

Dr Miodrag Pantelić
Institut za voćarstvo, Čačak

KRETANJE SLOBODNE JABUČNE KISELINE U PLODU ŠLJIVE POŽEGAČE*

U V O D

U ranijim našim radovima (Pantelić, 1965, 1968, Džamić i saradnici 1966) izneli smo kretanje ukupnih organskih kiselina (izračunatih u jabučnoj) u plodu šljive požegače, kao i prisustvo određenih organskih kiselina.

Guichard (Rees 1958) smatra da postoji velika razlika između sadržaja titrivljih (ukupnih) i slobodne jabučne kiseline u zelenim plodovima šljive »Reine Claude hative«, i da se ova razlika u daljem toku razvoja ploda jako smanjuje.

Cilj našega rada je da pokaže razliku u sadržaju titrivljih i slobodne jabučne kiseline u plodovima požegače, služeći se fermentnom metodom pri određivanju sadržaja slobodne jabučne kiseline.

MATERIJAL I METODIKA

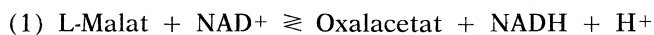
Materijal — U ovom radu koristili smo sledeći materijal

- alkoholni ekstrakt ploda požegače
- glicin
- hidrazinhidrat, oko 24%
- nicotinamid-adenin-dinucleotid, NAD, i
- malat-dehidrogenase (jabučna dehidrogenaza, MDH).

Za merenje ekstrinkcije (E) koristili smo Zeiss-ov spektrofotometar.

Metodika rada — Metodika rada bazira na principu hemijske reakcije reakcije jabučne kiseline sa NAD.

Princip reakcije — L-Malat (L-jabučna kiselina) pomoću Nicotinamid-adenin dinucleotida (NAD) u prisustvu Malat dehidrogenase (MDH) oksiduje se do Oxalacetata.



Ravnoteža ove reakcije leži na strani Malat i NAD. Za vreme reakcije vezana količina redukovanog Nicotinamid-adenin dinucleotida (NADH) je ekvivalentna količini L-Malat-a. NADH je merljiv na spektrofotometru.

Zahvaljujem se prof. dr F. Drawertu direktoru Hemijsko-tehnološkog instituta u Weihenstephan-u (München), koji mi je omogućio izvođenje ovih ispitivanja, kao i njegovom saradniku gospodinu Hagen-u dipl. inž. na korisnim savetima.

Pripremanje rastvora

Rastvor 1 — 11,4 g glicina, 25,0 ml hidrazinhydrata razblažiti s 275 ml bidest. vode. pH vrednost ovog rastvora (pufera) mora biti 9,0. Ovaj rastvor je pri oko + 4° C šest meseci postojan. Rastvor 2 — 300 mg NAD rastvoriti u 10 ml bidest. vode. Pri oko + 4° C jednu godinu je postojan. Rastvor 3 — 1 ml Malat-dehydrogenase (10 mg/ml). Godinu dana postojan pri oko + 4° C.

Pomoću ovih rastvora može da se uradi oko 50 analiza.

Ove fermente Hemijsko-tehn. inst. u Weihestephan-u primenio je za određivanje u alkoholnom ekstraktu ploda.

Pripremanje uzoraka — Uzorke smo pripremili po metodici (Pantelić 1967). Analize plodova vršene su po fazama njihovog razvića, u intervalu juni-oktobar, a kiseline su određivane u jestivom delu ploda.

Ukoliko je alkoholni ekstrakt ploda mutan, treba ga profiltrirati. Sadržaj L-jabučne kiseline u probi ne sme biti veći od 0,25 g/l. Ukoliko je taj sadržaj veći, napraviti razblaženje prema (tab. 1). Alkoholne ekstrakte ploda razblažiti u odnosu 1 + 99. Merenje sadržaja L-jabučne kiseline vršiti na talasnoj dužini 340 m/μ, u staklenoj kivetu od 1 cm debljine, na temperaturi od 25° C.

Tabela 1. Razblaženje uzoraka

Tab. 1 Delayage des échantillons

Sadržaj L-jabučne kis. g/l Contenu L-acide mlrique g/l	Razblaženje sa bidest H ₂ O Delayage avec l'eau bidistillée	Faktor razblaženja F Facteur de délayage F
< 0,25 g/l	—	1
0,25 — 2,5 g	1 + 9	10
2,5 — 25 g	1 + 99	100
> 25	1 + 999	1000

U jednu kivetu staviti 3,00 ml rastvora 1 (pufer 9,0), zatim 0,20 ml probe i 0,20 ml (NAD). U drugu kivetu, (kontrola) paralelno staviti 3,2 ml rastvora 1 (pufer — 9,0) i 0,20 ml (NAD). Nakon mešanja sadržaja, meriti ekstinkciju (E_1) kako prve, tako isto i druge kivete. Zatim dodati u obe kivete po 0,02 ml rastvora 3 (MDH), promešati i ostaviti da stoji 60 minuta na 25° C, a potom meriti ekstinkciju (E_2) $E_2 - E_1 = DE_p$ (probe); $E_2 - E_1 = DE_k$ (kontrola)

$$DE = DE_p - DE_k; DE \times 0,368 \times F = \text{gL-jabučne kis./L.}$$

DE = razlika ekstinkcija

F = faktor razblaženja

0,368 = faktor za preračunavanje gL-jabučne kis./l

REZULTATI I DISKUSIJA

U plodovima šljive požegače za vreme njihovog obrazovanja i sazrevanja pored jabučne kiseline, nalazi se hina, hlorogenska kafa (kafeinska) kiselina (Pantelić-rukopis). Sem ovih kiselina konstatovano je i prisustvo nekih drugih organskih kiselina koje nisu identifikovane (sl. 1).

Sadržaj ukupnih organskih kiselina u toku razvitka ploda požegače raste do 2. VII, a zatim opada do kraja perioda ispitivanja. Ova konstatacija odnosi se i na količinu slobodne jabučne (sl. 1 i tab. 2). Najveći sadržaj ove kiseline u plodu požegače konstatovan je u plodovima kod berbe 2. VII (1,47%), a najmanji u plodovima kod berbe 2. X (0,45%).

Tabela 2. — Promene sadržaja ukupnih organskih i slobodne jabučne kiseline u plodovima požegače (period 15. VI — 2. X).

Tab. 2. — Variation du contenu des acides organiques et de l'acide malique dans les fruits de Požegače (période de 15. VI à 2. X)

Red. br. Numero	Datum berbe Date de cueillette	Procenat u odnosu na svežu materiju Pourcentage par rapport à la matière fraîche			
		Ukupno kiseline Acidité totale	Slobodna jab. kis. Acide malique libre	Uk. kis./ slob. jab. Acidite totale/ Acidite malique libre	Ostale kiseline Autres acides
1	15. VI	2,67	0,83	3,22	1,84
2	2. VII	2,74	1,47	1,86	1,27
3	14. VII	2,12	0,80	2,66	1,33
4	31. VII	1,99	0,70	2,85	1,29
5	14. VIII	1,46	0,68	2,15	0,78
6	3. IX	0,96	0,50	1,92	0,46
7	21. IX	0,66	0,48	1,38	0,18
8	2. X	0,54	0,46	1,17	0,08

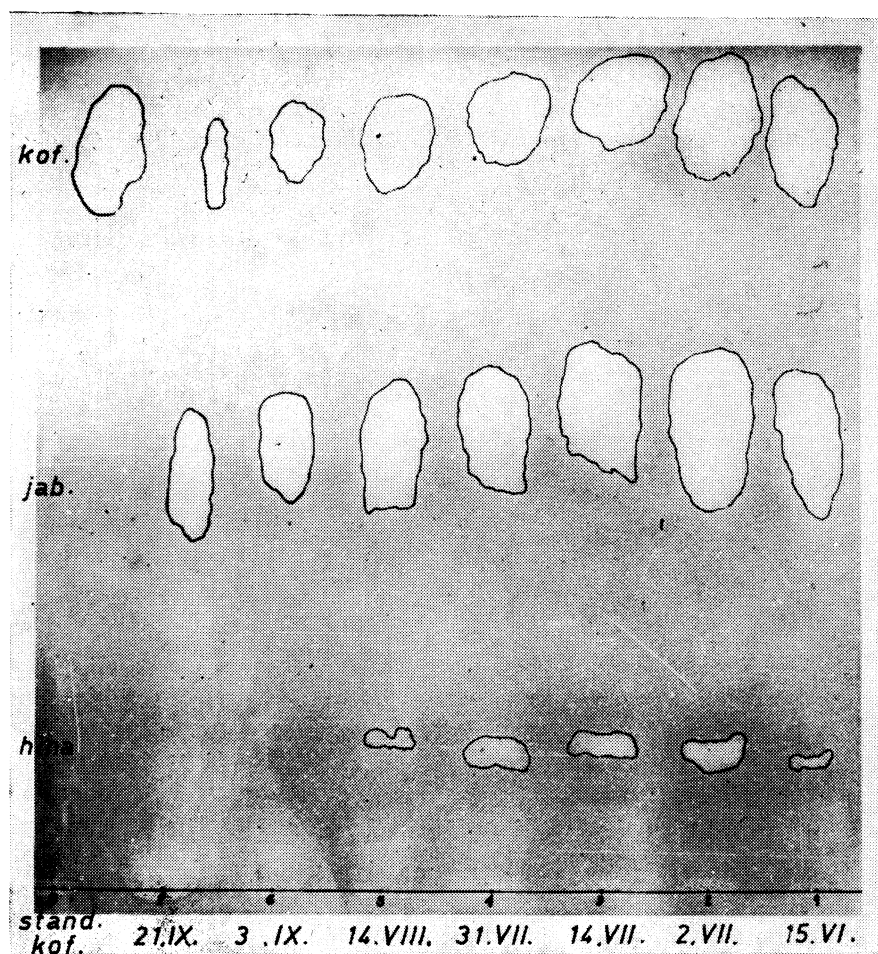
Iz tabele 2 i sl. 1 možemo zaključiti da se količina slobodne jabučne kiseline u plodu požegače brzo smanjuje u periodu od 2. VII — 14. VII, relativno sporo do 14. VIII, a zatim dolazi period ubrzanog opadanja ovog sadržaja do 3. septembra. Na kraju ovaj sadržaj blago opada do kraja vegetacionog perioda.

U ranijem našem radu (Pantelić 1965. Džamić i saradnici (1967) najveći porast indeksa dinamike fruktoze i saharoze, bio je u periodu od 14. avgusta do 3. septembra, što znači da je naglo opadanje slobodne jabučne kiseline u vezi s povećanjem sadržaja gore navedenih šećera.

Najveće smanjenje odnosa ukupne kiseline / slobodnu jabučnu kiselinu, konstatovano je u periodu od 15. VI — 2. VII zatim ovaj odnos raste do 31. VII, pa ponovo opada do kraja vegetacionog perioda. Granične vrednosti ovog odnosa kretale su se u intervalu 3,22 (15. VI) do 1,17 (2. X), što znači

da je 3,22 puta bilo više ostalih kiselina u plodu požegače 15. VI), a 1,17 puta više kod poslednje berbe tj. na kraju vegetacionog perioda u plodu požegače, nalazi se uglavnom slobodna jabučna kiselina.

Razlika u sadržaju između ostalih kiselina i slobodne jabučne kiseline u plodu požegače bila je najveća 15. VI, a najmanja 2. X. Sadržaj ostalih kiselina imali su vrednosti 1,84% (15. VI) i 0,08 (2. X). Količina ostalih kiselina bila je gotovo konstantna u periodu od 2. VII do 31. VII, a zatim se naglo smanjivala do kraja ispitivanja. U završnom periodu dozrevanja ploda požegače



SLIKA 1. — Promene sadržaja hina, jabučne i kafeinske kiseline u plodu požegače u vegetativnom periodu
 PH. 1. — Variation de l'acide quinique de l'acide malique et de l'acide caféique dans les fruits de Požegača pendant la période végétative

ostale kiseline (kafa, hina hlorogenska i dr.) se brže gube disanjem i preobražajem u druge supstance, dok se jabučna kiselina gubi sporije.

Iz tabele 2 vidimo, da ako se uzmu maksimalni i minimalni sadržaji slobodne jabučne kiseline (1,47 i 0,46), da se taj sadržaj u toku vegetacije smanjuje za 3,2 puta, dok je pak smanjenje ovog sadržaja kod ostalih kiselina za 23 puta veće (1,84 i 0,08).

Iz hromatograma (sl. 1) vidi se, da se sadržaji hina i kafeinske kiseline neprekidno smanjuju od 2. VII, i da kod poslednjih berbi imamo skoro samo jabučnu kiselinu, tj. procenat ostalih kiselina u plodu požegače iznosi 0,18% (21. IX) i 0,08% (2. X) tab. 2). Ovo se slaže sa konstatacijom Guichard-a (1958) da u zelenim plodovima postoji razlika u sadržaju titrirljivih kiselina i jabučne kiseline, dok se ta razlika jako smanjuje u zrelih plodovima. Ovo smanjenje sadržaja ostalih kiselina u plodu šljive požegače, u toku vegetacionog perioda, je predmet naših daljih ispitivanja kiselinskog sistema ploda.

ZAKLJUČAK

Analizom pomoću fermentata prikazano je kretanje sadržaja slobodne jabučne kiseline u plodu požegače (period 15. VI — 2. X), na osnovu koje se mogu izvući sledeći kratki zaključci:

1. Količina slobodne jabučne kiseline u plodu požegače neprekidno se smanjuje od početka jula do kraja vegetacionog perioda.
2. Najveće smanjenje odnosa ukupne organske kiseline i slobodne jabučne kiseline u plodu zapaženo je u početnom periodu ispitivanja.
3. Razlika u sadržaju između slobodne jabučne i ostalih kiselina u plodu, bila je najveća na početku, a najmanja na kraju ispitivanja.
4. Slobodna jabučna kiselina gubi se sporije u odnosu na ostale kiseline u završenom periodu dozrevanja ploda požegače.

LE MOUVEMENT DE L'ACIDE MALIQUE LIBRE DANS LE FRUIT DU PRUNIER POŽEGAČA

par

Dr M. Pantelić

Institut de l'Arbariculture Fruitière, Čačak

On a montré dans ce travail par analyse au moyen des ferments le mouvement de la teneur en acide malique libre dans le fruit de Požegača (an cours de période 15. VI — 2. X).

Nous avons adapté les ferments pour la détermination de la teneur en acide malique libre dans l'extraction alcoolique du fruit de Požegača.

On a constaté la perpétuelle réduction de l'acide malique dans le fruit de Požegača à partir du commencement de juillet jusqu'à la fin de la végétation.

La plus grande réduction du rapport entre l'acide organique totale et l'acide malique libre a été observée dans le commencement de la période de l'étude.

On a remarqué la plus grande différence dans la teneur entre l'acide malique libre et les autres acides au commencement et la plus petite différence est constatée à la fin de l'étude.

On a constaté que l'acide malique se perd plus lentement par rapport aux autres acides dans la période finale de maturation du fruit de Požegača.

L I T E R A T U R A

1. Džamić, M., Pantelić, Popović, Ž.: Prilog ispitivanju kiselinskog sistema u plodu šljive požegače. Zbornik radova. Poljoprivrednog fakulteta br. 430, 1966. Beograd.
2. Džamić, M., Popović, Ž., Pantelić, M.: Kretanje sadržaja glukoze, fruktoze i saharoze u plodu šljive požegače. Zbornik radova Poljoprivrednog fakulteta br. 434, 1967. Beograd.
3. Okamoto, T., Harata, I.: Metabolism of malic acid, I. agrichem. Soc. Japan, 305—4, 1355—60, 1961; I. Sci. Food Agric, 13111—154. 1962.
4. Pantelić, M.: Uticaj podloge na dinamiku ugljenih hidrata i organskih kiselina u plodu šljive požegače na parapodzolu i opodzoljenoj smonici (disertacija) 1965. Beograd.
5. Pantelić, M.: Šećeri i organske kiseline u plodovima nekih voćaka. Agrohemijska No 1—2 1968. Beograd.
6. Pantelić, M.: Kretanje sadržaja slobodne kafeinske, hina i hlorogenske kiseline u plodu požegače (rukopis).
7. Röss, D. I.: The chemical constituents of Victoria plums: Changes during growth on the tree. I. Sci. Food. Agric., 1958. 9:404—10, bibl. 15.
8. Test-Fibel C. F. Beohringer Soehne GmbH. Mannheim Biochemische Abteilung 1969.