

Granny Smith Elma Çeşidinde Farklı Depolama Tekniklerinin Toplam Fenol ve Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkileri

Özgür Çalhan, Tuba Topçu, Atakan Güneşli, Cemile Ebru Onursal, İsa Eren

Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Eğirdir, Isparta

e-posta: ozgur_calhan@hotmail.com

Özet

Granny Smith elma çeşidinde erken (EH) ve optimum (OH) zamanlarda yapılan hasatlardan elde edilen meyveler 0°C ve %85-90 RH koşullarında normal atmosferde (NA), %90-95 RH koşullarında kontrollü atmosfer (KA) ve dinamik kontrollü atmosferde (DKA) muhafaza edilmiştir. Depolama öncesinde NA ve KA depolama koşullarına konan meyvelere hasat sonrası metilsiklopropan (1-MCP) (1 µL/L) ve difenilamin (DPA) (2000 mg/L) uygulamaları da yapılmıştır. Tüm uygulamalar sonunda meyveler NA koşullarında 8 ay, KA ve DKA koşullarında 10 süreyle depolama yapılmıştır. Depolamadan her 2 ayda bir numuneler alınmıştır. Alınan numunelerin yarısı raf ömrü koşullarında (20°C ve %60-65 RH) 10 gün bekletilmiştir. Hem soğuk depolamadan hem de raf ömrü sonundaki meyvelerden örnekler alınarak -80°C'de bekletilmiştir. Tüm meyve depolamaları tamamlandıktan sonra meyvelerin toplam fenol (TF) ve antioksidan aktivitesi (AA) analizleri yapılmıştır. Uygulamalar üzerine TF önemsiz iken AA istatistiki olarak önemli çıkmış ve en yüksek değerler 1-MCP uygulamasından elde edilmiştir. Hasat tarihi TF ve AA üzerine etkili olmuş ve EH meyveler daha düşük değerler almıştır.

Anahtar kelimeler: Granny Smith, toplam fenol, antioksidan aktivitesi, depolama

Effect of Different Storage Techniques on Total Phenol and Antioxidant Activity in Apple cv. Granny Smith

Abstract

Fruits obtained from early (EH) and optimum (OH) harvested in Granny Smith apple cultivars stored at 0°C and 85-90% relative humidity (RH) in regular atmosphere (RA), at 90±5% RH in controlled atmosphere (CA) (1% CO₂ -1.5% O₂) and in dynamic controlled atmosphere (DCA) (0.7-0.8% O₂ - 1% CO₂). Fruits, stored in RA and CA conditions, were treated with postharvest treatments methylcyclopropane (1-MCP) (1 mL/L) and diphenylamine (DPA) (2000 mg/L). All pre-storage treatments were completed after fruits were stored for 8 months in RA condition and for 10 months in CA and DCA conditions. Fruits were removed cold storage 2 months intervals. The half of removed fruits were held shelf life condition (20°C and 60-65% RH) for 10 days. Fruit examples were taken on the day of removal from storage and on the 10th day of ripening and held at -80°C by the time analysed. At the end of all storage periods, collected fruits samples were analysed total phenol (TP) and antioxidant activity (AA). While between pre-treatments of Granny Smith was found not to influence on TP, it was statically effective on AA and 1-MCP treated was higher value than other treatments. Harvest date of fruit was effective on TP and AA and EH fruits were lower TP and AA values than those of OH fruits.

Keywords: Granny Smith, total phenol, antioksidan activity, storage

Giriş

Elma, dünyada en fazla üretilen ikinci meyve türü olup (76.3 milyon ton), içerdiği yüksek miktarda fenolik maddeler ile insanlar için önemli bir kaynak oluşturmaktadır (Vanzo ve ark., 2013). Fenolik bileşikler meyve ve sebzelerde yoğun şekilde bulunur, taze ürünün duysal kalitesine katkı sağlar ve kalp-damar hastalıkları, kanser gibi birçok hastalığı azaltır veya gelişimini yavaşlatır (Kähkönen ve ark., 1999). Asıl olarak fenolik maddelerin sağlık üzerine etkisi, onların serbest radikallerin ve reaktif oksijen türevlerinin temizleyicisi olarak görev yapmalarına dayanmaktadır (Francini ve Sebastiani, 2013). Fenolik fitokimyasalların

bileşimi ve dağılımı bitkilerde olgunluk, çeşit, yetiştirme koşulları, kültürel uygulamalar, iklim koşulları, hasat sonrası koşulları tarafından etkilenmektedir (Kim ve ark., 2003).

Meyve ve sebzeler birçok antioksidan bileşen içermektedir. Bireysel bileşenlerin antioksidan aktiviteleri toplam antioksidan aktivitesinin yerini tutamaz, çünkü bileşenlerin birbirleriyle sinerjistik veya antagonistik etkileri vardır. Bu yüzden, bir meyvenin toplam antioksidan aktivitesi tüm antioksidan bileşiklerin katkılarını, bireysel bileşiklerin tek başına aktivitelerine göre daha iyi tahmin etmemizi sağlar (Fawbush ve ark., 2009). Meyve ve sebzelerin antioksidan aktivitesinin büyük çoğunluğu vitamin C, E, β-karoten gibi

antioksidan maddelerden ziyade flavonoidler gibi fenolik bileşikler oluşturmaktadır (Kim ve ark., 2003; Francini ve Sebastiani, 2013; Wang ve ark., 1996).

Bu çalışmada, farklı depolama koşulları ve hasat sonrası uygulamaların erken ve optimum zamana hasat edilen Granny Smith elma çeşidinde toplam fenol ve antioksidan aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Deneme Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü arazisinde yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak MM106 anacı üzerine aşılı Granny Smith elma çeşidi kullanılmıştır. Hasat zamanı gelişme süresi, nişasta skalası kriterleri kullanılarak, erken hasat 8.10.2011 ve optimum hasat 28.10.2011 olmak üzere iki dönemde toplanmıştır (TÇGS: 160-180 gün; NS: 5-7 nolu) (Eren, 2003). Hasattan sonra meyveler hemen depoya getirilmiş ve meyvelere hasat sonrası 1 µL/L dozunda 1-metilsiklopropan (1-MCP) 20°C sıcaklıkta 24 h süreyle, 2000 mg/L dozunda Difenilamin (DPA) 45 saniye süreyle uygulanmıştır. Kontrol, 1-MCP ve DPA uygulanan meyveler NA ve KA koşullarında, kontrol grubu ayrıca DKA depo koşullarında depolanmıştır. Her uygulamadan 3 tekrerrör olacak şekilde kasalara ayrılmış ve Çizelge 1.'de gösterilen şekilde depolanmıştır. NA koşullarında 8 ay, KA ve DKA koşullarında 10 süreyle soğuk depolama yapılmıştır. Meyve örnekleri 2 ay arayla depolardan çıkartılmış, yarısından meyve örneği alınarak -80°C dondurucuya konulmuş, diğer yarısı raf ömrü çalışmaları için 20°C ve %60-65 RH koşullarında 10 gün bekletildikten sonra meyve örnekleri alınmıştır. Tüm depolama süresi tamamlandıktan sonra meyvelerde analizler yapılmıştır.

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Toplam fenolik (TF) madde analizleri Folin-Ciocalteu metoduna göre yapılmıştır (Waterhouse, 2002). Her uygulamanın her döneminden 3 tekrerrörlü olarak alınan 5 gr meyve örneği 25 ml metanol eklenerek 10.000 rpm'de yaklaşık 2 dk homojenizatörde (Silent Crusher M model, Heidolph) parçalanmış ve +4°C'de 24 h bekletilmiştir. Çözelti filtre kağıdından süzildikten sonra 150 µl ekstrak alınarak üzerine 2.4 ml sf su ve 150 µl Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenerek vortekste karıştırılmıştır. Bu karışım üzerine 300 µl

%20'lik sodyum karbonat eklenerek oda sıcaklığında 2 h daha karanlıkta bekletildikten sonra 725 nm'de UV-Vis spektrofotometrede (Cary® 50 model, Varian) okuma yapılmıştır. TF için standart olarak Gallik asit kullanılmış ve TF miktarı mg GAE/100 ml TA olarak hesaplanmıştır.

Antioksidan Aktivitesi Miktarı

AA belirlenmesi FRAP metoduna göre belirlenmiştir (Benzie ve Strain, 1996). Meyve örneklerinin ön aşamaları TF analiziyle aynı şekildedir. 1 gün bekletilmiş karışımından su ile 1:3 oranında karışım hazırlanarak seyreltme yapılmıştır. Bu karışımından 150 µl alınarak 2.85 ml FRAP çözeltisi eklenmiş ve 30 dk oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. 593 nm'de UV-Vis spektrofotometrede (Cary® 50 model, Varian) okuma yapılmıştır. AA için standart olarak trolox eşdeğeri kullanılmış ve AA miktarı µmol TE/ ml TA olarak hesaplanmıştır. Tüm okumalar 3 tekrerrörlü olarak yapılmıştır.

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrerrörlü olarak kurulmuştur. Denemeden elde edilen veriler JMP 7 istatistik paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş, farklılıklar LSD çoklu karşılaştırma testine (P<0.05) göre gruplandırılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Meyve örneklerinde yapılan TF içerikleri Şekil 1.'de gösterilmiştir. Granny Smith elmalarının TF içeriği hasatta 85.5-93.2 mg GAE/100 ml TA (EH, OH, sırasıyla) iken, farklı muhafaza koşullarında depolama periyodu boyunca 71.8-120.6 mg GAE/100 ml TA arasında değişim görülmüştür. EH meyvelerinin TF miktarı OH edilenlere göre daha düşük bulunmuştur. Gago ve ark. (2015) Golden delicious çeşidinde 3 farklı hasatta ilk hasadın hasat zamanındaki TF içeriği diğer hasatlara göre daha düşük olduğunu bulmuştur. Çalışmamızda meyvelerin TF miktarları özellikle EH da uygulamalardan bağımsız olarak, başlangıçta bir miktar yükselmiş ve depolama sonuna doğru bir azalma meydana gelmiştir. Bu yükseliş-azalış OH meyvelerde daha az belirgin meydana gelmiştir. Kevers ve ark. (2011) King Jonagold elma çeşidinde benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Raf ömrü çalışmalarını sırasında da benzer bir sonuçlar elde

edilmiş, sadece OH-NA uygulamalarında doğrudan azalma görülmüştür. Genel depolama ortalamaları değerlendirildiğinde, EH meyvelerinin TF içeriklerinde NA depolanan meyvelerin KA'ya göre daha yüksek değerler almış ve istatistiki olarak farklılık bulunmuştur. OH meyvelerde de NA ve DKA meyveleri istatistiki olarak ön plana çıkmış, fakat TF değerleri depolar arasında oldukça yakın bulunmuştur. Elmalarda TF miktarı üzerine depolama koşullarının farklı etkileri bulunmuştur. Bazı araştırmacılar depolama çeşitlerinin etkisiz olduğu (Hoang ve ark., 2015; Van der Sluis ve ark., 2001) (NA ve KA), bazı araştırmacılar etkili olduğunu (Kevers ve ark., 2011) bildirmişlerdir. Fakat DKA meyvelerinde TF miktarı depolama süresi boyunca düzenli bir artış görülmüştür. 1-MCP uygulanan meyvelerin TF miktarı dönemlere ve depolara göre değişiklik gösterse de genellikle diğer uygulamalara göre yüksek değerler elde edilmiştir (Gago ve ark., 2015). Fakat uygulamalar arası istatistiki farklılık bulunamamıştır ($P<0.05$). Hoang ve ark. (2011) Cripps Pink elma çeşidinde yaptığı çalışmada 1-MCP'nin TF miktarı üzerine çok az etkisinin olduğunu bildirmiştir.

Antioksidan Aktivitesi Miktarı

Meyve örneklerinde yapılan TF içerikleri Şekil 2.'de gösterilmiştir. EH edilen meyvelerde hasatta AA'si ($4.54 \mu\text{mol TE/ ml TA}$), OH edilenlere ($5.58 \mu\text{mol TE/ ml TA}$) göre daha düşük tespit edilmiştir. Gago ve ark. (2015) hasat tarihi ilerledikçe AA azalma gösterdiğini, Kever ve ark. (2011) ise etkisiz olduğunu bulmuştur. EH edilen meyvelerin AA'leri depolama sırasında genellikle bir yükselme görülürken, OH edilenlerde genelde hasat değerlerinin sürdürüldüğü görülmektedir. EH hasatta düşüş genellikle uzun süre depolama sırasında elde edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda AA'nin soğuk depolama sırasında sabit kaldığı (Gago ve ark., 2015) veya yükseldiği ile ilgili kaynaklar bulunmaktadır (Hoang ve ark., 2011). Çalışmamızda genel depolama ortalamaları dikkate alındığında EH meyvelerinde NA depolama daha yüksek AA değerleri alırken KA depolamaya göre, OH meyvelerinde ise KA depolama daha yüksek değerler almıştır. AA üzerine soğuk depolamanın ve KA depolamanın etkisiz olduğu bildirilmiştir (van der Sluis ve ark., 2001). Uygulamaların etkisi değerlendirildiğinde ise

uygulama ortalamaları 1-MCP'nin 5.78, DPA'nın 5.60 ve kontrolün ise $5.39 \mu\text{mol TE/ ml TA}$ olarak tespit edilmiş ve aralarında istatistiki olarak farklılık bulunmuştur.

Sonuç

Granny smith elma çeşidinin TF miktarı EH meyvelerde depolama sırasında başlangıçta yükselme görülmüş, depolama süresinin uzamasıyla son dönemlerde tekrar azalmaya başlamıştır. OH meyvelerinde ise genellikle depolama süresi boyunca stabil kalmıştır. Meyvelerde hasat zamanı TF ve AA miktarını etkilemiştir. Depolama koşullarının genel ortalamaları değerlendirildiğinde TF ve AA miktarları değişmiştir. Uygulamaların TF üzerine belirgin etkileri görülmemiş, AA miktarı üzerine ise 1-MCP uygulamasının genel ortalamalarda daha yüksek değer aldığı tespit edilmiştir.

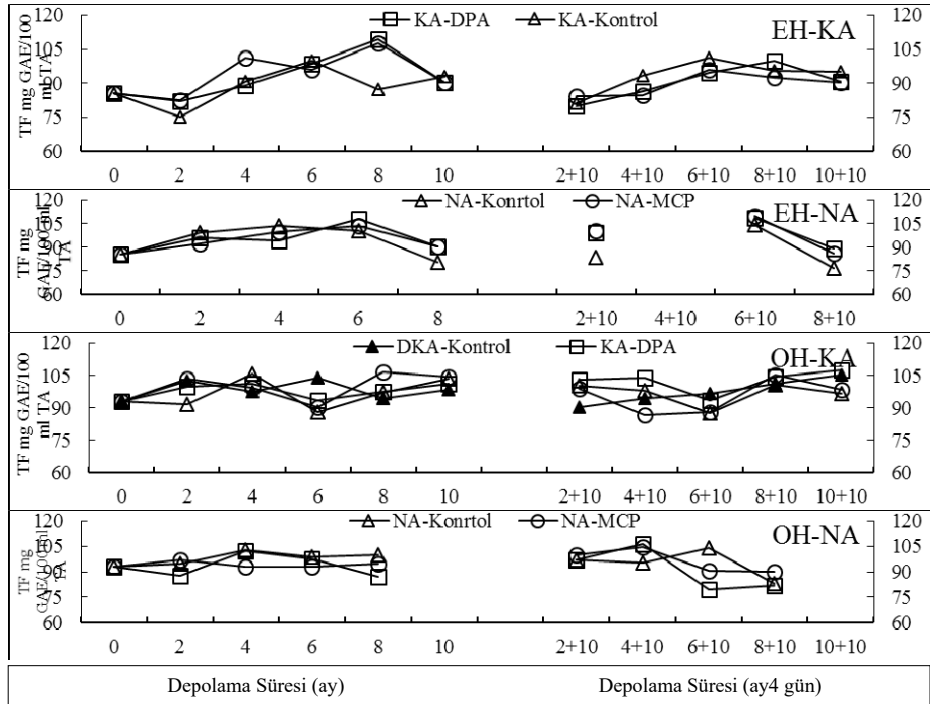
Kaynaklar

- Benzie, I.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1):70-76.
- Eren, İ., 2003. M9 Anacı üzerine aşılı elma çeşitlerinin derim zamanlarının belirlenmesi ve uygun depolama koşullarının araştırılması. *Meyvecilik Araş. İstas. Yay. No:19*, 68s.
- Fawbush, F., Nock, J.F., Watkins, C.B., 2009. Antioxidant contents and activity of 1-methylcyclopropene (1-MCP)- treated 'Empire' apples in air and controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*, 52(1):30-37.
- Francini, A. and Sebastiani, L., 2013. Phenolic Compounds in Apple (*Malus x domestica* Borkh.): Compounds Characterization and Stability During Postharvest and After Processing. *Antioxidants* 2013, 2:181-193.
- Hoang, N.T., Golding, J.B., Wilkes, M.A., 2011. The effect of postharvest 1-MCP treatment and storage atmosphere on 'Cripps Pink' apple phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 127(3):1249-1256.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47(10): 3954-3962.
- Kevers, C., Pincemall, J., Tabart, J., Defraigne, J.O., Dommes, J., 2011. Influence of cultivar, harvest time, storage conditions, and peeling on the antioxidant capacity and phenolic and ascorbic acid contents of apples and pears. *J. Agric. Food Chem.*, 59(11):6165-6171.

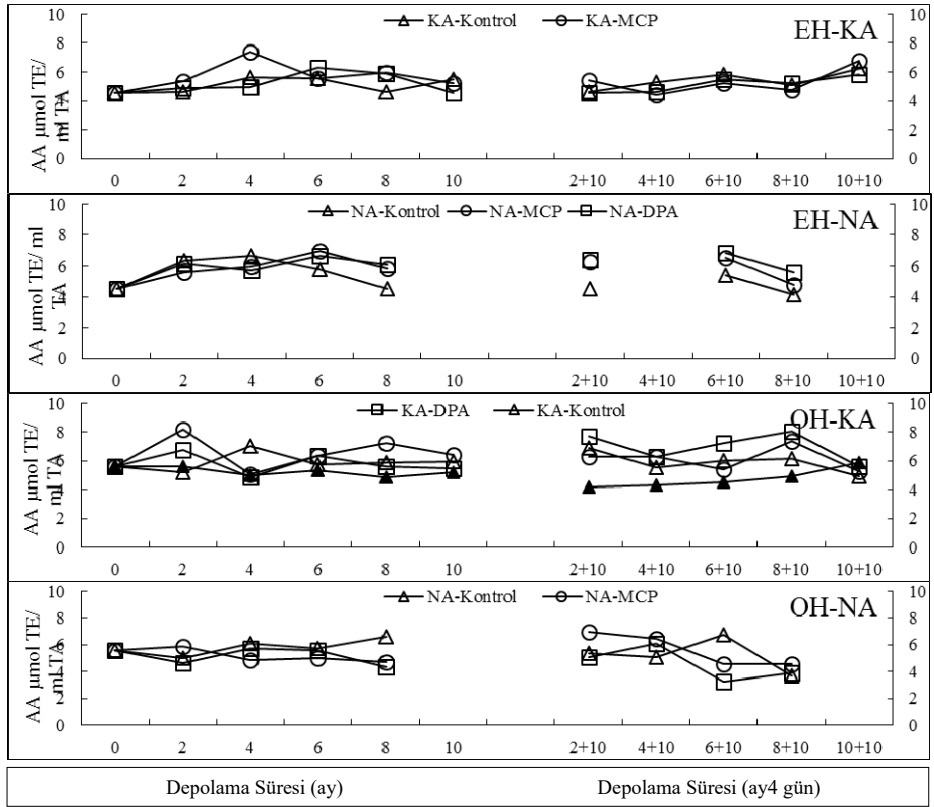
- Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y., 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem.*, 81(3):321-326.
- van der Sluis, A.A., Dekker, M., de Jager, A., Jongen, W.M.F., 2001. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: Effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 3606–3613.
- Vanzo, A., Jenko, M., Vrhovsek, U., Stopar, M. 2013. Metabolomic profiling and sensorial quality of Golden Delicious, Liberty, Santana, and Topaz apples grown using organic and integrated production systems. *J. Agric. Food Chem.*, 61(26):6580-6587.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R.L., 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 44(3):701-705.
- Waterhouse, A.L., 2002. Determination of total phenolics. Current protocols in food analytical chemistry, I.1.1.1-I.1.1.8.

Çizelge 1. Meyvelerin depolama koşulları

Depo çeşidi	Depolama koşulları
DKA	0°C sıcaklık ve %90-95 nispi nem %1 CO ₂ ve %0.7-0.8 O ₂
KA (LO ₂)	0°C sıcaklık ve %90-95 nispi nem %1 CO ₂ ve %1.5 O ₂
NA	0°C sıcaklık ve %85-90 nispi nem
RAF ÖMRÜ	20°C sıcaklık ve %60-65 nispi nem



Şekil 1. Erken (EH) ve optimum (OH) zamanda hasat edilen Granny Smith elma çeşidinde farklı depolama tekniklerinin muhafaza süresi sırasında meyvelerin toplam fenol (TF) miktarı (mg GAE/100 ml TA) değişimi.



Şekil 2. Erken (EH) ve optimum (OH) zamanda hasat edilen Granny Smith elma çeşidinde farklı depolama tekniklerinin muhafaza süresi sırasında meyvelerin Antioksidan aktivitesi (AA) miktarı ($\mu\text{mol TE/ ml TA}$) değişimi.