numero di ml di soluzione 0.01 N di cloramina T che hanno reagito col succo.

Reagenti:

- 1) Soluzione standard di cloramina T 0.01 N. Si pesano esattamente g 1,4085 di cloramina T (C₂H₄ClNNaO₂S · 3H₂O) si sciolgono in un matraccio tarato da 1 l e si porta a volume con acqua.
- 2) Soluzione di tiosolfato 0.01 N. Si sciolgono, in un pallone tarato da 1 litro, 25 g di tiosolfato sodico (Na₂S₂O₃ · 5H₂O) in circa 800 ml di acqua previamente bollita e raffreddata. Si aggiunge come stabilizzante 1 g di carbonato sodico oppure 4 g di tetraborato sodico. Si porta a 1 litro con acqua distillata bollita di recente. La standardizzazione viene eseguita con K₂Cr₂O₇ o con KJO₃ o KH(JO₂)₃ seccati a 110°C. Nel caso in cui si usi il bicromato, si sciolgono 0.0981 g di K₂Cr₂O₇ in circa 100 ml, si aggiungono circa 2 g di KJ esente da iodio e quindi 7 ml di HCl concentrato; si mescola e si titola subito dopo con la soluzione di tiosolfato usando la salda d'amido come indicatore. Il titolo della soluzione di tiosolfato si calcola con l'espressione:

$$\text{geq/l Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = \frac{g \cdot 1000}{49,035 \cdot c}$$

g = quantità (grammi) di K₂Cr₂O₇ usati per la titolazione

c = volume (ml) della soluzione di Na₂S₂O₃ utilizzati per la titolazione. Nel caso si usino lo iodato o lo iodato acido, si sciolgono 3,5670 g di KJO₃ o g 3, 2500 di KH(JO₂)₃ in acqua e si diluisce a 1 l in pallone tarato: la soluzione risultante è 0.1000N. Si prelevano 25-30 ml di soluzione di tiosolfato e si procede come sopra descritto.

- 3) Salda d'amido (indicatore). Si sospendono in un mortaio 5-6 g di amido solubile con 10 ml di acqua, si macina la pasta risultante che viene poi versata in 1000 ml di acqua bollente e si fa bollire per qualche minuto e si lascia depositare per una notte. Si utilizza il liquido sovrastante. La soluzione può essere stabilizzata aggiungendo per ogni litro circa 1 g di acido salicilico o qualche goccia di toluolo.
- 4) Potassio ioduro in cristalli.

- 4) BIALE J.B., 1975 - Syntetic and degradative processes in fruit ripening. In: HAARD N.F., and SALUNKHE D.H. (eds), Symposium: Postharvest biology and handling of fruits and vegetables. «The AVI Pubbl. Co., Westport, CT», pp. 5-18.
- 5) BIRTH G.S., and NORRIS K.H., 1965 - The difference meter for measuring interior quality of food and pigments in biological tissues. «USDA Tech. Bull.», 1341, 20.
- 6) BLONDEL L., 1952 - Determination du point de maturité des agrumes. «Ann. Inst. Alger.», 7 (4), 1-56.
- 7) BOTTINI E., 1962 - I prodotti ortofruitticoli nella catena del freddo. Ed. Paravia, Torino.
- 8) BUTLER W.L., and NORRIS K.H., 1960 - The spectrophotometry of dense lightscattering material. «Arch. Biochem. Biophys.», 87, 31-40.
- 9) CALABRESE F., 1967 - Biologia della maturazione dei frutti dell'arancio Washington Navel in provincia di Palermo. «Tecnica Agricola», 6, XIX.
- 10) CALVARANO M., 1960 - Contributo alla conoscenza del succo di arancia italiano. «Essenze Derivati Agrumari», 30, 3.
- 11) CALVARANO M., 1962 - Sulle caratteristiche del succo di limone italiano. «Essenze Derivati Agrumari», 32, 110.
- 12) CAPRIO J.M., 1956 - An analysis of the relation between greening of Valencia oranges and mean monthly temperatures in southern California. «Proc. Am. Soc. Hort. Sci.», 67, 222-235.
- 13) CLONTI C.R., 1969 - Changes in the chemical composition of Washington Navel oranges during storage. «Subtrop. Kul'tury», 1, 118-124.
- 14) COLLI A., 1968 - Elementi di Colorimetria Tristimolo. Milano A.C.N.A.
- 15) CONDELLI F., 1962 - La conservazione dei prodotti ortofruitticoli. Ed. Ist. Naz. Comm. Estero, Roma.
- 16) CRESCIMANNO F., 1962 - Il controllo dell'indice di maturazione degli agrumi. «Atti VI Congr. Int. Agr. Med. Nizza».
- 17) CRIVELLI G., 1962 - Ricerche sulla utilizzazione e commercializzazione degli agrumi. Nota II. Conservazione di arance: Valencia Late. «Il Freddo», 1.
- 18) DAVIS P.L., 1970 - Relation of ethanol content of citrus fruits to maturity and to storage conditions. «Proc. Fla. State Hort. Soc.», 83, 294-298.
- 19) DAVIS P.L., 1971 - Further studies of ethanol and acetaldehyde in juice of citrus fruits during the growing season and during storage. «Proc. Fla. State Hort. Soc.», 84, 217-222.
- 20) DAVIS P.L., 1973 - Biochemical changes in citrus fruits during controlled-atmosphere storage. «Journal of food Science», 38, 225-229.
- 21) DAVIS P.L., and CHACE W.G. Jr., 1969 - Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of head space. «Hort. Science», 4, 117-119.
- 22) DAVIS P.L., HOFMANN R.C., 1973 - Effects of coatings on weight loss and ethanol buildup in juice of oranges. «Agr. Food. Chem.», 21, 455-458.
- 23) DAVIS P.L., HOFMANN R.C., and HATTON T.T. Jr., 1974 - Temperature and duration of storage on ethanol content of citrus fruits. «Hort Science», 9, 376-377.
- 24) DAVIS P.L., ROE B., BRUEMMER J., 1973 - Biochemical changes in citrus fruits during controlled atmosphere storage. «J. Fd. Sci.», 38, 2, 225-229.
- 25) DAWSON A.J., ECKERT J.W., 1977 - Problems of decay control in marketing citrus fruits: strategy and solutions, California and Arizona. «Proc. Int. Soc. Citriculture», 1, 255-259.
- 26) DEIDDA P., 1962 - L'indice di maturazione di alcune cultivar di agrumi diffuse in Sardegna. «Sez. III Annali Fac. di Agraria dell'Università di Sassari», Vol. X.
- 27) DERIBERÉ - 1955 - Le couleur dans les activites humaines. Paris, Dunod. pp. 15-23.
- 28) DI GIACOMO A., CALVARANO M., 1976 - Relazione presentata alla Conferencia Internacional de la calidad. Buenos Ayres 14-17 novembre.
- 29) DI MARTINO E., CESSARI A., 1972 - Esiti di ricerca sulla conservazione del pompelmo. «Annali Ist. Sper. Agrumicol.», V.
- 30) DITZ E., 1960 - L'indice de Formol des jus de fruits. «Ind. Alim. Agr.», 77, 685.
- 31) EAKS I.L., and MOSIAS E., 1965 - Chemical and physiological changes in lime fruits during and after storage. «Jour. Agr. and Food Chem.», 7, 507-515.

- 32) ECCHER ZERBINI P., 1974 - Problemi e tecniche di valutazione della consistenza degli alimenti con particolare riferimento a quelli ortofrutticoli. «Scienza e Tecnologia degli Alimenti», 4 (4), 197-212.
- 33) ECCHER ZERBINI P., 1974 - Aspetti e tecniche del controllo di qualità condotte mediante esami organolettici. «Scienza e Tecnol. degli Alimenti», 4, 275-280.
- 34) ELLIS B.H., 1964 - Proc. 11th Ann. Meeting Soc. Soft Drink Technologists, 187.
- 35) EL-ZEFTAWI B.M., 1976 - Cool storage to improve the quality of Valencia oranges. «Jour. Hort. Sci.», 51, 411-418.
- 36) ERICKSON L.C., 1960 - Color development in Valencia oranges. «Proc. Am. Soc. Hort. Sci.», 257-261.
- 37) ESKIN N.A.M., HENDERSON H.M., and TOWNSEND R.J., 1971 - Postharvest changes in fruits and vegetables. Chapter 2 In: Biochemistry of food, pp 31-68, Academic Press, NY.
- 38) Federation International des Producteurs de Jus de Fruits, 1968 - Methodes d'Analyses.
- 39) GARCIA R., CASAS A., PRIMO E., 1957 - Variaciones en la composicion de las naranjas espanolas a lo largo de remporade 1955-56: contenido en zumo, extracts refractometrico, acidez, indice de maturidas, vitamina C. «Boll. 37, Inst. Nacional Investigacion Agronomica» - Quaderno 257.
- 40) GERHARDT F., EZELL B.D., 1939 - A method of estimating the volatile products liberated from stored fruit. «J. Agr. Res.», 58, 493-503.
- 41) GERHARDT F., 1942 - Simultaneous measurement of carbon dioxide and organic volatiles in the internal atmosphere of fruits and vegetables. «J. Agr. Res.», 64, 207-219.
- 42) GIELFRICH L., BERNARD, GRIFFITHS M.A., 1975 - Observation on the determination of vitamin C. «Sciences Agronomiques Rennes», 53-59.
- 43) GIOFFRÈ D., 1976 - Osservazioni sulla maturazione di due cultivar di pompelmo in relazione alle variazioni di alcuni costituenti del succo. «Annali Fac. Sci. Agr. Univ. Napoli», IV, X.
- 44) GORINI F., 1978 - La frigoconservazione dei prodotti ortofrutticoli. REDA. Roma Ed. XV Congr. Int. Froid I.I.F., 1979.
- 45) GORINI F., 1981 - Valorizzazione delle nuove tecnologie nella conservazione degli ortofrutticoli. Vol XLIII (3-4), 21-24.
- 46) GORINI F., POLESELLO A., 1979 - I trattamenti post raccolta agli ortofrutticoli per prevenire le alterazioni nella fase di commercializzazione. Il Simposio sulla difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e sulla protezione degli alimenti. Piacenza, 28-30 sett. «Ann. I.V.T.P.A. Milano», 417-427.
- 47) GRIERSON W., HATTON T.T., 1977 - Factors involved in storage of citrus fruits: a new evaluation. «Proc. Int. Soc. Citriculture» I, 227-231.
- 48) HAARD N.F., and SALUNKHE D.K., 1975 - Symposium: postharvest biology and handling of fruits and vegetables. «The AVI Publ. CO., Westport», CT, 193 pp.
- 49) HACHEMBERG H., SCHMIDT A.P., 1977 - Gas chromatography. Headspace analysis, Heyden & Son ldt., London - New York Rheine.
- 50) Handbook of chemistry and physics, 1948 - «Index of refraction of aqueous solution of sucrose», 2236-2237.
- 51) HANSEN E., 1966 - Postharvest physiology of fruits. «Ann. Rev. Plant Physiol.», 17, 459-480.
- 52) HARDY, 1936 - Handbook of colourimetry. Massachusetts Institute of Technology, Technology Press.
- 53) HARVEY E.M., and RYGG G.L., 1936 - Field and storage studies on changes in the composition in the rind of marsh grapefruit in California. «Jour. Agr. Res.», 52, 747-748.
- 54) HARVEY E.M., 1946 - Changes in lemons during storage as affected by air circulation and ventilation. «U.S. Dept. Agr. Tech. Bul.», 908, 32 pp.
- 55) HIGBY W.E., RICKE A.A., 1962 - Refractometric measurement of soluble solids in orange juice. «Food. Technol.», 17 (5), 138-141.
- 56) HOPKINS E.F., and McCORNAK A.A., 1959 - Methods for the control of decay in oranges. «Citrus Mag.», 22 (4), 8, 10-11, 30-31.
- 57) HULME A.C., (ed) 1970 - The biochemistry of fruits and their products. Vol. 1. Academic Press. NY, 620 pp.
- 58) HULME A.C., 1971 - The biochemistry of fruits and their products. Vol. 2. Academic Press, NY, 788 pp.

- 59) ILDIS P., D'ERUS A.P., 1956 - Etude des conditions de conservation de l'orange Valencia. «La revue générale du froid», n. 10.
- 60) INTONTI R., COTTA RAMUSINO F., STACCHINI A., 1960 - Sul numero di formolo dei succhi di agrumi. «Rendiconti Ist. Sup. Sanità», 24, 871.
- 61) INTONTI R., COTTA RAMUSINO F., STACCHINI A., 1960 - Sul numero di formolo dei succhi di agrumi. «Boll. Lab. Chim. Prov.», 10, 675.
- 62) ISSOGLIO G., 1942 - Raccolta e conservazione dei prodotti ortofrutticoli. S.E.I., Torino.
- 63) JASELSKIS B., and JOSEPH NELAPATY S.J., 1972 - Spectrophotometric determination of micro amounts of ascorbic acid in citrus fruits. «Analytical chemistry», 44, 2, 379-381.
- 64) JAWWANDA J.S., 1961 - Maturity standards for sweet orange in the Punjab. «Punjab Hort. J.», n. 1, 207-210.
- 65) KAMANGAR T., et al., 1977 - Rapid spectrophotometric determination of ascorbic acid in citrus fruits. «J. of the Ass. Official Analytical Chemists», 60 (3), 528.
- 66) KARAOLANIS G.D., 1976 - Physical and chemical changes in 2 oranges cultivars during storage in temperatures in air and in gas mixtures. «Tessaloniki, Greece, Aristotelian University», 167.
- 67) KEFFORD J.F., 1959 - The chemical constituents of citrus fruits. «Adv. Food Res.», 9, 285-372.
- 68) KEFFORD J.F., and CHANDLER B.V., 1970 - The chemical constituents of citrus fruits. «Adv. Food Res.», Suppl. 2, Academic Press, NY, 246 pp.
- 69) KALIFAH R.A., and KUYKEENDALL J.R., 1965 - Effect of maturity, storage, temperature and prestorage treatment on storage quality of Valencia oranges. «Amer. Soc. Hort. Sci. Proc.», 86, 288-296.
- 70) KITAJIMA M., 1957 - Studies on the control of citrus fruit decay in storage. «IV. J. Hort. Ass. Japan», 26, 95-104.
- 71) KOCH J. and ACHFFNER, 1957 - Determinazione dell'acidità totale dei succhi. «Zeits. Lebenam. Untersuchung u. Forschung», 106, 119.
- 72) KOLB B., 1980 - Applied headspace gas chromatography. Heyen & Son Ltd.
- 73) KONING, 1931 - Handbuch der experimental phisik. V. XXIV, Leipzig.
- 74) KRAMER A., and TWIGG B.A., 1970 - Quality control for the food industry. Vol. 1. Fundamentals. The AVI Publ. Co., Westport, CT, 556 pp.
- 75) KRAMER A., and TWIGG B.A., 1973 - Quality control for the food industry. Vol. 2. Applications. The AVI Publ. Co. Westport, CT, 550 pp.
- 76) LA FACE F., 1960 - Le caratteristiche dei succhi di arance italiani. «Essenze Derivati Agrumari», 30, 161.
- 77) LEVERN B., YOUNG and LOUIS C., ERICKSON, 1961 - Influence of temperature and color change in Valencia oranges. «Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.», 78, 197-200.
- 78) LOMBARD P.B., BRUNK H.D., 1963 - Evaluating the relation of juice composition of Mandarin Oranges to percent unacceptance of a taste panel «Food Tecn.» 17 (10), 113-115.
- 79) LUENBERGER U., KINGART, 1976 - Isolation and identification of citraulol, a 30 carotenoid in citrus. «J. Organ. Chem.», 41, 891-892.
- 80) MAERZ A., PAUL M.R., 1930 - Dictionary of color. New York, Mc Graw Hill Book Co.
- 81) MAGNESS J.R., and TAYLOR G.F., 1925 - An improve type of pressure tester for the determination of fruit maturity. «U.S.D.A. Dept Circ.», 350.
- 82) MARCHESINI A., POLESELLO A., ZOJA G., 1970 - Dosaggio enzimatico dell'acido ascorbico nei vegetali freschi e conservati. «Agrochimica», XIV, 5-6, 453-461.
- 83) MARCHESINI A., MANITTO P., 1972 - Un nuovo metodo enzimatico per dosare l'acido ascorbico, deidroascorbico ed i riduttoni nei vegetali freschi e conservati. «Agrochimica», 351-361.
- 84) MARCHESINI A., MONTUORI F., MUFFATO D., MAESTRI D., 1974 - Applicazioni e vantaggi del metodo enzimatico per la determinazione dell'acido ascorbico, deidroascorbico e reduttoni. «Food Technology-Journal of Food Science», 39, 568-571.
- 85) MARINO A., 1951 - La tecnica frigorifera applicata alla ortofrutticoltura. Hoepli, Milano.
- 86) MICALE A., 1959 - Determinazione dell'indice di formolo nei succhi di agrumi. «Conserva e Derivati Agrumari», 8, 113.

- 87) MILLER E.V., and WISTON J.R., 1939 - Investigations on the development of color in citrus fruits. «Proc. Fla. State Hort. Soc.», 52, 87-90.
- 88) MILLER E.V., 1958 - The physiology of citrus fruits in storage. «Bot. Rev.», 24, 43-59.
- 89) MTLICKI L.V., 1963 - The vitamin content of citrus fruits as an indication of their resistance to decay in storage. «Doklady Akad. Nauk S.S.S.R.», 69, 659-661.
- 90) MONZINI A., GORINI F., 1979 - Prospettive di un nuovo sistema frigorifero di conservazione della frutta invernale. «Frutticoltura», V, XLI (2), 5-9.
- 91) MONZINI A., 1980 - Interventi ed operazioni prima e dopo la raccolta ai fini della conservazione dei prodotti ortofruttili. «Frutticoltura», XLII (3-4), 37-42.
- 92) NAGY S., 1980 - Vitamin C contents of citrus fruits and their products: a review. «J. of Agr. Fd. Chem.», 28, 8-18.
- 93) NAWAR W.W., 1966 - Some considerations in interpretation of direct headspace gas chromatographic analyses of food volatiles. «Food Technol.», 20, 115-117.
- 94) NAWAR W.W., 1971 - Some variables affecting composition of headspace aroma. «Agr. Food Chem.», 19, 1052-1059.
- 95) NORMAN S.M., 1970 - Comparison of two porous polymer columns for gas chromatographic analysis of acetaldehyde, methanol, ethanol, and other volatiles emanating from intact «Valencia oranges». «J. Am. Hort. Sci.», 95, 777-780.
- 96) NORMAN S.M., 1977 - The role of volatiles in storage of citrus fruits. «Proc. Int. Citriculture», I, 238-242.
- 97) NORMAN S.M., CRAFT C.C., 1971 - Production of ethanol acetaldehyde, and methanol by intact oranges during and after nitrogen storage. «J. Amer. Soc. Hort. Sci.», 94, 464-467.
- 98) PENNISI L., 1973 - La caratterizzazione del succo delle arance nel corso della maturazione. «Ann. Ist. Sper. per l'Agrumicoltura» Acireale, VI, 257-274.
- 99) PENNISI L., SCUDERI A., MURATORE A., 1956 - Studio sul grado di maturità delle arance siciliane. «Riv. Agrumicoltura», 1, 401.
- 100) PENTZER W.T., and HEINZE P.H., 1954 - Postharvest physiology of fruits and vegetables. «Ann. Rev. Plant Physiology», 5, 205-244.
- 101) POLESELLO A., GORINI F.L., BERTOLO G., 1974 - Valutazione del colore mediante riflettanza dei frutti sferici. «Agricoltura», 11.
- 102) POLESELLO A., SALVATORI R., 1976 - La misura del colore negli ortofruttili freschi e conservati. «Riv. Sci. Tecn. Nutr. Um.», 6, 81-92.
- 103) PRASAD K., 1975 - Phytotoxicity of citrus and subtropical fruits to acetaldehyde vapor. «Abstract. Proc. Amer. Phytopath. Soc.», 2, 37.
- 104) PRATELLA G.C., 1979 - Tecnologie di conservazione e di trasporto dei prodotti agrumari. «Frutticoltura», XLI (6), 27-32.
- 105) PRESTAMO G., CARO J., 1977 - Contribucion al estudio de la fisiologia del pomelo de la variedad «Marsh Seedless» durante su tratamiento y conservacion por el frio a medio y largo plazo. «Proc. Int. Citriculture», 3, 1113-1120.
- 106) PRITCHETT D.E., 1962 - Changes in Valencia oranges composition during marketing. «Calif. Citrogr.», 48, 29-30.
- 107) REEDER S.K., PARK G.L., 1975 - A specific method for the determination of provitamin A in orange juice. «J. A.O.A.C.», 58, 595-598.
- 108) RISPOLI G., DI GIACOMO A., 1961 - Il valore cloramino nei succhi di arancio. Influenza del metodo di lavorazione e delle condizioni di immagazzinamento. «Ess. e Derivati Agr.», 31, 125.
- 109) ROMANI R.J., JACOB F.C., SPROCK C.N., and MITCHELL F.G., 1962 - Light transmission characteristics of fruit maturity. «Proc. XVI Int. Hort. Cong.», 337-342.
- 110) ROMANI R.J., LILY (Lim) KU., 1966 - Direct gas chromatographic analysis of volatiles produced by ripening pears. «J. Food. Sci.», 31, 558-560.
- 111) ROSE D.H., BROOKS C., BRATLEY C.O., and WISTON J.R., 1944 - Market diseases of fruits and vegetables: citrus and other subtropical fruits. «U.S. Dept. Agr. Misc. Pub.», 498, 57 pp.

- 112) ROSE D.H., WRIGHT R.C., and BRATLEY C.O., 1944 - Freezing injury of fruits and vegetables. «U.S. Dept. Agr. Cir.», 713, 31 pp.
- 113) ROYO IRANZO J., 1972 - Metodi di analisi applicabili ai succhi, ai concentrati, ed ai mangimi derivati dai frutti di agrumi. «Essenze e Derivati Agrumari», Reggio Calabria, 2, 134-182.
- 114) ROYO IRANZO J., PERES TORAN M^a. J., 1977 - Relationship between the °Brix of citrus juices and their soluble chemical components. «Proc. Int. Soc. Citriculture», 3, 791-795.
- 115) RUGGERI G., 1963 - Considerazioni tecniche intorno alla conservazione dei limoni e delle arance. «Congresso Internazionale per la conservazione e distribuzione degli ortofrutticoli», Bologna.
- 116) SAFINA F., TRIFIRÒ E., 1957 - Il valore cloraminico: nuovo indice per riconoscere la presenza di un succo di agrumi nelle bevande gassate. «Cons. e Derivati Agrumari», 6, 12.
- 117) SARIG Y., NAHIR D., 1973 - Deformation characteristics of Valencia oranges as an indicator of firmness. «Horticultural Science», 8 (5), 391-392.
- 118) SCHIFFMANN-NADEL M., 1977 - Chemical and physiological changes in citrus fruit during storage and their relation to fungal infection. «Proc. Int. Soc. Citriculture», 1, 311-317.
- 119) SERIN P.S., and SESHADRIT R., 1959 - Chemical investigation of citrus lemonum. «J. Sci. Ind. Res.», India-Sect. B.
- 120) SINCLAIR W.B., (ed) 1961 - The orange, its biochemistry and physiology. «Univ. of Calif. Div. Agr. Sci.», 660 pp.
- 121) SMAGULA J.M., WILLIAM J.B., 1977 - Acetaldehyde accumulation: is it a cause of physiological deterioration of fruits? «Hort. Sci.», 12, 200-203.
- 122) SMMOT J.J., 1977 - Factors affecting market diseases of Florida citrus fruits. «Proc. Int. Soc. Citriculture», 1, 250-254.
- 123) SOOST R.H., HOTHKISS C.V., and BUNNET R.H., 1966 - A gravity penetrometer for measuring flesh firmness in citrus fruits. «Hort. Sci.», 1, 60-61.
- 124) SORBER D.G., 1952 - Orange maturity standard unchallenged after test on time. «Res. Archiev. Shett U.S. Pep. Agr. Ras.», 150 (c), 2.
- 125) SOULE J., GRIERSON W., BLAIR J.B., 1967 - Quality tests for citrus fruits. «Agr. Ext. Ser. Univ. Florida Circ.», 315, 27.
- 126) STEVENS J.W., BAYER W.E., 1939 - Refractometric determination of soluble solids in orange juices. «Ind. Eng. Chem. Anal.», Ed. II, 447-449.
- 127) STEWART I., 1977 - Citrus color - a Review. «Proc. Int. Soc.», I, 308-311.
- 128) STEWART I., 1977 - High performance liquid chromatographic determination of vitamin A in orange juice. «J. A.O.A.C.», 60, 132-136.
- 129) SULLIVAN M.X., CLARKE H.C., 1958 - A highly specific procedure for ascorbic acid. «Assoc. Off. Agric. Chem.», 38, 514.
- 130) THOMAS M., 1925 - The controlling influence of carbon dioxide. V. A quantitative study of the production of ethyl alcohol and acetaldehyde by cells of the higher plants in relation to concentration of oxygen and carbon dioxide. «Biochem. J.», 19, 927-947.
- 131) TING S.V., et al. 1958 - Measuring the internal color of Florida red and pink grapefruit with the Hunter Color and color difference Meter. «Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.», 71, 265-270.
- 132) TING S.V., 1961 - Chemical constituents of citrus juice. «A.R. Univ. Fla. Agr. Exp. Sta.» Gainesville, 245.
- 133) ULRICH, 1946 - Guides to the degré of maturity in fruit. «Fruit d'outre Mer», 1, 456-461.
- 134) U.S. Department of Agriculture. «Instruction for using U.S.D.A. orange juice colors standards».
- 135) VENKATARAMAN, 1952 - The chemistry of syntetic dyes. Vol. I, New York Academic Press, 316-319.
- 136) WENDLAND W.W., 1968 - Modern aspects of reflectance spectroscopy. New York, Plenum Press.
- 137) WIDOMSKI J., THOMPSON W., 1979 - Applications of a new head space gas chromatography device. «Chromatography newsletter». Vol. 7 (2).
- 138) WRIGH, 1958 - The measurement of colour. London Hilger Watt.
- 139) YUFERA P., 1963 - Quality of orange varieties. VI Standardization of methods. Statistical significance of vitamin C values. «Rev. Agroquim. Aliment.», 3, 341-348.