

METODA SPEKTROFOTOMETRYCZNEGO OPISU BARWY SKÓRKI OWOCU JABŁONI CHARAKTERYSTYCZNEJ DLA ODMIANY¹

A. Kuczyński

Instytut Agrofizyki PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27

e-mail: akucyski@demeter.ipan.lublin.pl

Streszczenie: Ustalono regułę wyboru, charakterystycznego dla odmiany jabłoni, widma współczynnika odbicia skórki owocu. Pozwala to wykonać obiektywny opis pomologiczny barwy owoców przy pomocy parametrów trójkromatycznych L*, H* i C*. Właściwy wybór widma wymaga spełnienia warunków: wyrównane stężenie chlorofilu w skórce na obwodzie owocu i maksymalne stężenie antocyjanów na rumieńcu jabłka. Informacje o stężeniu barwników w skórce dojrzałego jabłka otrzymuje się z pasm absorpcji w widmie dyfuzyjnego współczynnika odbicia skórki.

Słowa kluczowe: jabłko, odmiany, barwniki, widmo odbicia, skórka

WSTĘP

Znajomość fizjologii powstawania barwy i znaczenia czynników zewnętrznych, pozwala dzisiaj już nie tylko genetykom i hodowcom, lecz również producentom „malować” jabłka w zaskakujący sposób [8]. Do dyspozycji są grupy barwników: chlorofile, karotenoidy, antocyjany, a także psujące barwę produkty ich rozpadu. Jest też szereg nowości (związki aktywne fizjologicznie, woskowanie) jak również technologie najstarsze, najbezpieczniejsze - agrotechniczne i chłodnicze. Z licznych warunków, jakie można wytworzyć dla uzyskania zmienności barwy jabłka wynika potrzeba ich oceny.

¹ Pracę wykonano: w ramach projektu badawczego 5P06C02118 finansowanego przez Komitet Badań Naukowych w latach 2000/2001.

Nadzieję na opracowanie obiektywnej metody kontroli daje możliwość uzyskania informacji o stężeniu barwników, zwłaszcza antocyjanowych. [8].

Najstarsze metody badań barwy skórki jabłka to metoda ekstrakcji i analiza spektrofotometryczna ekstraktu [10]. W literaturze niewiele jest wyników uzyskanych metodą analityczną nie wymagającą ekstrakcji - spektrofotometrią barwników w świetle widzialnym -VIS, rozproszonym, odbitym od skórki [6].

Celem pracy było ustalenie warunków i metodyki badań skórki jablek o wysokiej jakości spożywczej - przystosowanie analizy pigmentów metodą dyfuzyjnej spektrofotometrii odbiciowej do opisu barwy skórki charakterystycznej dla odmiany.

Badania barwy skórki jabłka metodami kolorymetrycznymi i spektrofotometrycznymi mają bardzo długą tradycję [4, 5]. Jednak prac poświęconych porównaniom odmian jest mało, a ich główne cele to ocena zmienności barwy lub ograniczenie zmienności i ustalenie jednorodnych próbek np. do analiz chemicznych. Dlatego w tej pracy zwrócono uwagę na wybór: materiału do oceny odmianowej, aparatury i metody opracowania wyników.

Opis pomologiczny barwy skórki jabłka jest bardzo złożony. „Skórka dojrzałego owocu ma barwę charakterystyczną dla odmiany. Rozróżnia się zabarwienie zasadnicze i rumieniec. Niewielka liczba odmian ma wyłącznie zabarwienie zasadnicze – zielone, zielonożółte lub żółte; zazwyczaj występuje duży i intensywny rumieniec. Rumieniec może być bardzo intensywny i pokrywać całą powierzchnię owocu lub być nikły i niewielki. Rumieniec może być jednolity, marmurkowy, smużkowany, i paskowany o zabarwieniu pomarańczowym, ceglastym, czerwonym, purpurowym, karminowym i ciemno- wiśniowym.” [7]. Nie opisano dotąd aparatury, która umożliwi pomiar istotnych elementów barwy takiego opisu pomologicznego.

Wrażenia barwne są wynikiem równoczesnego działania na oko bardzo wielu bodźców. Jedynie wrażenie jasności barwy można powiązać funkcją z parametrem fizycznym natężenie światła [3]. Bodźce powodujące wrażenie nasycenia barwy, wrażenie odcienia barwy stanowią zbiory rozmyte i przynależność bodźców do zbiorów nie da się jednoznacznie określić (odpowiedzi typu tak i nie). Do przetwarzania takich informacji są obecnie stosowane modele oparte o sieci neuronowe – symulujące funkcje mózgu i nie są to bodźce z metod tróchromatycznych.

Istotą tradycyjnej kolorymetrii obiektywnej jest dopasowanie charakterystyki wyników, uzyskiwanych metodami fizycznymi, do ułomności widzenia oka ludzkiego [3]. Korzystający z: kolorymetru, technik poligrafii barwnej, wideo

i cyfrowej analizy obrazu, posługują się bezpośrednim, trójkromatycznym pomiarem lub opisem barwy. Dla każdego jabłka z pomiarów kolorymetrycznych barwy otrzymuje się, co najmniej trzy wyniki. Jasność jest miarą procentową (0% – 100%), a odcień miarą kątową (0° – 360°). Statystyka zaleca specjalne sposoby uśredniania takich miar i porównywania [9]. Często autorom w pracach łatwiej było pozostać przy zmienności parametrów trójkromatycznych niż wyznaczyć lub porównać wartości otrzymane dla odmiany.

Etap dojrzewania jabłka (zerwanego w optymalnym stadium do przechowywania) oznacza ostateczny rozkład chlorofilu, pełne ujawnianie się karotenoidów i antocyjanów, a u większości odmian wystąpi pod skórka, dodatkowa synteza antocyjanów kształtująca formę rumieńca [8]. Gdy celem pracy jest poznanie barwy odmianowej u owoców o najwyższej jakości spożywczej to potrzebna jest również obiektywna metoda wyboru zadowalająco dojrzałego materialu.

MATERIAL I METODA

Material do badań odmianowych

Owoce pochodziły z doświadczenia agrotechnicznego Zakładu Doświadczalnego w Albigowej koło Rzeszowa. Zapewniono reprezentatywny dla odmian zbiór owoców i warunki chłodniczego przechowywania. Jabłka przechowywano w dużych ilościach w chłodni, przez pełen okres trwałości przechowalniczej owoców. Próbkę pochodziły, z dwóch terminów opróżnienia chłodni (odpowiednich dla uzyskania dojrzałości spożywczej przez odmianę), z których wybrano po pięć charakterystycznych, dojrzałych spożywczo owoców.

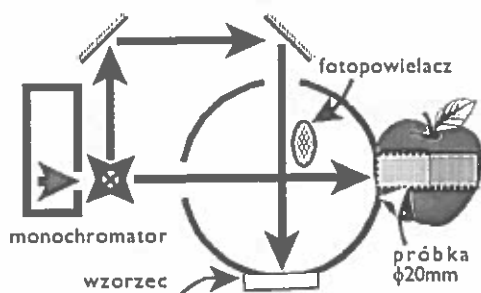
Badano jabłka odmian: *Idared* – IDR, *Jonared* - JOG, *Bankroft* - BKF, *Boiken*– BOI, *Melrose* – MEL, *Elstar* – ELS, *Šampion* – SAM, *Gloster* - GST, *Starkrimson* – STN, *Spartan* - SPT, *Golden Delicious* – GDL

Przed pomiarem każde jabłko dzielono na połowy – połówka z barwą zasadniczą i połówka przeciwna, której nadano umowną nazwę „strona z rumieńcem”. Korkoborem wycinano próbkę do badań - walec o średnicy 20mm ze skórka i z gniazdem nasiennym.

Metoda pomiaru barwy

Wyniki z kolorymetru cechują się dużym rozrzutem. Spowodowane to jest np. złym cechowaniem kolorymetru dla barw o silnym nasyceniu i niskiej jasności, a także błędami metodycznymi związanymi z używaniem świeżego materiału roślinnego.

Badania wykonano spektrofotometrem dwuwiązkowym z przystawką odbiciową - typ oświetlenia $0^\circ/d$ (Rys. 1), cechowaną na sprasowanym siarczanie baru dla współczynnika odbicia 100%, w zakresie od 380nm do 720nm, co 1nm. Rejestrowano wartości dyfuzyjnego współczynnika odbicia światła - R% od skórki na próbce wyciętej po stronie barwy zasadniczej i po przeciwnej stronie, której nadano umowną nazwę „strona z rumieńcem”.



Rys. 1. Schemat układu optycznego spektrofotometru do pomiarów w świetle rozproszonym, odbitym od skórki jabłka.

Fig.1. Optical schematic of spectrophotometer for measurements of diffuse reflectance of apple peel.

Sposób opracowania wyników

Wyniki analizowano obliczając widma różnic - $\Delta R\%$. Porównano zmienność widm współczynnika odbicia - R% badanych odmian i widm dla stron jabłka. Jako widmo charakterystyczne zasadniczej barwy dla odmiany, wybrano spośród widm barwy zasadniczej owocu widmo reprezentujące medianę pomiarów w paśmie od 500nm do 630nm. Natomiast spośród widm barwy rumieńca, jako charakterystyczne to widmo, dla którego otrzymano największą różnicę $\Delta R\%$ obliczoną od charakterystycznego widma barwy zasadniczej (w paśmie od 500nm do 630nm).

Widma różnic $\Delta R\%$ dla odmian (widmo barwy rumieńca minus widmo barwy zasadniczej) bliskie zera w paśmie absorpcji chlorofilu 685nm [4] uznano za charakterystyczne dla właściwie wybarwionego jabłka i potwierdzające poprawny wybór widma barwy zasadniczej. Widma takie wskazywały na jednakowy poziom chlorofilu z obu stron jabłka i to wynika z metod ilościowych spektrofotometrii odbiciowej.

Z dwóch widm charakterystycznych dla odmiany obliczono składowe trójkromatyczne barwy CIE dla: skanowania co 10nm, składowych oświetlenia typu C i kąta widzenia obserwatora normalnego 2°.

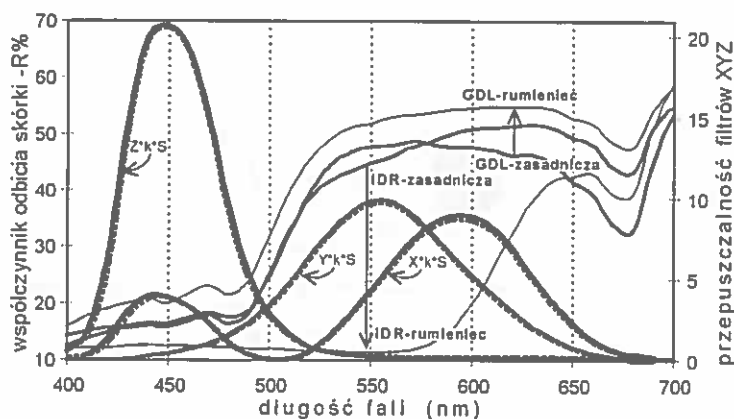
Aby ułatwić grupowanie barw leżących blisko siebie w przestrzeni współrzędnych walcowych L*, C*, H* zastosowano analizę skupień [9] z miarą odległości obiektów - ΔE^* wg wzoru:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2},$$

gdzie: L* - jasność barwy, H* - odcień barwy, C* - nasycenie barwy.

WYNIKI I DYSKUSJA

Z pomiarów barwy zasadniczej i rumieńca otrzymano dla każdej odmiany dwie serie widm. Na wykresach widać, że pasma pigmentów umiejscowionych w tkance jabłka nie są tak wąskie jak pigmentów zwykle oznaczanych w ekstraktach (Rys. 2).

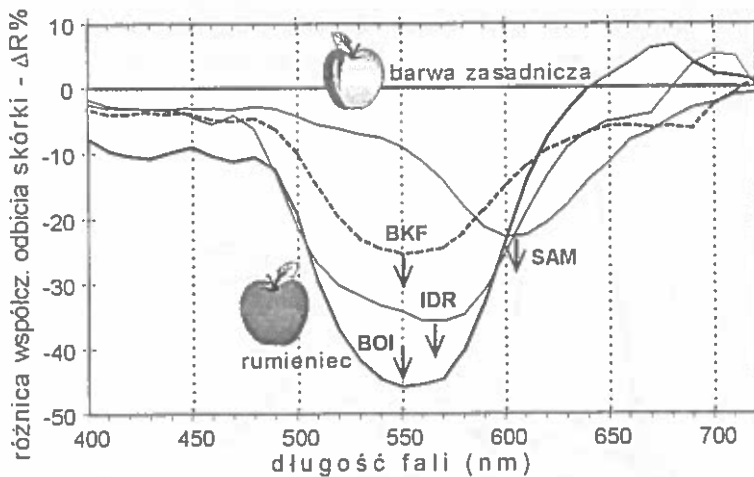


Rys. 2. Widma współczynnika odbicia skórki jabłka odmiany: *Golden Delicious* i *Idared* na tle widma przepuszczania filtrów kolorymetrycznych XkS, YkS, ZkS (funkcje obserwatora normalnego dla iluminatu C i kąta widzenia 2° wg CIE).

Fig. 2. Reflectance spectra of *Golden Delicious* (GDL) and *Idared* (IDR) apple peel against the background of XkS, YkS, ZkS tristimulus filter transmittance spectra (standard observer curves based on CIE X Y Z system).

Pomimo starannego wyboru owoców i punktu pomiarowego, w obu seriach wystąpiła zmienność: zróżnicowanie współczynnika odbicia w pasmach absorpcji chlorofilu (obserwowano zmiany widma w zakresie od 650 do 700nm), antocyjanów (pasmo od 500nm do 650nm) i karotenoidów (zakres od 430nm do 500nm).

W metodyce pomiarów podano sposób odszukania widma charakterystycznego dla odmiany. Posłużono się pasmem od 500nm do 630nm, gdyż stwierdzono, że w tym paśmie, u wszystkich zbadanych odmian z rumieńcem, występują największe różnice $\Delta R\%$ (Rys. 3). Wywołane jest to zróżnicowanym stężeniem antocyjanów. Zaobserwowano także istotne przesunięcie minimum w widmie $\Delta R\%$ - najwyraźniejsze u odmiany *Sampion* (SAM) i *Idared* (IDR). Może to świadczyć o innej formie barwnej - kopigmentacji antocyjanów pod skórką. Cecha ta jest dostrzegalna tylko przy dużej rozdzielczości spektrofotometru.



Rys. 3. Różnica współczynników odbicia skórki z rumieńcem i skórki z barwą zasadniczą - $\Delta R\%$ jabłka odmiany: *Boiken* - BOI, *Idared* - IDR, *Bancroft* - BKF i *Sampion* - SAM.

Fig. 3. Differential reflectance ($\Delta R\%$) of apple peel with red blush (sunlit peel) and with standard colour (shaded peel) for *Boiken* - BOI, *Idared* - IDR, *Bancroft* - BKF and *Sampion* - SAM varieties.

W paśmie absorpcji chlorofilu i karotenoidów widmo $\Delta R\%$ wskazuje na zbliżone stężenia tych barwników od strony barwy zasadniczej i od rumieńca (Rys.3). Wynika z tego, że w zbadanych, naturalnie dojrzałych owocach chlorofile występują w podobnej ilości w skórce na całym obwodzie u jablek

z czerwonym rumieńcem. Natomiast niektóre owoce odmiany *Golden Delicious* (GDL) wykazują znaczne różnice $\Delta R\%$ w paśmie chlorofilu.

Zaobserwowano przesunięcie całego widma $\Delta R\%$ w dół (nie przekracza 10%). To zwiększone rozpraszanie w tkance od strony rumieńca wywołane jest różnicą wymiarów komórek i przestrzeni powietrznych po obu stronach jabłka (Rys. 3).

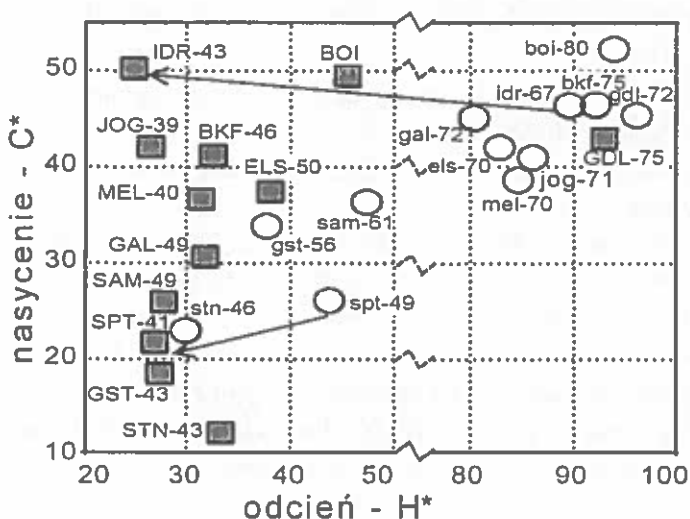
Zmienność widm, zgodnie z dyfuzyjną spektrofotometrią odbiciową, wyjaśniono zmianami stężeń barwników w warstwie skórki. Nie znaleziono jednak możliwości powiązania tych wyników z opisem pomologicznym opartym na wrażeniach wzrokowych.

W kolorymetrii spektrofotometrycznej dokonuje się przekształceń widm na składowe trójchromatyczne przy pomocy funkcji XkS , YkS i ZkS pokazanych na rysunku 3. Filtry kolorymetryczne - odpowiedniki funkcji przeskalowania, są szerokopasmowe i uniemożliwiają wykonanie prostym kolorymetrem oceny stężeń barwników. Charakterystyka składowej trójchromatycznej Y , odpowiada najlepiej ocenie zmienności w paśmie absorpcji antocyjanów, a składowa Z zmienności w paśmie karotenoidów. Rola składowej X jest złożona w ocenie stężeń. Tylko przy znacznej różnicy barw takiej jak np. strona z rumieńcem i strona z barwą zasadniczą, zmiany składowej Y można zinterpretować tak jak zmiany stężenia antocyjanów. Gdy całe widmo odbicia przesuwają się wzdłuż osi $R\%$, w zakresie światła widzialnego to zmiany występują najsilniej w odczytach jasności barwy (składowa Y lub L^*) i wtedy żadna ze składowych trójchromatycznych nie może skorygować tej zmienności rozpraszania od powierzchni. Z powodu różnej wrażliwości kolorymetru na rozpraszanie od powierzchni nie można jego wyników odnosić do pomiarów wykonanych w innej pracy.

Parametry kolorymetryczne CIE - barwy podstawowej i barwy rumieńca, wyliczono posługując się dwoma widmami charakterystycznymi dla odmiany. W ten sposób pozbyto się zmienności w parametrach trójchromatycznych i kłopotu - podjęcia decyzji o ich uśrednieniu dla scharakteryzowania odmiany.

Przy pomocy współrzędnych trójchromatycznych w układzie walcowym CIELCH (jasność barwy L^* , nasycenie barwy C^* i odcień barwy - H^*) uzyskano najlepszą charakterystykę grup barwnych i łatwą do porównania z opisem pomologicznym. Dla zbadanych odmian, zakres zmian współrzędnych barwy wynosił (Rys. 4): odcień - H^* od 20° do 100° , nasycenie - C^* od 10 do 55 i jasność - L^* od 38% do 75%. Odcień - H^* pozwala na interpretację pomologiczną barwy, która dla jabłek zmienia się od: barwy purpurowo-czerwonej - $H^*=0^\circ$, poprzez czystą czerwoną $19^\circ - 32^\circ$, czystą żółtą $88^\circ - 103^\circ$, a niekiedy może

zbliżyć się do barwy czysto zielonej $182^\circ - 189^\circ$. Nasylenie – C^* to odczucie udziału czystej barwy w jej mieszaninie z barwą achromatyczną białą i czarną. Wartości C^* dla jabłka równe 10 odpowiadają barwie słabszej, a przy 55 najmocniejszej, najczystszej.



Rys. 4. Charakterystyczne dla odmiany jabłoni, współrzędne trójchromatyczne barwy skórki dojrzałego owocu. Oznaczenia: ■ - strona z rumieńcem, ○ - strona barwy zasadniczej, wartość L^* umieszczono przy oznaczeniach odmian.

Fig. 4. Ripe fruit peel tristimulus colour space coordinates characteristic of specific apple varieties. Markings: ■ - red blush side, ○ - standard colour side, L^* value given a variety names.

Obserwując współrzędne barwy skórki jabłka w obszarze: odcień H^* w zakresie od 25° do 40° , nasylenie C^* od 15 do 50 i jasność L^* od 38% do 50% trzeba zaliczyć odmianę do grupy o czerwonej barwie. Natomiast znajdując współrzędne w obszarze: odcień H^* w zakresie od 75° do 100° , nasylenie C^* od 38 do 55 i jasność L^* od 50% do 75%, należy zaliczyć odmianę do charakteryzowanej pomologicznie jedynie barwą zasadniczą (np. GDL i BOI).

Biorąc wszystkie wyniki do analizy stwierdzono, że parametry kolorymetryczne korelują dodatnio tzn. gdy maleje jasność skórki - L^* : maleje odcień - H^* (odcień przesuwa się w kierunku czerwieni - współczynnik korelacji $r=0,96$, istotny z $p<0,05$), maleje nasylenie C^* (nasylenie przesuwa się w kierunku barwy słabszej, mniej czystszej, współczynnik korelacji $r=0,70$ istotny z $p<0,05$).

Osobno opracowano wyniki dla barwy zasadniczej i osobno dla rumieńca. Dla barwy zasadniczej skórki wyróżniono cztery skupienia odmianowe: I - JOG,

MEL, ELS, GAL; II – BKF, GDL, IDR; III – STN, SPT; IV – SAM, GST i oddzielnie pozostała odmiana BOI. Dla barwy rumieńca wyróżniono również cztery skupienia: I – MEL, JOG; II – ELS, BKF; III - GAL, SAM; IV – STN, SPT, GST, a pozostały w dalekim związku z nimi i pomiędzy sobą odmiany: GDL, BOI i IDR.

W analizie skupień parametry barwy rumieńca wprowadziły bardziej szczegółowy podział niż parametry barwy zasadniczej. Jednak nie spotyka się pomologicznego opisu odmian wykonanego oddzielnie dla rumieńca i oddzielnie dla barwy zasadniczej.

Analizując oba określone ugrupowania jednocześnie – barwę zasadniczą i rumieniec, łatwo wyróżniono grupę: IDR, JOG, MEL, ELS, GAL i BKF. Jest to grupa skupiającą odmiany, których jabłko ma parametry barwy zasadniczej różniące się od parametrów barwy rumieńca (długa strzałka na rysunku 4). W pomologii odmiany te są określone jako posiadające wyraźny rumieniec.

W układzie współrzędnych LCH powstaje też druga grupa odmian: STN, SPT, GDL i GST. Grupa ta ma zbliżone wartości parametrów dla barwy zasadniczej jabłka i barwy rumieńca, a w ocenie pomologicznej może otrzymać nazwę grupa wyrównanej barwy skórki (krótka strzałka na rysunku 4).

WNIOSKI

- Widma dyfuzyjnego współczynnika odbicia skórki pozwalają ocenić stan dojrzałości fizjologicznej jabłka na podstawie stężenia barwników: chlorofilu, karotenoidów i antocyjanów.
- Wyrównane stężenie chlorofilu w skórce na obwodzie jabłka i maksymalne stężenie antocyjanów na rumieńcu jabłka są podstawą wyboru widma współczynnika odbicia charakterystycznego dla odmiany.
- Obliczone na podstawie widma dla barwy zasadniczej i barwy rumieńca skórki współrzędne trójchromatyczne CIELCH, zwłaszcza odcień - H*, charakteryzują odmiany zgodnie z opisem pomologicznym.
- Rumieniec skórki, występujący u grupy odmian podnosi precyzję oceny jakości dojrzenia jabłek gdyż ułatwia ocenę stężenia i identyfikację formy barwników antocyjanowych metodą spektrofotometryczną.
- W metodzie spektrofotometrii odbiciowej można wykorzystać wyniki pomiarów obu stron jabłka – barwy zasadniczej i rumieńca dla ustalenia standardu jakości korzystającego ze stężenia barwników.
- Wpływ na wyniki pomiarów różnej struktury fizycznej powierzchni odbijającej - skórki u odmian, jest nieznaczny gdy stosuje się układ optyczny z oświetleniem rozproszonym.

PIŚMIENNICTWO

1. Francis F.J., Clydesdale F. M.: Food Colorimetry: Theory and Applications. AVI Publishing Co., Westport, CT. 1975.
2. Gorski P.M., Creasy L.L.: Color development in Golden Delicious apples. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102, 73-75, 1977.
3. Hunter R.S., Harold R.W.: The measurement of Appearance. John Wiley & Sons, 1987
4. Lott R.V.: A spectral analysis of color Changes in flesh and skin of maturing Grimes Golden and Stayman Winesap apples. Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 44, 157-171, 1944.
5. Mohsenin N.N.: Electromagnetic Radiation Properties of Foods and Agricultural Products. Gordon and Breach Sci. Publ. Inc., New York, 1984
6. Reid W.S.: Optical detection of apple skin, bruise, flesh, stem and calyx. J. Agric. Engng. Res. 21, 291-296, 1976.
7. Rejman A.: Pomologia. P.W.Rolnicze i Leśne, Warszawa, 1976.
8. Saure M.C.: External Control of Anthocyanin Formation in Apple. Scientia Horticulturac. 42, 181-218, 1990.
9. Statistica PL dla Windows (Tom III): Statystyki II. StatSoft Polska Sp.z. o.o. Polish Ed. 1997.
10. Wrolstad R.E.: Color and Pigment Analyses in Fruit Products. Station Bul. Oregon Univ. 624, 1-17, 1976.

SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR THE DESCRIPTION OF PEEL
COLOUR RELATED TO APPLE VARIETY

A. Kuczyński

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27

e-mail: akucyski@demeter.ipan.lublin.pl

Summary: A rule was established for the selection of peel reflectance spectrum characteristic for a given apple variety. This permits an objective pomological description of fruit colour with the help of the L^* , H^* and C^* trichromatic parameters. The proper selection of spectrum for a variety requires that the following conditions be met: uniform concentration of chlorophyll in the peel around the fruit circumference and maximum concentration of anthocyanins in the red blush. Information on the pigment concentration is obtained from absorption bands in ripe fruit peel as reflectance spectrum.

Keywords: apple, cultivars, pigment, reflectance, peel