

Vacca, Vincenzo; Agabbio, Mario Carlo Salvatore; Fenu, Paolo Antonio Maria (1997) *La Caffaina nei fiori del genere citrus: relazioni con la presenza dell'alcaloide riscontrata nei mieli di agrumi*. Industrie alimentari, Vol. 36 (359), p. 611-613. ISSN 0019-901X.

<http://eprints.uniss.it/4227/>

# LA CAFFEINA NEI FIORI DEL GENERE *CITRUS*

## RELAZIONI CON LA PRESENZA DELL'ALCALOIDE RISCONTRATA NEI MIELI DI AGRUMI

VINCENZO VACCA - MARIO AGABBIO - PAOLO FENU

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

### CAFFEINE IN CITRUS FLOWERS CORRELATED WITH CAFFEINE CONTENT OF CITRUS HONEYS

#### SUMMARY

Twenty-five samples of different species of citrus flowers (orange, lemon, grapefruit, tangerine, mandarin, mandarin-like and two hybrids) were tested for caffeine content. Although caffeine was found in all samples, the high variability in content within the samples did not allow a precise distinction to be made between the species. Caffeine concentration ranged from 4.61 mg/kg dry matter in a grapefruit sample (cv. "Star Ruby") to 30.92 mg/kg in a tangerine sample (cv. "Clementine di Nules"). The presence of the alkaloid confirms that caffeine found in orange and citrus honeys probably comes from flowers and is transferred to the honey by bees. However, the results of this study do not permit the origin of orange and citrus honeys to be determined from their caffeine content.

#### RIASSUNTO

Venticinque campioni di fiori di agrumi di diversa specie (arancio, limone, pompelmo, tangerino, mandarino e mandarino-simili, più due ibridi) e varietà, sono stati analizzati per la determinazione della caffeina. I risultati ottenuti hanno messo in evidenza la presenza dell'alcaloide in tutte le specie esaminate, con valori incostanti che non fanno intravedere nette discriminazioni tra le citate specie. Le concentrazioni riscontrate, riferite alla sostanza secca, variano da un minimo di 4,61 mg/kg di un campione di pompelmo (cv. "Star Ruby"), a un massimo di 30,92 di uno di tangerino (cv. "Clementine di Nules"). Il contenuto della caf-

feina conferma la probabile provenienza naturale di questo alcaloide ritrovato nei mieli di "Arancio" e di "Agrumi", (individuato nelle fioriture di queste piante, dai quali il composto passerebbe nel prodotto durante l'attività delle api), ma non consente di determinare l'origine dei mieli nell'ambito del genere *Citrus*.

## INTRODUZIONE

In un precedente studio (1) era stata messa in evidenza la presenza della caffeina nei mieli di "Arancio" e di "Agrumi" (che costituiscono i due classici prodotti derivati dal genere *Citrus*) e la sua assenza in quelli originati da diverse famiglie botaniche; l'indagine era stata effettuata prendendo in considerazione il quadro completo delle numerose tipologie di miele prodotte in Sardegna. L'esistenza della sostanza era stata già segnalata in mieli della stessa categoria ma di diversa provenienza geografica (2, 3). In virtù di ciò, la ricerca della caffeina era stata proposta per il controllo di questi specifici prodotti,

utilizzando allo scopo il composto quale "marcatore" della loro origine botanica.

È stato inoltre rilevato (2, l.c.) che la presenza della sostanza in questi mieli è giustificata dall'esistenza della stessa nei fiori di arancio, come messo in evidenza su alcuni di questi fiori allo stato secco reperiti in erboristeria. Da questi la caffeina verrebbe quindi trasferita nel miele dalle api.

La letteratura sulla genesi dell'alcaloide in questi organi, se si eccettuano i citati lavori, è risultata priva di informazioni; l'indagine bibliografica in tale senso ha mostrato che la presenza della caffeina non è mai stata segnalata in piante della famiglia delle Rutacee, alle quali gli agrumi appartengono.

Nel primo studio menzionato la caffeina era stata riscontrata in modo netto e in quantità superiore nei mieli qualificati di arancio rispetto a quelli generici di agrumi, per cui era stato ipotizzato che il suo tenore fosse in qualche modo da mettere in relazione alla specie botanica, presupponendo una scalarità di contenuto nell'ambito del genere *Citrus*.

Si è ritenuto così opportuno effettuare la verifica di tale ipotesi tramite uno studio orientato, da eseguire sugli organi fiorali di queste piante.

Pertanto, scopo precipuo del presente lavoro è di fornire una panoramica dei risultati riguardanti le concentrazioni dell'alcaloide discusso, presente negli organi fiorali degli agrumi, con l'intento prioritario di mettere in evidenza eventuali differenze tra le diverse specie.

**Tabella 1 - Concentrazione di caffeina nei fiori di agrumi (mg/kg) e percentuali di umidità e sostanza secca.**

Specie	Varietà	Sul secco	Sul fresco	Umidità	Sost. secca
Arancio	Salustiana	16,18	2,36	85,42	14,58
Arancio	Valencia	14,82	2,41	83,75	16,25
Arancio	Bonanza	20,93	2,93	86,01	13,99
Arancio	Tarocco	7,04	0,82	88,35	11,65
Arancio	Navelina	10,73	1,56	85,42	14,58
Arancio	Thomson	9,16	1,27	86,15	13,85
Limone	F.S. Teresa	13,94	2,13	84,68	15,32
Limone	di Massa	16,50	2,33	85,86	14,14
Limone	Eureka	12,32	1,78	85,52	14,48
Limone	Lisbon	14,52	2,17	85,01	14,99
Limone	Verna	7,29	1,04	85,76	14,24
Satsuma	Miho	n.r.		85,14	14,86
Satsuma	Okitsu	n.r.		85,32	14,68
Satsuma	Miyagawa	12,09	1,8	85,08	14,92
Pompelmo	Red Blush	7,81	1,24	84,12	15,88
Pompelmo	Star Ruby	4,61	0,78	83,16	16,84
Pompelmo	M. Seedless	21,94	3,44	84,30	15,70
Tangerino	C. Monreal	27,75	4,20	84,85	15,15
Tangerino	C. di Nules	30,92	4,69	84,83	15,17
Tangerino	Fortune	n.r.		84,21	15,79
Tangerino	C. Oroval	13,10	2,15	83,57	16,43
Mandarino	T.di Ciaculli	28,77	4,83	83,20	16,80
Mandarino	Avana	9,66	1,39	85,56	14,44
Ibrido	Tang. Nova	n.r.		85,88	14,12
Ibrido	Oroblanco	28,98	3,95	86,38	13,62

## MATERIALI E METODI

Sono stati presi in esame 25 campioni di fiori di agrumi di diverse specie e varietà, raccolti nella prima decade di aprile 1996, in agro di Oristano, presso l'azienda sperimentale dell'Istituto per la Fisiologia della Maturazione e della Conservazione del Frutto delle Specie Arboree Mediterranee del CNR. Gli esemplari erano così costituiti: sei di arancio dolce: *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (cv. "Salu-

stiana", "Valencia", "Bonanza", "Tarocco", "Navelina", "Thomson"); cinque di limone (cv. "Femminello di Santa Teresa", Limone "di Massa", "Eureka", "Lisbon", "Verna"); tre di Satsuma (cv. "Miho", "Okitsu", "Miyagawa"); tre di pompelmo (cv. "Red Blush", "Star Ruby", "Marsh Seedless") oltre l'ibrido "Oroblanco"; quattro di tangerino (cv. "Clementine Monreal", "Clementine di Nules", "Fortune", "Clementine Oroval"); due mandarini mediterranei ("Tardivo di Ciaculli" e "Avana") e il

tangelo "Nova" (Ibrido di Clementine X Tangelo Orlando).

I campioni di circa 50 g di fiori integri sono stati essiccati su capsula tarata in stufa, alla temperatura di 105°C fino a peso costante per la determinazione dell'umidità e, per differenza a cento, della sostanza secca.

L'estrazione della caffeina è stata effettuata su 2 g di fiori secchi prelevati dalla massa resa uniforme previa macinazione. A questi sono stati aggiunti 50 mL di acetato di etile omogeneizzando all'Ultraturrax per 5 minuti a 9.000 giri; la parte solida è stata separata tramite filtrazione con filtro Watman n. 43, lavando più volte il filtro con acetato di etile fino a raggiungere una quantità di filtrato pari a circa 100 mL. Questo è stato portato a secco in Rotavapor a 35°C, ripreso con 4 mL di metanolo e filtrato con membrana da 0,22 µm. L'estratto purificato è stato analizzato in HPLC con la stessa strumentazione (Cromatografo liquido Hewlett-Packard 1050 corredato con rivelatore HP 1050 DAD), secondo i dettagli già previsti in un precedente lavoro (1, l.c.), riassunti brevemente di seguito: colonna LiChrospher 100 RP-18; gradiente lineare da 0 a 50% di B in 25 min, con  $A = H_3PO_4 \cdot 10^{-3} M$  e  $B =$  Acetonitrile; quantificazione mediante curva di calibrazione a livello multiplo (S.E.), utilizzando uno standard di caffeina pura (Sigma), lunghezza d'onda 205 nm.

Di ogni campione, analizzato in doppio, viene riportato il valore medio.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

La tab. 1 fornisce il quadro della situazione riscontrata. Il primo dato di rilievo è rappresentato dalla presenza della sostanza nei fiori di tutte le specie considerate ad eccezione dell'ibrido Clementine X Tangelo Orlando. In particolare è stata riscontrata in tutti i campioni di fiori di arancio, limone, pompelmo e nei due campioni di mandarino, mentre non è stata individuata in un campione su quattro di tangerino (cv

Fortune") e in due su tre di Satsuma (cv. Miho" e "Okitsu"). Le concentrazioni trovate - riferite alla sostanza secca - sono risultate piuttosto incostanti e variano, per tutti i campioni, da un minimo di 4,61 di un campione di pompelmo (cv "Star Ruby") a un massimo di 10,92 mg/kg di uno di tangerino (cv "Clementine di Nules"). Ad esclusione dei dati forniti dal Satsuma, non si notano differenze significative tra le diverse specie, mentre si rilevano consistenti differenziazioni dovute alle varietà. In questo senso i risultati, evidenziati su un solo campione per cultivar, non conferiscono però attendibilità statistica ai dati ottenuti.

Le concentrazioni maggiori sono state riscontrate nelle cv. "Bonanza" (arancio), limone "di Massa", "Marsh Seedless" (pompelmo), "Clementine di Monreal" e "Clementine di Nules" (tangerino) e "Tardivo di Ciaculli" (mandarino).

La concentrazione dell'alcaloide in esame contenuto nei mieli derivati da fiori di agrumi sembra conseguentemente prescindere dalla specie di origine; i risultati ottenuti mostrano infatti che i tenori della sostanza riscontrati nei diversi organi floreali esaminati non appaiono correlati a questa specificità. Ciò è vero se il trasferimento della caffeina operato dalle api dipende solo dal contenuto del composto in questi organi e non piuttosto da altri fattori, quali ad esempio la conformazione degli organi floreali delle diverse specie e la posizione dei nettari che potrebbero incidere sul contenuto di caffeina, facilitando od ostacolando il lavoro delle api.

Va inoltre rilevato che se, come sembra rilevarsi, la concentrazione della caffeina nei mieli è legata a quella presente negli organi floreali, viene contraddetto quanto già ipotizzato in precedenza (1, l.c.) in merito alle maggiori quantità di caffeina riscontrate nei mieli di "Arancio" rispetto a quelli generici di "Agrumi"; escludendo la correlazione con la specie di origine; tali differenze riscontrate sarebbero perciò legate più che altro a semplice casualità.

Tuttavia, al di là della situazione rile-

vata, risulta interessante la conferma dell'esistenza della caffeina negli organi floreali di questo genere botanico, che giustifica la presenza dell'alcaloide nei mieli di agrumi.

In questa nota sono state tabulate anche le concentrazioni di caffeina nei fiori allo stato fresco ed i loro tenori di umidità e di sostanza secca, utili per interpretare i rapporti quantitativi dell'alcaloide tra fiori e miele. In proposito si rileva, per esempio, che le concentrazioni della sostanza sul "tal quale" sono simili a quelle riscontrate sui mieli (1-5 mg/kg). Non disponendo però di notizie sulla reale localizzazione della caffeina negli organi floreali del genere *Citrus* (fatto che meriterebbe uno studio approfondito, sul nettario o direttamente sul nettare dove verosimilmente si origina l'alcaloide), né sui livelli di presenza nelle diverse parti del fiore, appare difficile pervenire a considerazioni conclusive, che pertanto lasciano ai dati ottenuti interesse di carattere generale.

\* \* \*

La presenza della caffeina nei mieli e nei fiori di agrumi può costituire un particolare motivo di interesse se si considerano gli eventuali risvolti relativamente all'uso "erboristico" di questi prodotti.

A tale scopo i fiori si utilizzano in infuso/tisana (4, 5), idrolato (6), sciroppo (7). Vengono impiegati in fitoterapia ed erboristeria salutistica, in fitocosmesi, in profumeria, aromatizzazione, fitoalimurgia: i fiori possono essere consumati fritti (5) e l'infuso come rinfrescante-dissettante estivo (8).

Limitatamente al primo punto gli usi sono molteplici: "calmante-sedativo-distensivo-tonico nervino" negli stati nervosi, nelle palpitazioni e nell'affaticamento (9); "antispasmodico cardiaco" in caso di convulsioni e palpitazioni cardiache (4, 8, 9); "antidepressivo" negli stati depressivi o angosciosi e di affaticamento (10); "ipotensivo" nell'ipertensione e nelle emicranie (8, 9); "tonico gastrico" nelle digestioni difficili e nelle aerofagie (7); "pettorale" nelle

bronchiti e nelle infiammazioni pettorali e durante i raffreddori (11).

Per quanto riguarda le azioni farmacologiche della caffeina somministrata in dosi terapeutiche, alcune sembrano in contrasto con le suddette proprietà dei derivati floreali, altre invece mostrano analogie a cui può non essere estranea la presenza in essi della sostanza. Delle azioni della caffeina si citano: quella stimolante sul sistema nervoso centrale a cui è legato tra gli altri l'aumento del lavoro intellettuale, la riduzione dell'affaticabilità dei muscoli, l'azione positiva sull'apparato circolatorio e respiratorio, quella diuretica e quella sulla secrezione gastrica (12, 13).

## BIBLIOGRAFIA

- 1) V. Vacca, P. Fenu, "Indagine sul contenuto di caffeina in alcuni mieli sardi del commercio", *Industrie Alimentari*, 1996, XXXV, (4), 568-571.
- 2) C. Trova, G. Cossa, G. Gandolfo, "Indagine sulla presenza di caffeina nel miele", *Industrie Alimentari*, 1994, XXXIII, (4), 403-405.
- 3) A. Defilippi, G. Piancone, G.P. Tibaldi, "La qualità dei mieli - Metodica HPLC per la determinazione della caffeina nei mieli d'arancio", *Industrie Alimentari*, 1995, (1), 6-8.
- 4) P. Fournier, *Le livre des Plantes médicinales et vénéneuses de France*, 1, Lechevalier, Paris, 1947.
- 5) L. Pomini, *Erboristeria Italiana*, 2 ed., U. Hoepli, Milano, 1973.
- 6) H. Leclerc, *Precis de Phytothérapie*, Masson, Paris, 1954.
- 7) S. Iozzi, *Arancio per la digestione. Limone per il fegato*, *Secondo Natura/Erbe*, (70), 9-10, 1991.
- 8) A. Trenti, A. Benaglio, *Le piante consigliate dal medico*, A. Delfino Edit., Roma, 1983.
- 9) J. Valnet, *Fitoterapia. Cura delle malattie con le piante*, Martelli-Giunti, Milano, 1976.
- 10) M. Mességué, *Il mio erbario*, Mondadori, Verona, 1976.
- 11) M. Rossi, "Oli essenziali - schede tecniche. Neroli", *Erboristeria Domani*, (10,44), 1994.
- 12) W.C. Bowman, M.J. Rand, G.B. West, *Textbook of pharmacology*, Oxford 1968.
- 13) W.C. Cutting, *Handbook of pharmacology*, New York 1965.