

تجزیه کیفی و کمی قندها و اسیدهای آلی غالب در دو رقم سیب درختی سمیرم در طی بسته‌بندی و انبارمانی، با بهره‌گیری از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

شهرام دخانی و رویا بهشتی^۱

چکیده

تغییرات قندهای اصلی و اسیدهای آلی دو رقم سیب درختی زرد لبنانی (Golden delicious) و قرمز لبنانی (Red delicious) پس از برداشت از باغ‌های سمیرم اصفهان، با روش دقیق کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) در سه نوع بسته‌بندی چوبی، کارتنی و پلی‌اتیلن سوراخ‌دار و در حین نگهداری به مدت هشت ماه در دمای $+۰/۵$ تا $-۰/۵$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵٪ برآورد شد. قندهای اصلی ساکارز، گلوکز، فروکتوز و اسیدهای آلی سیتریک و ال‌مالیک در هر دو رقم شناسایی و اندازه‌گیری شدند. اعداد به‌دست آمده با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین آزمون چند دامنه‌ای دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

ارزیابی قندهای اصلی ساکارز، گلوکز و فروکتوز با دستگاه HPLC نشان داد که قند غالب در هر دو رقم فروکتوز بود و سیب زرد لبنانی، ساکارز بیشتر و گلوکز کمتری نسبت به قرمز لبنانی داشت و میزان این سه قند در هر سه نوع بسته‌بندی و در هر دو نوع رقم با پیشرفت دوره انبارمانی کاهش یافت. ارزیابی اسیدهای آلی سیتریک و ال‌مالیک با دستگاه HPLC نشان داد که اسید آلی غالب در هر دو رقم ال‌مالیک بود. میزان اسید سیتریک در سیب زرد لبنانی، در ماه دوم و در سیب قرمز لبنانی در ماه اول در هر سه بسته‌بندی به حداکثر خود رسید و سپس تا ماه هشتم در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم حداقل بود. در مجموع، بسته‌بندی پلاستیکی به دلیل تغییرات فیزیکی شیمیایی کمتر، نسبت به دو بسته‌بندی دیگر در ارجحیت بود و هر دو رقم تا ماه هشتم انبارمانی از لحاظ کیفیت شیمیایی و فیزیکی خوب باقی ماندند.

واژه‌های کلیدی: انبارمانی سیب درختی، سیب زرد گلدن (سیب زرد لبنانی)، سیب قرمز گلدن (قرمز لبنانی)، کروماتوگرافی با کارایی بالا

۱. به ترتیب استاد و کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

خیلی بیشتر از گلوکز است و سوربیتول هم وجود دارد (۱۴). در طی انبارمانی، افزایش آرامی در میزان سوربیتول سیب دیده می‌شود که می‌تواند به تبدیل بی‌هوازی فروکتوز نسبت داده شود.

اسید مالیک که ۹۰ درصد اسیدهای آلی موجود در سیب را تشکیل می‌دهد، غالب‌ترین اسید آلی موجود در سیب بوده و فرم ایزومر دی‌مالیک در سیب وجود ندارد (۱۳). براساس پژوهش ماهاجان (۱۵) در همان فرایند فعالیت تنفسی موجب کاهش اسیدیته قابل تیترا می‌شود و اسیدیته قابل تیترا در سیب از یک کاهش خطی در سراسر دوره انبارمانی پیروی می‌کند و در شروع با پیشرفت دوره انبارمانی یک روند کاهشی نسبتاً سریعی در اسیدیته قابل تیترا وجود دارد و پس از آن به تدریج کاهش می‌یابد. ویلز و همکارانش (۱۷) اعلام کردند که این کاهش ممکن است به منظور افزایش در فعالیت آنزیم مالیک دهیدروژناز و واکنش‌های دکربوکسیلاسیون پیرووات در طی مرحله تنفس فرازگرا باشد. طبق گزارش فرجی هارمی (۴) و صانعی شریعت‌پناهی (۳) در سیب و گلابی مقدار اسید مالیک در مراحل اولیه و قبل از رسیدن میوه به حداکثر خود می‌رسد و اسید سیتریک هر چند که به مقدار کمتری نسبت به اسید مالیک در این نوع میوه‌ها وجود دارد ولی پس از آن که مقدار اسید مالیک به حداکثر خود رسید، اسید سیتریک نیز به حداکثر خود می‌رسد و سپس به دلیل فعالیت تنفسی به طور پیوسته از میزان آن کاسته می‌شود. میدانی و هاشمی دزفولی (۶) اعلام کردند که در سیب، اسید مالیک با سرعت نسبتاً بیشتری نسبت به اسید سیتریک کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد کاهش پیوسته اسیدهای آلی در سیب و گلابی برداشت شده با پیشرفت پیری سرعت می‌یابد (۴ و ۳).

روش کروماتوگرافی با کارایی بالا برای اندازه‌گیری قندهای اصلی و اسیدهای آلی مواد غذایی به طور دقیق نسبت به سایر روش‌ها در پژوهش‌های بسیاری معرفی شده است (۱، ۱۶، ۱۱ و ۱۲). براساس گزارش نولت (۱۶) اسیدهای آلی و قندهای میوه‌ها و سبزی‌ها از جمله ترکیباتی هستند که

سیب با نام علمی *Pyrus malus* دارای ارقام گوناگونی است که متداول‌ترین نوع خارجی که در ایران کشت می‌گردند و سازگاری نسبتاً خوبی پیدا کرده‌اند، ارقام زرد لبنانی (Golden delicious) و قرمز لبنانی (Red delicious) هستند (۵). برخی از محققین (۲ و ۷) تغییرات متابولیکی و بیوشیمیایی در ارقام سیب را هنگام یا در طول رسیدن به طور مفصل شرح داده‌اند. بودری و همکاران (۹) و چو (۱۰) مرحله رسیدن ارقام سیب درختی را با روش تست نشاسته - ید برای پیش‌بینی زمان برداشت سیب از درخت اعلام کرده‌اند. طبق نظر چو (۱۰) سطح بریده شده سیب در تست رسیدگی نشاسته - ید با رنگ تیره نارس و با رنگ روشن رسیده گزارش شد.

مطابق گزارش فرجی هارمی (۴) و صانعی شریعت‌پناهی (۳) مقدار جزئی نشاسته موجود در سیب و گلابی در حین رسیدگی تبدیل به قندهای ساده و ناپدید می‌شود. میزان نشاسته در سیب نارس نسبتاً زیاد بوده ولی در سیب رسیده تبدیل به قندهای ساده شده و مقدار بسیار جزئی از آن باقی می‌ماند و یا این‌که به طور کامل حذف می‌شود.

طبق پژوهش‌های آنزوات و ریزوی (۸) کاهش کلی در فعالیت تنفسی سیب‌های بسته‌بندی شده در مقایسه با سیب‌های بسته‌بندی نشده دیده شد. در سیب‌های بسته‌بندی شده، فیلم ضخیم‌تر به دلیل تجمع گاز CO_2 بیشتر و O_2 کمتر باعث کاهش بیشتری در فعالیت تنفسی سیب‌ها شد و میزان مواد جامد محلول (بریکس)، قندهای کل و اسیدیته قابل تیترا بر حسب اسید مالیک در آن بیشتر بود.

براساس پژوهش ماهاجان (۱۶) در سلول‌های میوه سیب، اسید مالیک در بین اسیدهای آلی، ماده اصلی فعالیت تنفسی به همراه قندها به‌ویژه گلوکز است، فعالیت تنفسی، موجب کاهش مواد جامد محلول می‌شود و گلوکز که در بین قندها ماده اصلی فعالیت تنفسی است، بیشتر از دست می‌رود. از این رو فروکتوز در سیب و گلابی به مقداری بیش از گلوکز ذخیره می‌شود. در سیب‌ها بر عکس انگورها، غلظت فروکتوز

روش‌ها

الف) برای شناسایی کیفی و اندازه‌گیری کمی قندهای اصلی موجود در سیب با دستگاه HPLC، مراحل زیر انجام شد:

۱. آماده‌سازی فاز متحرک (Mobile phase): آب دو بار تقطیر شده (Double distilled water (D. D. W)، از صافی تحت خلاء با منافذ ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد و عمل هواگیری آن به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت (۱ و ۱۱).

۲. آماده‌سازی و تهیهٔ عصارهٔ قندهای اصلی از سیب: به یک گرم پوره سیب ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده اضافه شد. بعد از یکنواخت کردن، این محلول به‌داخل لوله‌های سانتریفوژ مدل هتیچ آلمان ریخته شد و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول شفاف فوقانی از صافی میلی‌پور ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد و در ظرف نمونه شیشه‌ای ۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری گردید و از آن برای تزریق به دستگاه HPLC بهره‌گیری شد و یا جهت تزریق‌های بعدی در فریزر 18°C تا زمان تزریق نگه‌داری گردید.

۳. اندازه‌گیری قندهای اصلی سیب با سیستم HPLC: دستگاه مدل شیمادزو ژاپن برای اندازه‌گیری قندهای اصلی از سیستم مربوطه با مشخصات زیر بهره‌گیری شد.

ستون جداکننده به ابعاد ۷/۹ در ۳۰۰ میلی‌متر از نوع SCR-101N، مخصوص تجزیه قندها با مکانیزم غربالی یونی (Ion Exclusion)، گارد یا محافظ ستون SCR(N) به ابعاد ۷/۹ در ۴۰ میلی‌متر، سیستم فاز متحرک ایزوکراتیک (Isocratic)، فاز متحرک آب دوبار تقطیر شده، پمپ HPLC مدل LC-6A، سرعت جریان فاز متحرک ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه، دمای ستون جداکننده 60°C با آون مدل CTO-6A، شناساگر ضریب انکسارسنجی RID مدل شیمادزو ژاپن مخصوص شناسایی قندها، حساسیت (Attenuation) سیستم برابر ۴، سرعت چارت برابر ۵ میلی‌متر در دقیقه، سیستم تزریق Rheodyne.

پس از فیلتر شدن نمونه‌های آماده شده با صافی‌های میلی‌پور ۰/۴۵ میکرون، یک میکرولیتر با دو تکرار با سرنگ ۱۰ میکرولیتری همپلتون (Hamilton syringe) به دستگاه تزریق

در طی انبارمانی دستخوش تغییر می‌شوند بنابراین با توجه به تغییر ویژگی‌های حسی (ارگانولپتیکی) که در این محصولات ایجاد می‌شود، اندازه‌گیری سریع و دقیق آن با روش کروماتوگرافی با کارایی بالا پیشنهاد شده است (۱ و ۱۶). در این پژوهش روش کروماتوگرافی با کارایی بالا با توجه به درصد بازیافت قندهای اصلی و یا اسیدهای آلی غالب در دو رقم سیب درختی در بسته‌بندی‌های مختلف و ضمن نگه‌داری در سردخانه صنعتی به‌طور دقیق برآورد و محاسبه شد.

مواد و روش‌ها

مواد

الف) سیب زرد و قرمز لبنانی منطقه گرموک سمیرم از باغ انتخاب شده در اواسط مهرماه، با انجام آزمون نشاسته-ید (۹) برداشت شد. زمان برداشت ۱۴۹ روز پس از تاریخ گل‌دهی درخت‌های سیب بوده که دقیقاً با نمودارهای استاندارد (۹) بهره‌گیری شده برای مثبت بودن آزمون نشاسته-ید هم‌خوانی داشته و برای زمان برداشت به‌منظور مصرف یا انبارمانی مورد تأیید بود. همچنین در سه نوع بسته‌بندی صندوق چوبی، کارتن مقوایی مخصوص صادرات و کیسه‌های پلاستیکی سوراخ‌دار در سردخانهٔ صنعتی بهار اصفهان به مدت ۹ ماه در دمای $0/5^{\circ}\text{C}$ تا $10/5^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵٪ نگه‌داری شدند.

ب) مواد شیمیایی

اسید سولفوریک، EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid) استاندارد قندهای اصلی (ساکارز، گلوکز و فروکتوز) با خلوص بیش از ۹۹/۵ درصد از شرکت مرک آلمان و استاندارد اسیدهای آلی (ال- ایزوسیتریک، سیتریک، ال- مالیک و شکیمیک) با خلوص بیش از ۹۹/۵ درصد از شرکت سیگمای انگلیس تهیه شد.

حجمی ۱۰۰، ۱۰ و ۱ برداشته و با هم مخلوط شد (۱۱) و (۱۲).

۳. آماده‌سازی و تهیه عصاره اسیدهای آلی از سیب: به یک گرم پوره سیب، ۱۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده و ۴ میلی‌لیتر محلول بافر اضافه شد. بعد از یکنواخت کردن، این محلول به داخل لوله‌های سانتریفوژ ریخته و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول شفاف فوقانی، از صافی میلی‌پور ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد و در ظرف نمونه شیشه‌ای جمع‌آوری و از آن برای تزریق به دستگاه HPLC بهره‌گیری شد و یا این‌که برای تزریق‌های بعدی در فریزر 18°C - تا زمان تزریق نگه‌داری گردید.

۴. اندازه‌گیری اسیدهای آلی سیب با سیستم HPLC: دستگاه از مدل شیمادزو برای اندازه‌گیری اسیدهای آلی با مشخصات زیر بهره‌گیری شد:

ستون جداکننده به ابعاد ۷/۹ در ۳۰۰ میلی‌متر از نوع SCR-101H مخصوص تجزیه اسیدهای آلی، محافظ ستون SCR(H) به ابعاد ۷/۹ در ۴۰ میلی‌متر، سیستم فاز متحرک ایزوکراتیک، فاز متحرک آب اسیدی شده با اسید سولفوریک با $\text{pH}=2/1$ و $N=0/009$ ، سرعت جریان فاز متحرک ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه، حساسیت سیستم برابر ۳، دمای ستون جداکننده 75°C ، سرعت چارت برابر ۵ میلی‌متر در دقیقه، شناساگر اسپکتروفتومتری در ناحیه مرئی ماورای بنفش مدل SPD-6AV در طول موج ۲۱۴ نانومتر مخصوص شناسایی اسیدهای آلی، سیستم تزریق Rheodyne

پس از استخراج اسیدهای آلی از هر نمونه توسط لوپ، تزریق با سرنگ همیلتون مخصوص HPLC، ۲۰ میکرولیتر با دو تکرار انجام شد و نتایج به‌دست آمده و اطلاعات مربوطه به سطح زیر منحنی‌های نمونه و زمان ماندگاری هر یک ثبت شد. نوع و غلظت اسیدهای آلی موجود در نمونه با توجه به منحنی‌های استاندارد و زمان ماندگاری هر اسید خالص، مشخص و محاسبه شد.

گردید. نتایج به‌دست آمده، اطلاعات مربوط به سطح زیر منحنی‌های نمونه و زمان ماندگاری (Retention time) هر یک ثبت شد. همچنین نوع و غلظت قندهای اصلی موجود در نمونه با توجه به منحنی‌های استاندارد و زمان ماندگاری هر قند خالص، مشخص و محاسبه گردید.

۴. تهیه منحنی‌های استاندارد قندهای اصلی: برای ارزیابی کیفی و کمی قندهای موجود در سیب، استاندارد سه قند ساکارز، گلوکز و فروکتوز در سه غلظت ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۲۵ (درصد وزنی - حجمی) از هر کدام از قندهای خالص تهیه شد. برای هر غلظتی از ساکارز سه تزریق به حجم ۴ میکرولیتر، از گلوکز سه تزریق به حجم ۲ میکرولیتر و از فروکتوز سه تزریق به حجم ۸ میکرولیتر انجام شد و از اطلاعات ثبت شده مربوط به آنها برای تهیه منحنی‌های استاندارد هر قند بهره‌گیری شد.

۵. برآورد درصد بازیافت (Recovery) قندهای اصلی: بدین منظور، به یک گرم پوره سیبی که میزان قندهای آن اندازه‌گیری شده بود، به ترتیب از قندهای خالص ساکارز، گلوکز و فروکتوز ۰/۰۳ گرم، ۰/۰۲ گرم و ۰/۰۶ گرم اضافه کرده، ۹/۸۹ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده به آن اضافه شد تا وزن کل ۱۱ گرم گردید. سپس تمام مراحل که برای آماده‌سازی و تهیه عصاره قندهای اصلی از سیب انجام گرفته بود برای این نمونه نیز انجام شد. در نهایت، از نمونه به‌دست آمده، سه تزریق یک میکرولیتری انجام گرفت و نتایج ثبت گردید (۱ و ۱۱).

ب. برای شناسایی کیفی و اندازه‌گیری کمی اسیدهای آلی موجود در سیب با دستگاه HPLC، مراحل زیر اعمال شد:

۱. آماده‌سازی فاز متحرک: آب دوبار تقطیر شده از صافی تحت خلاء با منافذ ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد، سپس به آن اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد تا pH آن به ۲/۱۵-۲/۰۵ برسد. آن‌گاه عمل هواگیری به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت (۱ و ۱۲).

۲. تهیه محلول بافر: برای رقیق کردن نمونه از محلول بافر استفاده شد. به‌منظور تهیه آن، آب دوبار تقطیر شده، محلول فاز متحرک و محلول EDTA، ۵ درصد به ترتیب به نسبت

کلیه منحنی‌های استاندارد قندهای اصلی و اسیدهای آلی غالب که در این پژوهش محاسبه شد، دارای ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficients) بیش از ۰/۹۹ بودند. شکل‌های ۱ و ۲ به ترتیب کروماتوگرام قندهای اصلی و اسیدهای آلی در نمونه‌های استاندارد و یا سیب زرد و قرمز لبنانی را نشان می‌دهند. در شکل ۱ زمان ماندگاری قندها طبق جدول ۱ از ۷/۸ تا ۱۱ دقیقه و در شکل ۲ زمان ماندگاری اسیدهای آلی طبق جدول ۲ از ۵/۷ تا ۱۲ دقیقه گزارش شده است.

الف) ارزیابی تغییرات ساکارز با HPLC: اثر مدت انبارمانی بر میزان ساکارز در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم با توجه به آزمون آماری سطوح دانکن طبق نتایج جدول ۵ نشان داد که سیب در زمان برداشت دارای حداکثر میزان ساکارز است و این مقدار با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل انورتاسیون آن کاهش یافته، و در ماه هشتم به حداقل می‌رسد.

اثر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان ساکارز در هر سه بسته‌بندی در طول ۸ ماه انبارمانی، طبق شکل ۳ نشان می‌دهد که میزان ساکارز در هر دو نوع رقم با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل انورتاسیون آن کاهش می‌یابد و میزان ساکارز سیب زرد لبنانی در هر ماه بیشتر از سیب قرمز لبنانی است.

اثر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان ساکارز در هر دو رقم، طبق شکل ۴ نشان می‌دهد که میزان ساکارز در هر سه نوع بسته‌بندی با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل انورتاسیون آن کاهش می‌یابد.

ب) ارزیابی تغییرات گلوکز با سیستم HPLC: اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان گلوکز در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم، با توجه به آزمون آماری سطوح دانکن، طبق نتایج جدول ۶ نشان داد که سیب در زمان برداشت، دارای حداکثر میزان گلوکز است و این مقدار با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل فعالیت تنفسی کاهش یافته و در ماه هشتم به حداقل خود می‌رسد.

اثر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان گلوکز در هر سه بسته‌بندی، طبق شکل ۵ نشان می‌دهد که میزان گلوکز

۵. تهیه منحنی‌های استاندارد اسیدهای آلی: غلظت‌های به‌کار برده شده برای تهیه منحنی استاندارد بسته به مقدار اسیدهای آلی موجود در نمونه متفاوت بود. به این دلیل غلظت‌های ۰/۲، ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۲۵ (درصد وزنی - حجمی) برای اسید ال‌مالیک و غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۲۵ و ۰/۰۰۱۲۵ (درصد وزنی - حجمی) برای اسید سیتریک تهیه شد. برای هر غلظتی از اسید ال‌مالیک، سه تزریق به حجم ۱/۵ میکرولیتر و از اسید سیتریک سه تزریق به حجم ۳ میکرولیتر انجام و اطلاعات مربوط به آنها ثبت گردید و برای تهیه نمودار استاندارد مربوط به هر اسید آلی بهره‌گیری شد.

۶. برآورد درصد بازیافت اسیدهای آلی: بدین منظور، به یک گرم پوره سیبی که میزان اسیدهای آلی آن اندازه‌گیری شده بود، به ترتیب از اسیدهای آلی خالص ال‌مالیک و سیتریک، ۰/۰۵ گرم و ۰/۰۳ گرم اضافه کرده، ۴ میلی‌لیتر بافر و ۱۴/۹۲ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده نیز به آن افزوده شد تا وزن کل ۲۰ گرم گردید. سپس تمام مراحل که برای آماده‌سازی و تهیه عصاره اسیدهای آلی از سیب انجام گرفته بود، برای این نمونه نیز انجام شد. در نهایت از نمونه به دست آمده سه تزریق ۴ میکرولیتری انجام گرفت و نتایج ثبت شد (۱ و ۱۱).

نتایج و بحث

در جدول ۱ و ۲ به ترتیب زمان‌های ماندگاری قندهای اصلی و اسیدهای آلی استاندارد برحسب دقیقه و در جدول ۳ و ۴ به ترتیب درصد بازیافت قندهای اصلی و اسیدهای آلی مورد آزمایش در نمونه سیب آورده شده است. در جدول ۱ زمان ماندگاری قندها از ۷/۸ تا ۱۱ دقیقه و در جدول ۲ زمان ماندگاری اسیدهای آلی استاندارد از ۵/۷ تا ۱۲ دقیقه برآورد و محاسبه گردید. میزان درصد بازیافت در نمونه‌ها برای قندها و اسیدهای آلی در تمام محاسبات ۹۸ تا ۱۰۰ درصد برآورد شد (جدول ۳ و ۴). نتایج به دست آمده در این جداول مورد تأیید و انطباق با گزارش سایر محققین بوده است (۱، ۱۱ و ۱۲).

جدول ۱. زمان ماندگاری قندهای اصلی استاندارد و نمونه‌های سیب بر حسب دقیقه، برآورد شده با دستگاه HPLC

زمان ماندگاری (دقیقه)	استاندارد ^۱	قندهای اصلی
محدوده در نمونه‌های سیب		
۷/۵۸۳-۷/۸۷۵	۷/۸۴۴	ساکارز
۹/۶۴۹-۹/۹۲۷	۹/۹۱۴	گلوکز
۱۰/۶۹۹-۱۰/۹۶۶	۱۰/۹۹۶	فروکتوز

۱. میانگین سه تزریق برای هر نمونه

جدول ۲. زمان ماندگاری اسیدهای آلی استاندارد و نمونه‌های سیب بر حسب دقیقه، برآورد شده با دستگاه HPLC

زمان ماندگاری (دقیقه)	استاندارد ^۱	اسیدهای آلی
محدوده در نمونه‌های سیب		
۵/۶۶۷-۵/۷۳۳	۵/۷۱۲	ال- ایزوسیتریک
۷/۵۲۵-۷/۶۱۱	۷/۵۵	سیتریک
۸/۹۱۰-۸/۹۹۰	۸/۹۱۷	ال- مالیک
۱۰/۶۶۷-۱۰/۷۸۳	۱۰/۷۰۵	شیکیمیک
۲۰/۰۰	۱۲/۱۴۲	د- مالیک

۱. میانگین سه تزریق برای هر نمونه

۲. اسید د- مالیک در سیب زرد و قرمز لبنانی وجود نداشت.

جدول ۳. درصد بازیافت قندهای اصلی در نمونه سیب برآورد شده با دستگاه HPLC

درصد بازیافت	میکروگرم قند کل یافت شده در یک گرم نمونه ^۱	میکروگرم قند اضافه شده به یک گرم نمونه	میکروگرم قند موجود در یک گرم نمونه ^۱	نوع قند
۹۹/۹	۴۶۹/۲	۳۰۰	۱۶۹/۸	ساکارز
۹۷/۷	۷۶۸/۶	۲۰۰	۵۸۷/۰	گلوکز
۹۹/۰	۱۲۱۲/۲	۶۰۰	۶۲۴/۶	فروکتوز

۱. میانگین سه تزریق هر نمونه

جدول ۴. درصد بازیافت اسیدهای آلی در نمونه سیب، برآورد شده با دستگاه HPLC

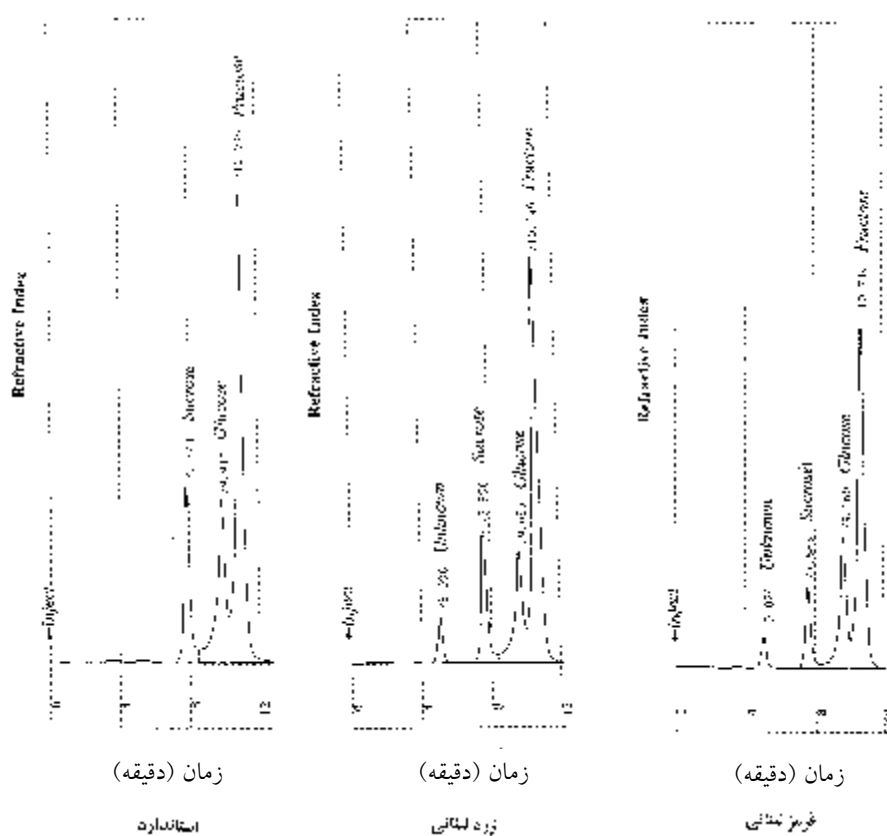
درصد بازیافت اسید آلی	میکروگرم اسید کل یافت شده در یک گرم نمونه ^۱	میکروگرم اسید اضافه شده به یک گرم نمونه	میکروگرم اسید موجود در یک گرم نمونه	نوع اسید آلی
۹۸/۱	۳۳۲/۵	۳۰۰	۳۸/۸	سیتریک
۹۹/۹	۲۲۲۳/۰	۵۰۰	۱۷۲۵/۲	ال- مالیک

۱. میانگین سه تزریق برای هر نمونه

جدول ۵. مقایسه و گروه‌بندی میانگین اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان ساکارز در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم

سطوح آزمون دانکن	میانگین ساکارز ^۱ (گرم در صد گرم ماده خشک)	زمان‌های انبارمانی (ماه)
A	۲۷/۳۰۰	۰
B	۲۲/۰۲۰	۱
BC	۱۹/۹۸۰	۲
C	۱۸/۱۴۰	۳
D	۱۴/۴۴۰	۴
D	۱۳/۸۶۰	۵
E	۹/۳۹۷	۶
E	۸/۵۶۲	۷
E	۷/۱۹۶	۸

۱. اعداد میانگین ۴ تکرار می‌باشد...

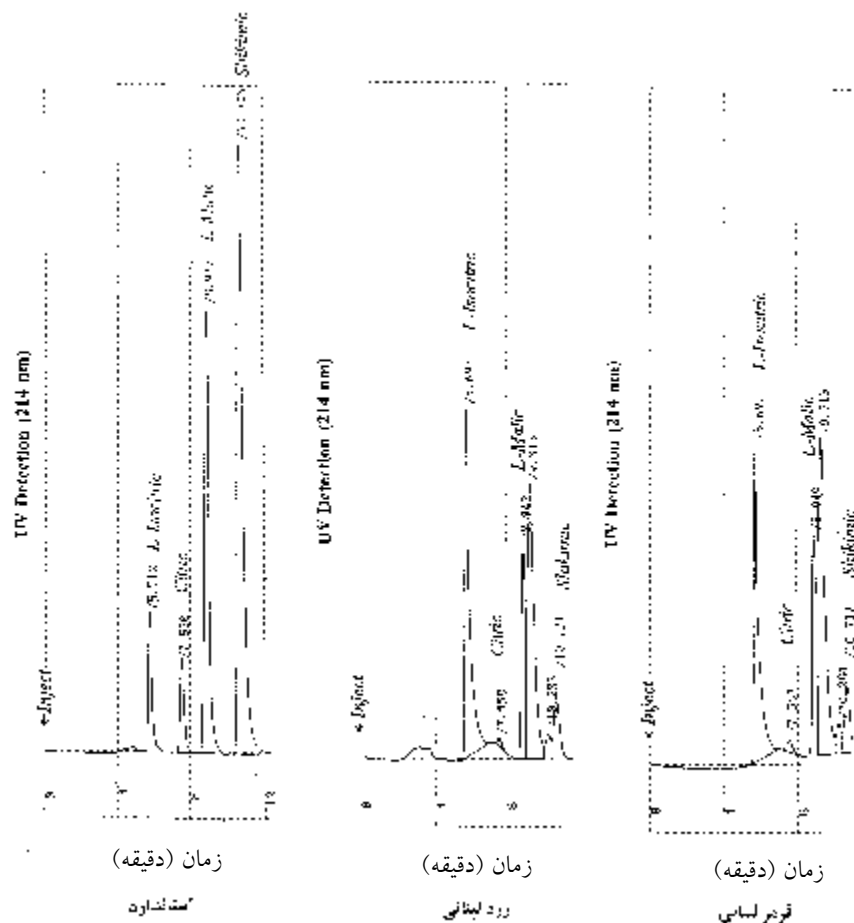


شکل ۱. کروماتوگرام قندهای ساکارز (sucrose)، گلوکز، (glucose) و فروکتوز (fructose) سیب زرد و قرمز لبنانی تجزیه و محاسبه شده با دستگاه HPLC

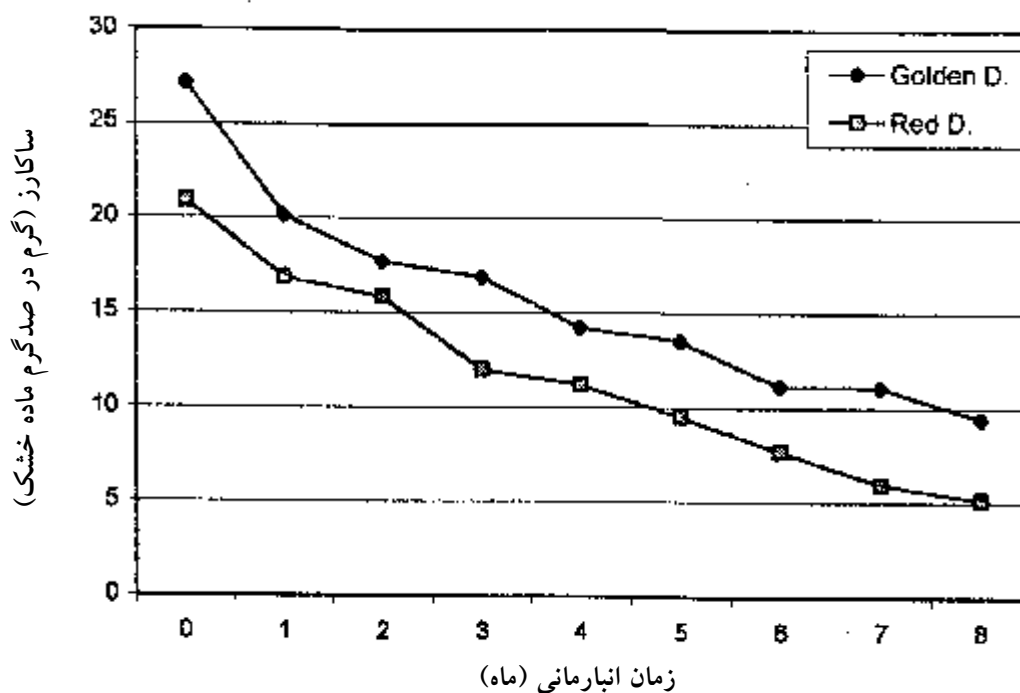
جدول ۶. مقایسه و گروه‌بندی میانگین اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان گلوکز در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم

سطوح آزمون دانکن	میانگین گلوکز ^۱ (گرم در صد گرم ماده خشک)	زمان‌های انبارمانی (ماه)
A	۱۱/۲۹۰	۰
A	۱۱/۰۸۰	۱
AB	۱۰/۶۵۰	۲
B	۱۰/۱۰۰	۳
C	۹/۱۰۳	۴
D	۸/۳۹۱	۵
E	۶/۵۹۱	۶
F	۵/۷۳۳	۷
F	۵/۳۴۱	۸

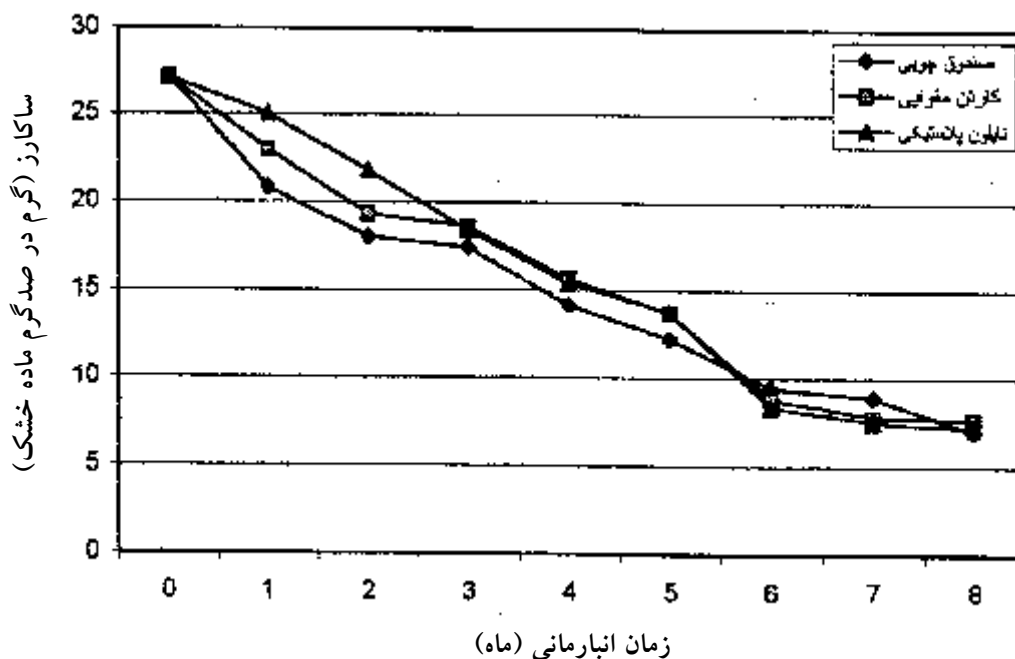
۱. اعداد میانگین ۴ تکرار می‌باشند.



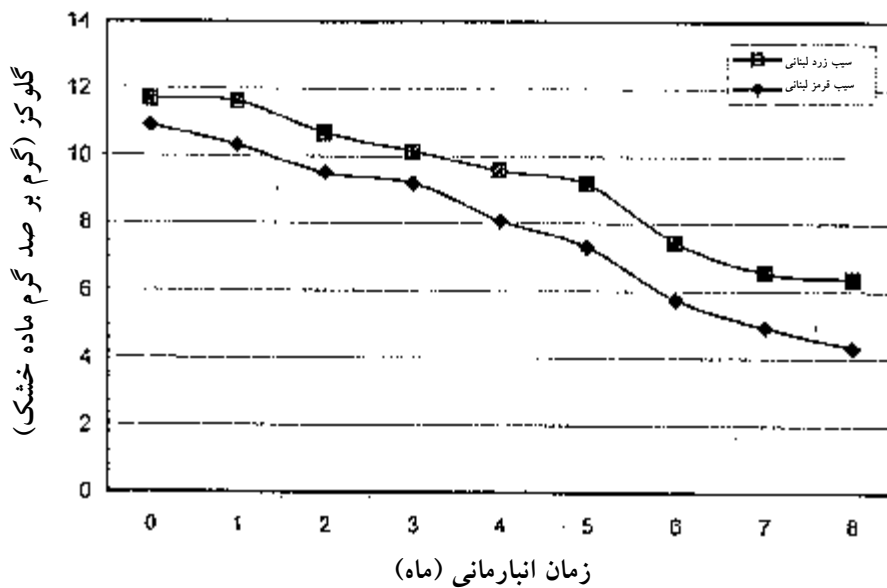
شکل ۲. کروماتوگرام اسیدهای آلی ال-ایزوسیتریک (L-isocitric)، سیتریک (citric)، ال-مالیک (L-malic)، و شیکیمیک (shikimic) در نمونه‌های استاندارد، سیب زرد و قرمز لبنانی تجزیه و محاسبه شده با دستگاه HPLC



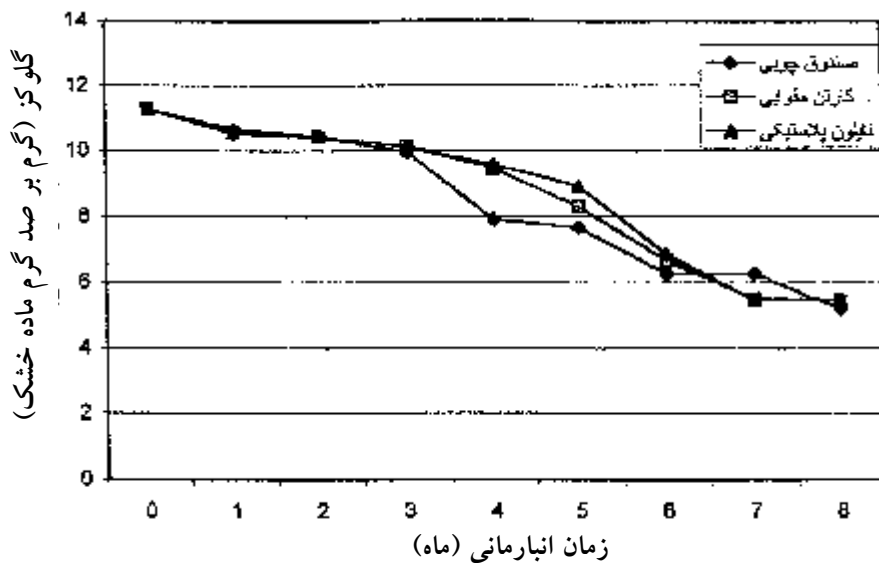
شکل ۳. تأثیر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان ساکارز در هر سه بسته‌بندی



شکل ۴. تأثیر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان ساکارز در هر دو رقم



شکل ۵. تأثیر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان گلوکز در هر سه بسته‌بندی



شکل ۶. تأثیر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان گلوکز در هر دو رقم

تنفسی کاهش می‌یابد.

ج) ارزیابی تغییرات فروکتوز با سیستم HPLC: اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان فروکتوز در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم با توجه به آزمون آماری با سطوح دانکن، طبق نتایج جدول ۷ نشان داد که سیب در زمان برداشت دارای حداکثر میزان فروکتوز است و این مقدار با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل

در هر دو رقم با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل فعالیت

تنفسی کاهش می‌یابد، و میزان گلوکز سیب قرمز لبنانی در هر ماه بیشتر از زرد لبنانی است.

اثر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان گلوکز در هر دو رقم، طبق شکل ۶ نشان می‌دهد که میزان گلوکز در هر سه نوع بسته‌بندی با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل فعالیت

جدول ۷. مقایسه و گروه‌بندی میانگین اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان فروکتوز در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم

زمان‌های انبارمانی (ماه)	میانگین گلوکز ^۱ (گرم در صد گرم ماده خشک)	سطوح آزمون دانکن
۰	۵۲/۶۴۰	A
۱	۴۷/۸۱۰	B
۲	۴۲/۱۷۰	C
۳	۴۰/۵۴۰	CD
۴	۳۹/۳۵۰	CD
۵	۳۷/۸۸۰	D
۶	۳۳/۶۲۰	E
۷	۳۰/۵۷۰	EF
۸	۲۸/۶۵۰	F

۱. اعداد میانگین ۴ تکرار می‌باشند.

زمان برداشت در سیب قرمز لبنانی به حداکثر خود رسید و پس از آن در هر دو رقم تا ماه هشتم کاهش یافت و میزان اسیدسیتریک سیب زرد لبنانی در هر ماه بیشتر از سیب قرمز لبنانی بوده است.

اثر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان اسیدسیتریک در هر دو رقم، طبق شکل ۱۰ نشان می‌دهد که میزان اسیدسیتریک در هر سه نوع بسته‌بندی پس از گذشت یک ماه از زمان برداشت افزایش یافته و سپس تا ماه هشتم از میزان آن کاسته شده است.

هـ) ارزیابی تغییرات اسید ال-مالیک با سیستم HPLC: اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان اسید ال-مالیک در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم با توجه به آزمون آماری با سطوح دانکن، طبق نتایج جدول ۹ نشان داد که سیب در زمان برداشت دارای حداکثر میزان اسید ال-مالیک است و این مقدار با پیشرفت دوره انبارمانی کاهش یافته و در ماه هشتم به حداقل خود می‌رسد.

اثر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان اسید ال-مالیک در هر سه نوع بسته‌بندی، طبق شکل ۱۱ نشان می‌دهد که میزان اسید ال-مالیک در هر دو نوع رقم با پیشرفت دوره انبارمانی کاهش یافته و میزان اسید ال-مالیک سیب زرد لبنانی در هر ماه بیشتر از سیب قرمز لبنانی است.

فعالیت تنفسی و تبدیل به سوربیتول کاهش یافته و در ماه هشتم به حداقل خود می‌رسد.

اثر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان فروکتوز در هر سه بسته‌بندی، طبق شکل ۷ نشان می‌دهد که میزان فروکتوز در هر دو رقم با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل فعالیت تنفسی و تبدیل به سوربیتول کاهش می‌یابد.

اثر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان فروکتوز در هر دو رقم، طبق شکل ۸ نشان می‌دهد که میزان فروکتوز در هر سه بسته‌بندی با پیشرفت دوره انبارمانی به دلیل فعالیت تنفسی و تبدیل به سوربیتول کاهش می‌یابد.

د) ارزیابی تغییرات اسید سیتریک با سیستم HPLC: اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان اسید سیتریک در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم با توجه به آزمون آماری با سطوح دانکن، طبق نتایج جدول ۸ نشان داد که سیب، پس از گذشت یک ماه از زمان برداشت دارای حداکثر میزان اسیدسیتریک و در ماه هشتم دارای حداقل میزان آن است.

اثر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان اسیدسیتریک در هر سه بسته‌بندی، طبق شکل ۹ نشان می‌دهد که سیب زرد لبنانی در ماه دوم انبارمانی حداکثر میزان اسیدسیتریک را به خود اختصاص داد و میزان اسیدسیتریک پس از گذشت یک ماه از

جدول ۸. مقایسه و گروه‌بندی میانگین اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان اسید سیتریک در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم

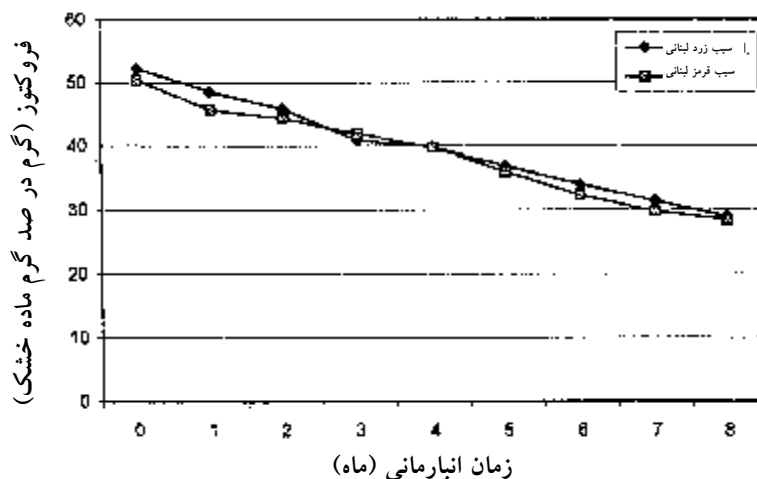
زمان‌های انبارمانی (ماه)	میانگین گلوکز ^۱ (گرم در صد گرم ماده خشک)	سطوح آزمون دانکن
۰	۵۹/۷۸	C
۱	۷۰/۵۵	A
۲	۶۵/۳۱	B
۳	۴۳/۰۷	D
۴	۳۳/۶۹	E
۵	۲۷/۱۷	F
۶	۲۳/۳۱	G
۷	۱۸/۸۳	H
۸	۱۳/۲۷	I

۱. اعداد میانگین ۴ تکرار می‌باشند.

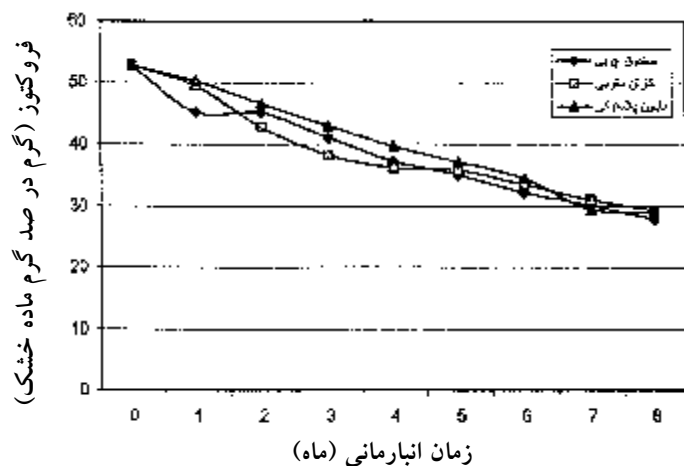
جدول ۹. مقایسه و گروه‌بندی میانگین اثر مدت زمان انبارمانی بر میزان اسید ال-مالیک در هر سه بسته‌بندی و هر دو رقم

زمان‌های انبارمانی (ماه)	میانگین اسید ال-مالیک ^۱ (میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک)	سطوح آزمون دانکن
۰	۱۴۷۸/۰	A
۱	۱۰۹۳/۰	B
۲	۹۵۵/۶	C
۳	۸۷۱/۷	D
۴	۷۸۳/۰	E
۵	۶۵۲/۳	F
۶	۵۶۲/۵	G
۷	۴۹۲/۶	H
۸	۳۶۸/۱	I

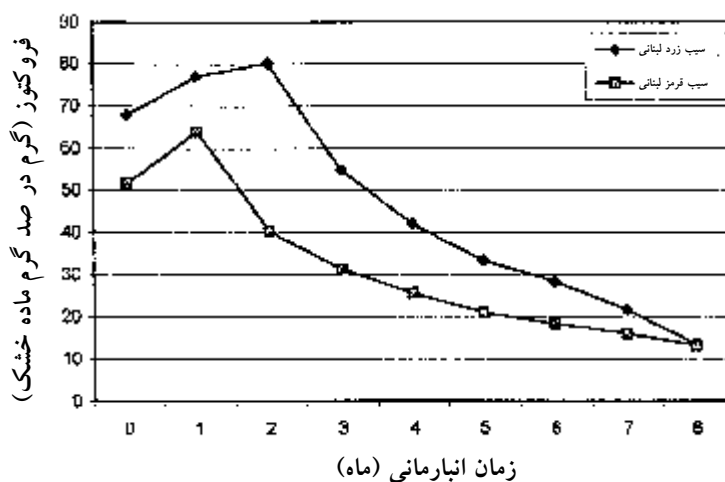
۱. اعداد میانگین ۴ تکرار می‌باشند.



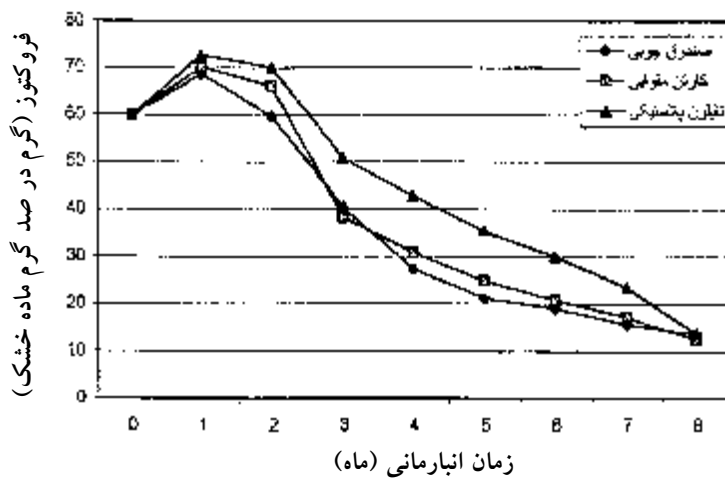
شکل ۷. تأثیر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان فروکتوز در هر سه بسته‌بندی



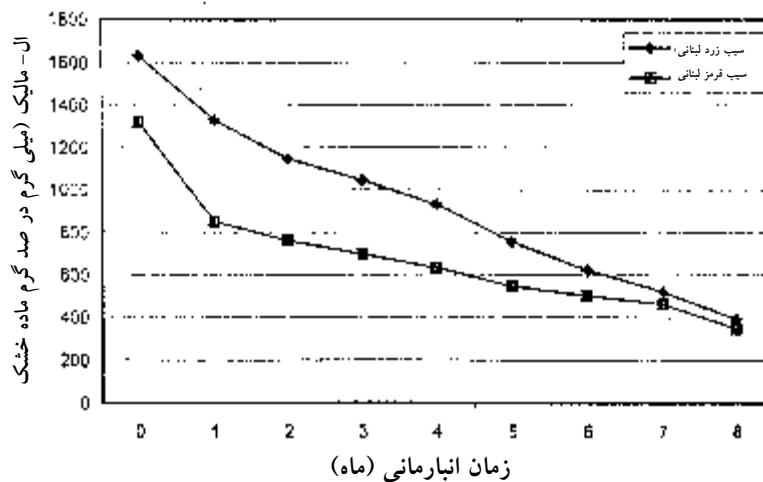
شکل ۸. تأثیر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان فروکتوز در هر دو رقم سیب



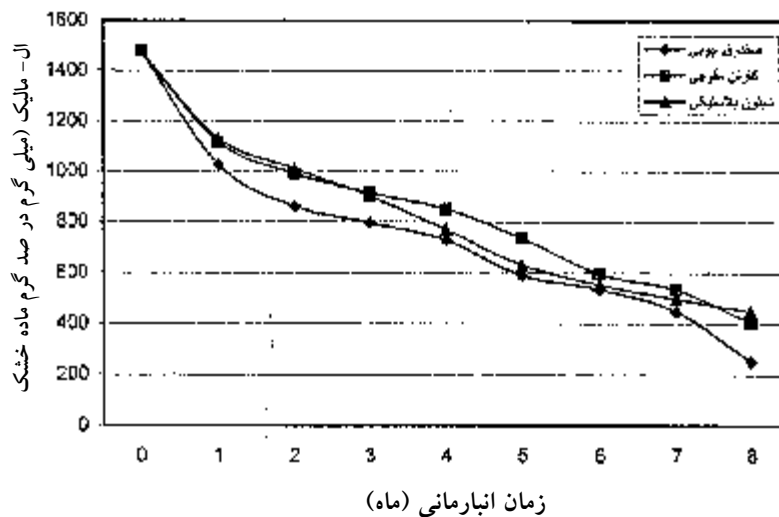
شکل ۹. تأثیر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان اسید سیتریک در هر سه بسته‌بندی



شکل ۱۰. تأثیر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان اسید سیتریک در هر دو رقم سیب



شکل ۱۱. تأثیر مدت زمان انبارمانی و نوع رقم بر میزان اسید-ال مالیک در هر سه نوع بسته‌بندی



شکل ۱۲. تأثیر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر میزان اسید ال-مالیک در هر دو رقم سب

همکاری بی‌دریغ خود در این بررسی سپاسگزاری می‌نمایند. در ضمن، از آقای مهندس بهرامی، کارشناس آزمایشگاه علوم و صنایع غذایی که همواره در طول مدت پژوهش در تجزیه نمونه‌ها کمک کرده‌اند کمال تشکر را دارند. هم‌چنین از خانم زهره عطایی به خاطر تایپ متن مقاله تشکر و قدردانی می‌شود.

اثر نوع بسته‌بندی و مدت زمان انبارمانی بر اسید ال-مالیک در هر دو رقم سب، طبق شکل ۱۲ نشان می‌دهد که میزان اسید ال-مالیک در هر سه نوع بسته‌بندی با پیشرفت دوره انبارمانی کاهش می‌یابد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از مدیریت سردخانه بهار اصفهان به خاطر

منابع مورد استفاده

۱. دخانی، ش. و ل. ربیعی. ۱۳۸۰. بررسی میزان تغییرات قندها و اسیدهای آلی ارقام سیب زمینی (مورن، مارفونا، آگریا) استان اصفهان طی انبارمانی، با روش کروماتوگرافی با کارآیی بالا. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۵(۱): ۱۶۸-۱۷۳.
۲. راحمی، م. ۱۳۷۳. فیزیولوژی پس از برداشت. انتشارات دانشگاه شیراز.
۳. صانعی شریعت پناهی، م. ۱۳۵۸. مورفولوژی و فیزیولوژی میوه. انتشارات دانشگاه تهران.
۴. فرجی هارمی، ر. ۱۳۶۷. علوم و تکنولوژی میوه‌ها و سبزی‌ها. مرکز نشر دانشگاهی، تهران.
۵. کاشانی‌نژاد، م. ۱۳۷۶. بررسی اثر نفوذ تحت فشار کلرور کلسیم بر حفظ خصوصیات کیفی و ارگانولپتیک ارقام مهم سیب در سردخانه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۶. میلانی، ج. و ا. هاشمی دزفولی. ۱۳۷۶. فیزیولوژی پس از برداشت. نشر آموزش کشاورزی، کرج.
7. Ackermann, J., M. Fischer and R. Amado. 1992. Changes in sugars, acids, and amino acids during ripening and storage of apples (*CV. Glockenapfel*). J. Agric. Food Chem. 40(7): 1131-1134.
8. Anzueto, C. R. and S. S. H. Rizvi, 1985. Individual packaging of apples for shelf life extension. J. Food Sci. 50: 897-900.
9. Beaudry, R., P. Schwallier and M., Lennington. 1993. Apple maturity prediction: an extension tool to aid fruit storage decisions. Hort. Technol. 3(2): 223-239.
10. Chu, C. L. 1988. Starch-Iodine test for determining maturity and harvest dates of Empire, Idared and Spartan apples. Hort. Res Institute., Ministry Agric. Food, Ontario, Order No: 88-90.
11. Dokhani, Sh., B. Oraikul, M. Palcic and D. Hadziyev. 1988. HPLC analysis of sugars in raw and processed potatoes. Iran Agric. Res. 7(1): 23-36.
12. Dokhani, Sh. 1998. HPLC analysis of organic acids in recombined Iranian fermented white cheese, Iran Agric. Res. 17(2): 125-138.
13. Elkins, E. R. and J. R. Heuser. 1994. Detection of adulteration in apple juice by L-malic/total malic acid ratio: collaboration study, J. AOAC International. 77(2): 411-415.
14. Fuleki, T., E. Playo and R. B., Palabay. 1994. Sugar composition of varietal juices produced from fresh and stored apples. J. Agric. Food Chem. 42(6): 1266-1275.
15. Mahajan, B. V. C. 1994. Biochemical and enzymatic changes in apple during cold storage. J. Food Sci. Technol. 31(2): 142-144.
16. Nollet, Leo M. L. 1992. Food Analysis By HPLC. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, P. 260.
17. Wills, R., Mc. B. Glasson, D. Graham and D. Joyce. 1998. Post Harvest an Introduction To The Physiology and Handling of Fruit, Vegetables, and Ornamentals. CAB International Publisher, South Australia.