مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۴، شماره ۱، سال ۱۳۸۲ (۹۶-۹۱)

حساسیت پنج رقم سیب به قهوه‌ای شدن

منوچهر حامدی[۱] و جعفر محمدزاده میلانی[۲]
۱، ۲، دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۱/۸/۸

خلاصه

ترکیب‌های فنولی و فعالیت پلی فنول اکسیداز (PPO) در ۵ رقم سیب در رابطه با حساسیت آنها به قهوه‌ای شدن اندازه‌گیری شدند. درجهٔ قهوه‌ای شدن با اندازه‌گیری رنگدانه‌های قهوه‌ای پس از همگون سازی پالپ میوه تعیین شد. تجزیهٔ واریانس سرعت قهوه‌ای شدن، میزان پلی‌فنولها و فعالیت پلی فنول اکسیداز نشان داد که تنها اثر رقم معنی‌دار است و بر هم کنش جهت و رقم معنی‌دار نیست. مقایسه میانگین‌ها (دانکن) در سطح ۱٪ رقم‌ها را از لحاظ سرعت قهوه‌ای شدن به سه دستهٔ قوی (رددلیشس)، ضعیف (ارنگه و گرانی اسمیت)، (گلدن اسموتی) و متوسط (گلدن دلیشس) تقسیم کرد. ارنگه به علت داشتن بالاترین میزان مواد جامد محلول و کمترین سرعت قهوه‌ای شدن رقم برتر بود.

واژه‌های کلیدی: سیب، قهوه‌ای شدن، آنزیم، پلی فنول اکسیداز، مواد فنولی

مقدمه

بررسی‌های زیادی دربارهٔ قهوه‌ای شدن آنزیمی در میوه‌ها و سبزیها انجام شده است. این پدیده نتیجهٔ اکسایش آنزیمی مواد فنولی به کینونهاست که سپس پلیمری شده فرآورده‌های قهوه‌ای پدید می‌آورند. بسیاری از پژوهشگران در پی برقراری رابطه بین درجهٔ قهوه‌ای شدن، محتوای فنولی، و اکسایش آنزیمی میوه‌ها بوده‌اند (۱، ۴، ۶، ۷).

حساسیت سیبها به قهوه‌ای شدن ر هم کنشهای پیچیده‌ای با بین فعالیت پلی فنول اکسیداز (PPO) و محتوای مواد فنولی نشان می‌دهد. برخی از پژوهشگران نشان دادند که فعالیت آنزیمی عامل اصلی در قهوه‌ای شدن است (۹)، در حالی که دیگران نشان دادند که محتوای فنولی عامل عمده است (۸). پژوهشگران دیگری هر دو عامل را مؤثر در قهوه‌ای شدن می‌دانند (۳) و این عوامل را وابسته به مرحله فیزیولوژیکی میوه‌ها می‌دانند (۵). مطابق با اندازه‌گیریهایی که انجام شد ارقام زارعی را به دو دستهٔ با قابلیت قهوه‌ای شدن ضعیف (Golden، Mutsu, Florina, Elstar) و قوی (Red delicious, Fuji، Gala, McIntosh, Canada, Charden) تقسیم کردند و تنها یک رقم (Granny smith) رفتاری متفاوت داشت (۱).

مواد و روشها

واریته‌های سیب

سه رقم رددلیشس، گلدن اسموتی و گرانی اسمیت از باغ میوهٔ دانشکده کشاورزی کرج در جاده محمدآباد و دو رقم دیگر از باغ میوه‌ای در روستای ارنگه در زمان‌های برداشت تجارتی آنها چیده شدند. برای بررسی اثر دو باغ میوه، رقم رددلیشس از باغ آخری نیز مورد آزمایش قرار گرفت.

برای هر رقم سه درخت به طور تصادفی در سه نقطه مختلف باغ انتخاب شد. هر درخت به دو جهت شمالی و جنوبی تقسیم شد. از هر جهت سه دستهٔ چهارتایی سیب چیده شدند و در درون یک کیسهٔ نایلونی قرار داده شدند و روی کیسه نام رقم، شمارهٔ درخت و جهت نوشته شد. دو کیسه برای انجام دو تکرار آزمایش و یک کیسه نیز ذخیره شد. برای انتخاب هر یک از این دسته‌های چهارتایی یک سیب از بالای درخت، دو عدد از

مکاتبه کننده: منوچهر حامدی

Archive of SID
www.SID.ir

بخش میانی و یک عدد هم از قسمت پایینی درخت انتخاب شدند.

کیسه‌ها در سبدهای پلاستیکی به سردخانه گروه باغبانی منتقل و در رطوبت نسبی ۹۵٪ و دمای ۱ °C تا انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند.

چهار عدد سیب از هر بسته پس از شستشو پوست‌گیری شدند و بی‌درنگ ۵۰گرم از گوشت میوه را در بشر ۲۵۰ میلی‌لیتر حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و فورا به مخلوط کن (Braun) منتقل و به مدت ۱ دقیقه همگون گردید (۲).

اندازه‌گیری قهوه‌ای شدن

مخلوط همگون شده را مدت ۱ ساعت درون بشری در دمای اتاق قرار داده سپس ۱۰ میلی‌لیتر از مایع شفاف رویی را به لوله آزمایش منتقل کرده ۱۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ افزوده کاملا مخلوط کرده مدت ۱۵ دقیقه در ۸۰۰ g سانتریفوژ (BHG optima II) گردید. جذب مایع رویی در طول موج ۴۴۰ nm در اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160 A) نشانه سرعت قهوه‌ای شدن نمونه بود (۲). باید اشاره کرد که خواندن جذب تقریبا ۸۵ دقیقه پس از همگون‌سازی انجام شد، زیرا پس از این مدت جذب به کندی کاهش می‌یافت.

مواد جامد محلول

با استفاده از رفراکتومتر (Bellingham & Stanely) مواد جامد محلول مایع رویی تعیین شد.

استخراج و خالص‌سازی ترکیبهای فنولی

از هر یک از چهار عدد سیب پس از پوست‌گیری حدود ۳/۷۵ گرم و در جمع ۱۵ گرم گوشت میوه توزین و بی درنگ به درون ۱۶۰ گرم استون یخی ریخته و با مخلوط کن به مدت ۱ دقیقه همگون گردید. سپس از کاغذ صافی واتمن شماره یک در خلاء صاف گردید و باقی مانده با ۳۰ میلی‌لیتر اتر نفت (۶۰-۴۰ °C) شستشو داده شد تا رنگدانه‌ها حذف شوند (۱، ۴).

تهیه عصارهٔ آنزیمی و تعیین فعالیت PPO

باقیماندهٔ نامحلول در استون در دمای ۴۰ °C و فشار اتمسفر خشک گردید. ۲۰۰ میلی‌گرم از آن را با ۱۰ میلی‌لیتر تامپون فسفات ۰/۱ مولار، pH= ۶/۲ با شیکر (Retech) کاملا آمیخته و عصارهٔ آنزیمی به دست آمده را با کاغذ صافی معمولی صاف کرده آنگاه به مدت ۱۰ دقیقه در ۸۰۰ g سانتریفوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ زلال شده را با ۰/۱ میلی‌لیتر کاتکول ۰/۱ مولار درون کووت ریخته و تغییر دانسیته نوری به مدت ۳ دقیقه به فاصله‌های ۱۰ ثانیه در برابر شاهد (آب مقطر کاتکول ۰/۱ مولار) خوانده شد و سپس فعالیت آنزیمی با استفاده از فرمول ریاضی محاسبه گردید:

$$\text{میزان فعالیت آنزیمی} = \frac{A \times W \times ۱۰}{۰/۰۰۱ \times ۱۵ \times ۲ \times ۰/۲}$$

A = عدد خوانده شده در دستگاه

W = وزن آنزیم حاصل از ۱۵ گرم سیب

بر طبق فرمول بالا یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت بود از: تغییرODبه میزان۰/۰۰۱در دقیقه در ۱ml عصارهٔ آنزیم (۲، ۴).

تعیین مقدار پلی‌فنولها

عصارهٔ استون – اتری در تبخیر کنندهٔ دوار (Buchi) در فشار ۶۶۰ میلی‌متر جیوه خلاء و دمای ۴۰ °C تبخیر شد تا حلالهای آلی آن کاملا حذف شوند. باقیمانده از صافی واتمن شمارهٔ ۱ عبور داده و در بالن ۲۰۰ میلی‌لیتر با چند بار شستشو با آب مقطر به حجم رسانده شد. ۱ میلی‌لیتر از آن را با ۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتوی ۱۰ حجم رقیق شده و ۴ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵٪ کاملا آمیخته پس از ۱ ساعت ماندن در دمای اتاق در برابر شاهد شامل ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و واکنشرهای دیگر مشابه نمونه در طول موج ۷۶۵nm جذب آن خوانده شد. با توجه به اینکه بهترین سوبسترای طبیعی PPO سیب و ترکیب فنولی غالب آن اسید کلروژنیک است (۱، ۴) منحنی استانداردی از این ماده به غلظت‌های ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ ، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میکروگرم در لیتر رسم گردید و به وسیلهٔ آن میزان ترکیب‌های فنولی تام بر حسب اسید کلروژنیک تعیین و مقدار آن در ۱۵ گرم گوشت میوهٔ سیب با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۴).

$$\text{پلی‌فنولهای تام} = \frac{۲ \times A}{۱۵}$$

=پلی فنولهای تام

A = عدد خوانده شده در اسپکتروفوتومتر

آنالیز آماری داده‌ها

برای مقایسهٔ رقمها از لحاظ میانگین چهار صفت: بریکس، سرعت قهوه‌ای شدن، میزان پلی‌فنولها و فعالیت PPO از آزمون فاکتوریل شامل دو عامل: رقم در شش سطح و جهت در دو

Archive of SID

www.SID.ir

سطح در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار استفاده شد. مقایسهٔ میانگین‌ها به وسیلهٔ آنالیز واریانس و روش دانکن انجام شد. رابطهٔ میان سرعت قهوه‌ای شدن با میزان پلی‌فنولها و میزان فعالیت آنزیمی از راه ضریب همبستگی پیرسون محاسبه شد و اثردو صفت میزان پلی‌فنولها و فعالیت PPO بر سرعت قهوه‌ای شدن از راه رگرسیون بررسی گردید.

نتایج و بحث

مواد جامد محلول

از نظر درصد مواد جامد محلول بین برخی ارقام اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. رقم‌های گلدن دلیشس و ارنگه بیشترین و رقم‌های رددلیشس ۱ و ۲ و گلدن اسموتی کمترین میزان بریکس را داشتند (جدول ۱). ولی تفاوت معنی‌داری بین رددلیشس ۱ و رددلیشس ۲، گلدن اسموتی و گرانی اسمیت نشان نداد. تجزیهٔ واریانس وجود اختلاف معنی‌دار بین دو جهت شمالی و جنوبی و نیز بیشتر بودن آن در جهت جنوبی و نبود اثر متقابل بین جهت و رقم را نشان داد. علت مؤثر بودن جهت می‌تواند بهره‌گیری بیشتر سمت جنوب از آفتاب باشد.

سرعت قهوه‌ای شدن

در تجزیهٔ واریانس به عمل آمده وجود اختلاف معنی‌دار بین رقم‌ها مشاهده شد. بیشترین اختلاف و در عین حال کمترین سرعت قهوه‌ای شدن را رقمهای ارنگه، گرانی اسمیت و گلدن اسموتی داشتند (جدول ۱) که به دلیل بالاترین میزان مواد جامد محلول به عنوان رقم برتر برای فرآوری معرفی می‌شود.

بین جهت شمالی و جنوبی اختلاف معنی‌داری در سرعت قهوه‌ای شدن مشاهده نشد و همچنین اثر متقابلی نیز بین جهت و رقم ملاحظه نگردید.

رقم‌های رددلیشس ۱ و ۲ که یک رقم در دو باغ متفاوت بودند از این لحاظ اختلاف معنی‌داری نشان ندادند که به معنی موثر نبودن موقعیت مکانی آنهاست ولی اختلاف آنها با رقم‌های دیگر به شدت معنی‌دار بود.

مقدار پلی‌فنولها

جدول ۱ نشان می‌دهد که رقم‌های گلدن اسموتی و رددلیشس ۱ به ترتیب کمترین و بیشترین میزان پلی‌فنولها را دارا بودند. در این رابطه اختلاف معنی‌داری بین رددلیشس ۲ و ۱ مشاهده نشد. همچنین بین دو جهت شمالی و جنوبی و نیز اثر متقابلی بین جهت و رقم به دست نیامد.

فعالیت PPO

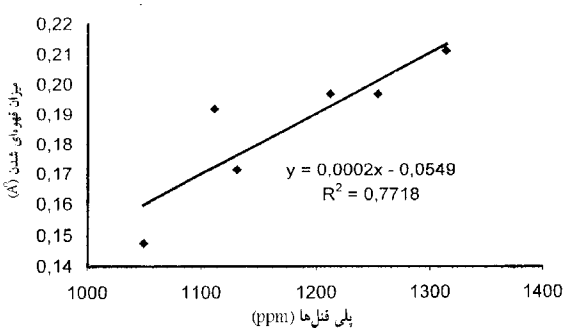
اگر چه رقم‌ها اختلاف معنی‌داری از لحاظ فعالیت PPO داشتند، کمترین فعالیت در رقم ارنگه و بیشترین فعالیت در گرانی اسمیت و رددلیشس مشاهده شد. تفاوت فعالیت PPO بین رددلیشس ۱ و رددلیشس ۲ معنی‌دار نبود (جدول ۱). بین دو جهت شمالی و جنوبی اختلاف فعالیت PPO معنی‌دار نبود و اثر متقابلی نیز بین جهت و رقم مشاهده نشد.

نتایج حاصل از تحلیل رگرسیون در رقم‌های رددلیشس ۱ و ۲ و گلدن دلیشس تنها وارد شدن میزان پلی‌فنولها را در معادله نشان داد (شکل‌های ۱، ۲، ۳). در ارقام ارنگه و گرانی اسمیت تنهامیزان فعالیتPPO واردمعادلهٔ رگرسیون شد(شکل‌های۴،۵).

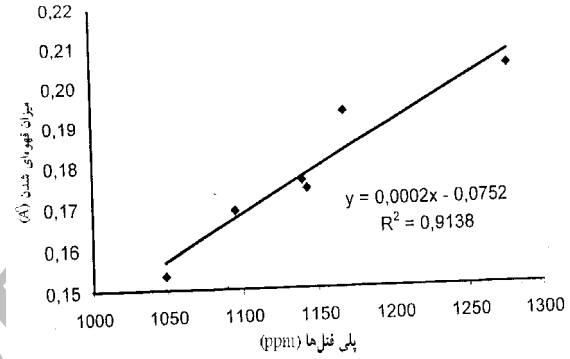
جدول ۱- مقایسه میانگین‌ها TSS، سرعت قهوه‌ای شدن، میزان پلی‌فنولها در واریته‌ها

رقم	TSS%				سرعت قهوه‌ای شدن		پلی فنولهای تام		PPO	
	میانگین		دانکن (۵٪)							
	جنوب	شمال	جنوب	شمال	میانگین	دانکن(۱٪)	میانگین	دانکن(۱٪)	میانگین	دانکن(۱٪)
رددلیشس ۱	۴/۹۱۷	۴/۵۵۰	C	B	۰/۱۸۶۰	A	۱۱۷۹/۰	A	۱۴۷/۱	A
رد دلیشس ۲	۴/۹۷۷	۴/۶۸۳	C	B	۰/۱۷۸۲	A	۱۱۴۶/۰	AB	۱۵۲/۵	A
گلدن دلیشس	۵/۴۱۷	۴/۸۵۰	A	A	۰/۱۴۴۰	B	۱۰۳۶/۰	ABC	۱۲۵/۵	B
ارنگه	۵/۲۶۷	۵/۱۴۳	AB	A	۰/۱۰۷۸۰	C	۱۰۶۹/۰	ABC	۹۱/۸۷	C
گرانی اسمیت	۵/۰۴۰	۵/۰۲۰	BC	AB	۰/۱۱۲۳۳	C	۱۰۰۹/۰	BC	۱۵۴/۷	A
گلدن اسموتی	۴/۸۳۳	۴/۶۸۳	C	B	۰/۱۲۸۰	BC	۹۶۸/۸	C	۱۱۵/۲	B

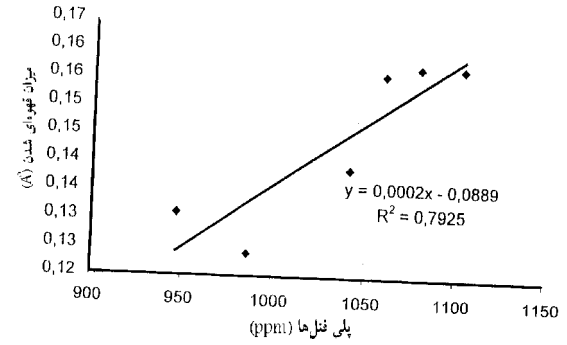
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- رابطه خطی بین سرعت قهوه‌ای شدن (y) و میزان پلی فنولها (x) در واریته رددلیشس ۱

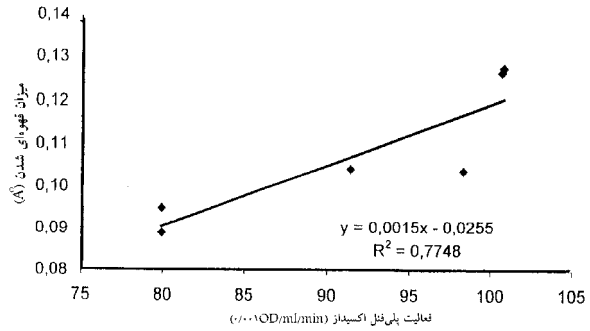


شکل ۲- رابطه خطی بین سرعت قهوه‌ای شدن (y) و میزان پلی فنولها (x) در واریته رددلیشس ۲

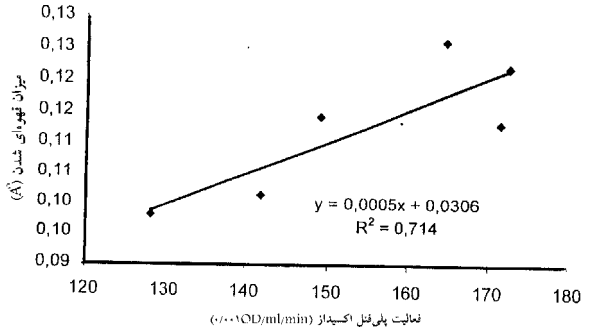


شکل ۳- رابطه خطی بین سرعت قهوه‌ای شدن (y) و میزان پلی فنولها (x) در واریته گلدن دلیشس

در حالی که، در رقم گلدن اسموتی هیچ یک از این دو صفت وارد معادلهٔ رگرسیون نشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که عامل اصلی قهوه‌ای شدن در برخی از رقم‌ها مانند رددلیشس و گلدن دلیشس مقدار پلی فنولها و در ارقامی مانند ارنگه و گرانی اسمیت میزان فعالیت PPO است. در حالی که، در ارقامی مانند گلدن اسموتی هیچ یک از این دو عامل نقش غالب را در قهوه‌ای شدن ندارند.



شکل ۴- رابطه خطی بین سرعت قهوه‌ای شدن (y) و میزان پلی فنول اکسیداز (x) در واریته ارنگه



شکل ۵- رابطه خطی بین سرعت قهوه‌ای شدن (y) و میزان پلی فنول اکسیداز (x) در واریته گرانی‌اسمیت

از هفت رقم سیبی که Coseteng و Lee (۱۹۸۷) آزمایش کردند درجهٔ قهوه‌ای شدن در چهار رقم (هیچ یک با ارقام آزمایشی ما مشابهتی نداشتند) با فعالیت PPO و سه رقم دیگر (تنها یک رقم، گلدن دلیشس، با ارقام آزمایشی ما وجه تشابه داشت) با غلظت مواد فنولی رابطهٔ مستقیم نشان داد. Klein (۱۹۸۷) ۲۲ رقم سیب نیوزیلندی را مورد آزمایش قرار داد که نتایج فعالیت PPO و محتوای مواد فنولی دو رقم مشترک آنها با ما (گرانی اسمیت و گلدن دلیشس) با درجهٔ قهوه‌ای شدن همبستگی نشان نداد. بنابراین نتایج کار ما با یک رقم مشترک Coseteng همخوانی ولی با دو رقم مشترک Klein ناهمخوانی دارد.

سپاسگزاری

هزینه‌های اجرای این طرح را معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران تأمین کرده‌اند.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES

1. Amiot, M. J ; Tacchini, M., Aubert, S. and Nicolas J. 1992. Phenolic composition and browning suseptibility of various apple cultivars at maturity. J. Food Sci., 57: 958-962.
2. Coseteng, M. Y. and Lee, C. . 1987. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. J. Food Sci. 52: 985-989.
3. Harel, E., Myer, A. M. and Shain, Y. 1966. Catechol oxidase from apples, their properties, subcellular location and inhibition. Physiol. Plant., 17: 921.
4. Klein, J. D. 1987. Relationship of harvest date, storage conditions, and fruit characteristics to bruise susceptibility of apple, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 112(1): 113-118.
5. Macheix, J. J. 1970. Role de differents facteurs intervenant dans le brunissement enzymatique des pommes pendant la croissance, Physiol. Veg. 8 : 585.
6. macheix, J. J: Fleuriet, A. and Billot, J. 1990. Fruit phenolics. CRC press. Inc. Boca Raton. F1.
7. Murata, M., Noda, I. and Homma, S. 1995. Enzymic browning of apples on the market: Relationship between browning, polyphenol content, and polyphenol oxidase. J. Japanese soc. food sci. and Technol, 42(10): 820-826.
8. Prabha, T. N. and Patwardhan, M. V. 1985. A comparison of the polyphenolic patterns in some Indian varieties of apples and their endogenous oxidation. I. J. of Food Sci. and Tehcnol. India, 22(6): 431-433.
9. Vamos – vigyazo, L., Gajzago, I : Nadudvari – markus, V. and Mihalyi, K. 1976. Studies into the enzymic browning and the polyphenol: Polyphenol oxidase complex of apple cultivars. Confructa, 21: 24-35.

Archive of SID

www.SID.ir

Susceptibility of Five Apple Cultivars to Browning

M. HAMEDI[1] AND J. MOHAMMAD ZADEH MILANI[2]
1, 2, Associate Professor and Former Graduate Student, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran
Accepted Oct. 30, 2002

SUMMARY

Phenolic compounds and polyphenol oxidase (ppo) activity in five apple cultivars were assessed in relation to browning susceptibility. The degree of browning was determined by measuring brown pigments in homogenised pulp. The analysis variance of the browning rate, polyphenol content and ppo activity showed that only the effect of cultivar was significant while the interaction of location and cultivar not of significance. Comparison of means (Duncan) classified the cultivars in view of browning rate in three groups ($P<0.01$): Strong (Red Delicious), weak (Arangeh and Granny Smith), and mild (Golden Delicious). Arangeh was the superior variety due to its highest total soluble solids and lowest browning rate.

Key words: Apple, Browning, Enzyme, Polyphenol oxidase, Cultivar, Phenolics.

Archive of SID

www.SID.ir