

## ÉTUDES SUR LA CORRELATION ENTRE L'ACTIVITE DE LA POLYPHENOLOXYDASE ET LA TENEUR PHENOLIQUE TOTALE DE CERTAINS CEPAGES AUTOCHTONES DE RAISIN DE TABLE

### STUDII PRIVIND CORELAȚIA DINTRE ACTIVITATEA POLIFENOLOXIDAZEI ȘI CONȚINUTUL FENOLIC TOTAL AL UNOR SOIURI AUTOHTONE DE STRUGURI DE MASĂ

**FILIMON V.R.<sup>1</sup>\*, FILIMON Roxana<sup>1</sup>, PATRAȘ Antoanela<sup>2</sup>, ROTARU Liliana<sup>2</sup>**

\*Auteur correspondant e-mail: razvan\_f80@yahoo.com

**Résumé.** La modification indésirable de la couleur, de la saveur et de la texture du raisin est associée aux enzyme polyphénoloxydase (PPO). Il est donc important de contrôler leur effet et d'établir leurs caractéristiques associées aux fruits. Raisins (peau, pulpe et pepines) de dix cépages roumains pour raisins de table (Splendid, Cetățuia, Milcov, Transilvania, Someșan, Napoca, Gelu, Coarnă neagră selecționată, Purpuriu et Radames), ont été analysés pour déterminer l'activité de la PPO, la teneur en composés phénoliques totaux (flavonoïdes et non-flavonoïdes) et en anthocyanes. La teneur totale en composés phénoliques était plus élevée dans les pepins, allant de 4,36 à 5,35 g équivalent acide gallique/100 g poids frais, dont les flavonoïdes se situaient entre 65 et 88%. L'activité PPO plus élevée a été déterminée dans l'extrait de raisin de la cépage Radames (7,91 U/g/min), tandis que la teneur en anthocyanes totales était plus importante dans les raisins de la cépage Napoca (343,86 mg équivalent cyanidine-3-glucoside/100 g poids frais). Des corrélations négatives plus fortes ont été trouvées entre l'activité PPO et le contenu en anthocyanes ( $r = -0,9180$ ), ainsi qu'entre l'activité PPO et le contenu phénolique total des peaux de raisin ( $r = -0,9266$ ) et de la pulpe de raisin ( $r = -0,9397$ ), suggérant l'effet négative de l'enzyme sur cette classe de composés.

**Mots-clés:** anthocyanes, composés phénoliques, polyphénoloxydase, raisins de table, *Vitis vinifera* L.

**Rezumat.** Modificările nedorite ale culorii, aromei și texturii strugurilor sunt direct asociate cu activitatea enzimei polifenoloxidaza (PFO). Prin urmare, este deosebit de important ca efectele acesteia asupra fructelor să fie bine cunoscute și monitorizate. Astfel, a fost determinată activitatea PFO, concentrația de polifenoli totali (flavonoizi și non-flavonoizi) și antociani din bacele (pielețe, pulpă și semințe) provenind de la zece soiuri autohtone *Vitis vinifera* L. pentru struguri de masă (Splendid, Cetățuia, Milcov, Transilvania, Someșan, Napoca, Gelu, Coarnă neagră selecționată, Purpuriu și Radames). Cel mai ridicat conținut fenolic total a fost determinat în semințe, între 4,36 și 5,35 g echivalent acid galic/100 g masă proaspătă (m.p.), procentul de flavonoizi fiind între 65 și

<sup>1</sup>Station de Recherche et Développement pour Viticulture et Vinification Iasi, Roumanie

<sup>2</sup>Université des Sciences Agronomiques et de Médecine Vétérinaire Iasi, Roumanie

88%. Soiul *Radames* a prezentat cea mai intensă activitate a PFO (7,91 U/g/min), în timp ce conținutul în antociani a fost cel mai ridicat în pielea strugurilor soiului *Napoca* (343,86 mg echivalent cianidină-3-glucozid/100 g m.p.). Au fost înregistrate corelații negative între activitatea PFO și conținutul de antociani ( $r = -0,9180$ ), precum și între activitatea PFO și conținutul polifenolic total din pielea ( $r = -0,9266$ ) și pulpă ( $r = -0,9397$ ), evidențiind efectul distructiv al enzimei asupra acestei clase de compuși.

**Cuvinte cheie:** antociani, compuși fenolici, polifenoloxidaza, struguri de masă, *Vitis vinifera* L.

## INTRODUCTION

La polyphénoloxydase (PPO), aussi connue sous le nom d'o-diphénoloxydase (EC 1.10.3.1), joue un rôle important dans la respiration, en catalysant l'oxydation des polyphénols et de leurs dérivés, afin de produire les quinones correspondantes (Rocha et De Morais, 2005). Appartient à la classe des oxydoréductases, PPO est responsable du changement indésirable de couleur (assombrissement enzymatique), de la saveur et de la texture des raisins. Dans les baies endommagées est possible de développer une saveur désagréable et une perte de couleur, qui vont affecter la qualité du raisins (De Pieri *et al.*, 2003).

Les polyphénols sont métabolites secondaires de plantes généralement impliqués dans la défense contre les rayons ultraviolets ou l'agression d'agents pathogènes chez les plantes (Pandey et Rizvi, 2009). Dans les aliments, les polyphénols peuvent contribuer à l'amertume, astringence, couleur, saveur, stabilité olfactive et à la résistance à l'oxydation (Vermerris et Nicholson, 2006). Des études épidémiologiques récentes ont fortement suggéré que la consommation de polyphénols offrait une certaine protection contre le développement de cancers, de maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Cory *et al.*, 2018).

Souvent, corrélations négatives ont été trouvées entre l'activité de PPO et la teneur totale en composés phénoliques de raisins (Orak, 2007), il est donc important de contrôler l'effet de l'enzyme et d'établir ses caractéristiques.

## MATÉRIAUX ET MÉTHODES

Les recherches ont été effectuées sur des baies mûres de dix cépages de raisin de table *Vitis vinifera* L. (Gelu, Milcov, Cetățuia, Napoca, Someșan, Splendid, Transilvania, Coarnă neagră selecționată, Purpuriu et Radames), cultivés dans la collection ampélographique de l'Université des Sciences Agronomiques et de Médecine Vétérinaire de Iasi, Roumanie. Les baies congelées ont été séparées dans peau (pellicule), pulpe et pépins (5 g chacune), broyées séparément et extraites avec 100 ml de méthanol avec HCl 0,1% (v/v), pendant une nuit à la température ambiante.

Pour l'estimation des polyphénols totaux, on a utilisé la réactif Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965). Les résultats ont été exprimés en grammes d'équivalent acide gallique (EAG) par 100 g de poids frais (p.f.). Les flavonoïdes ont été précipités par formaldéhyde à un pH <0,8 (Tibiri *et al.*, 2010). La détermination des anthocyanes monomères a été effectuée par la méthode du pH différentiel et exprimée en équivalents de cyanidine-3-glucozide (EC) (Lee *et al.*, 2005).

La polyphénoloxydase a été dosée par extraction avec un tampon phosphate (pH 7,4) (Ermakov, 1987). Une unité enzymatique (U) représente la quantité d'enzyme qui catalyse la conversion d'une micromole de catéchol en une minute, à 25 °C.

## RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

L'humidité, la matière sèche totale, les minéraux, le sucre et l'acidité des variétés roumaines à maturité technologique sont présentés dans le tableau 1. Le rapport sucre/acide variait de 23,17 (Purpuriu) à 42,50 (Radames), supérieur à la valeur minimale (20:1), requise par l'OIV (2008) pour les raisins de table mûrs.

Tableau 1

Caractéristiques chimiques des raisins

Cultivar	Humidité (%)	Minéraux (%)	Sucres (g/L)	Acidité totale (g/L acide tartrique)
Purpuriu	83,48 ± 1,02	0,29 ± 0,09	183,05 ± 3,49	7,90 ± 0,10
Splendid	83,67 ± 0,87	0,37 ± 0,12	182,67 ± 3,03	5,87 ± 0,42
Radames	79,19 ± 2,01	0,50 ± 0,08	235,85 ± 9,88	5,55 ± 0,41
Cetățuia	80,91 ± 1,45	0,54 ± 0,14	180,41 ± 11,03	5,20 ± 0,06
Coarnă neagră select.	83,91 ± 0,98	0,38 ± 0,11	201,30 ± 10,82	6,70 ± 0,46
Transilvania	82,66 ± 1,11	0,39 ± 0,09	187,65 ± 9,28	6,50 ± 0,44
Someșan	84,84 ± 2,01	0,39 ± 0,07	175,08 ± 5,83	5,93 ± 0,12
Napoca	81,19 ± 1,16	0,40 ± 0,11	172,42 ± 3,40	6,50 ± 0,26
Gelu	80,94 ± 1,37	0,43 ± 0,18	192,33 ± 11,44	4,94 ± 0,08
Milcov	79,47 ± 2,11	0,49 ± 0,06	171,99 ± 14,90	7,37 ± 0,15

Les cultivars présentaient une teneur en anthocyanes comprise entre 103,70 et 343,86 mg CE/100 g p.f. (tab. 2). L'activité de la polyphénoloxydase dans les extraits de baies avait un maximum de 7,11 ± 0,13 U/g/min (Radames cv.).

Tableau 2

Teneur polyphénolique totale (TPT) et l'activité de polyphénoloxydase (PPO)

Cultivar	Anthocyanes (mg EC%)	Peau TPT (g EAG%)	Pulpe TPT (g EAG%)	Pépin TPT (g EAG%)	PPO (U/g/min)
Purpuriu	248,48 ± 0,21	1,66 ± 0,09	0,33 ± 0,02	4,38 ± 0,45	5,82 ± 0,12
Splendid	218,87 ± 1,54	1,70 ± 0,11	0,33 ± 0,01	4,45 ± 0,12	6,01 ± 0,08
Radames	103,70 ± 1,00	1,56 ± 0,08	0,32 ± 0,05	4,06 ± 0,30	7,11 ± 0,13
Cetățuia	299,23 ± 2,29	1,77 ± 0,08	0,34 ± 0,01	4,58 ± 0,40	4,60 ± 0,06
Coarnă neagră select.	293,16 ± 2,16	1,81 ± 0,14	0,34 ± 0,02	5,07 ± 1,08	4,66 ± 0,11
Transilvania	274,68 ± 1,02	1,75 ± 0,24	0,34 ± 0,02	5,15 ± 1,21	4,41 ± 0,07
Someșan	318,92 ± 0,95	1,80 ± 0,07	0,34 ± 0,04	4,80 ± 0,68	4,68 ± 0,09
Napoca	343,86 ± 1,74	1,80 ± 0,11	0,34 ± 0,08	4,88 ± 1,14	4,32 ± 0,11
Gelu	198,33 ± 1,33	1,67 ± 0,08	0,33 ± 0,02	4,49 ± 0,98	6,30 ± 0,12
Milcov	303,84 ± 2,18	1,75 ± 0,06	0,34 ± 0,03	4,59 ± 1,27	5,40 ± 0,14

Les flavonoïdes constituent la classe la plus importante de composés phénoliques dans les peaux (fig. 1) et les pépins (fig. 2), tandis que dans la pulpe, les non-flavonoïdes étaient prédominants (fig. 3). Le pourcentage de flavonoïdes par rapport au TPT variait dans les peaux de 64,57% (Transilvania) à 71,05%

(Cetățuia), dans les pépins de 65,28% (Milcov) à 86,35% (Splendid) et dans les pulpes de 9,35% (Gelu) à 27,27% (Purpuriu).

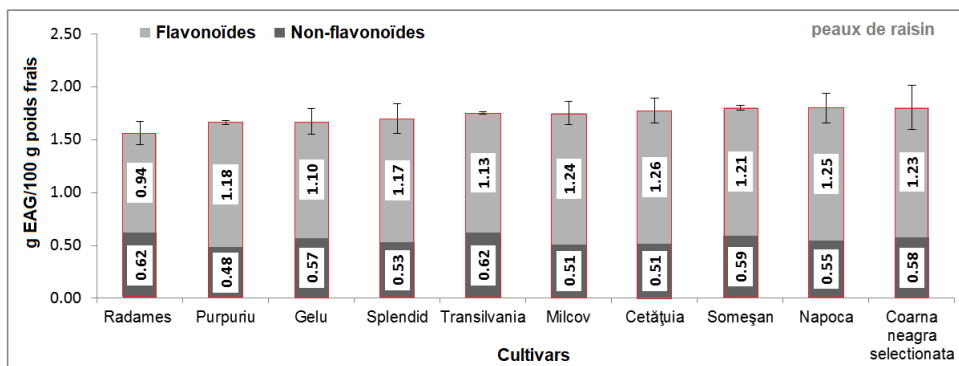


Fig. 1 Teneur en flavonoïdes et non flavonoïdes dans les peaux de raisin

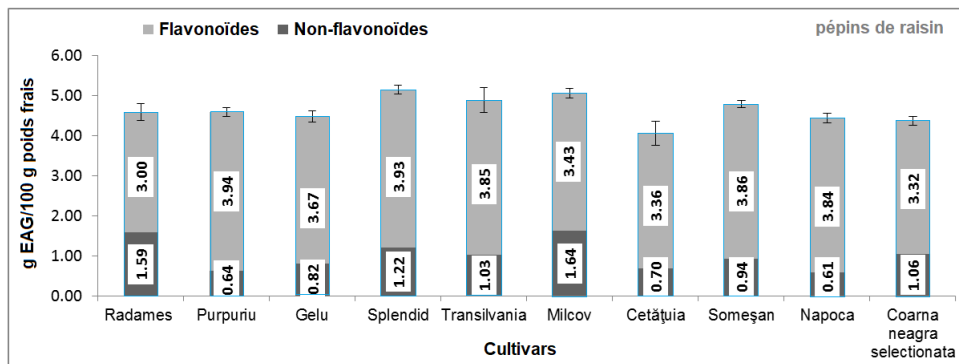


Fig. 2 Teneur en flavonoïdes et non flavonoïdes dans les pépins de raisin

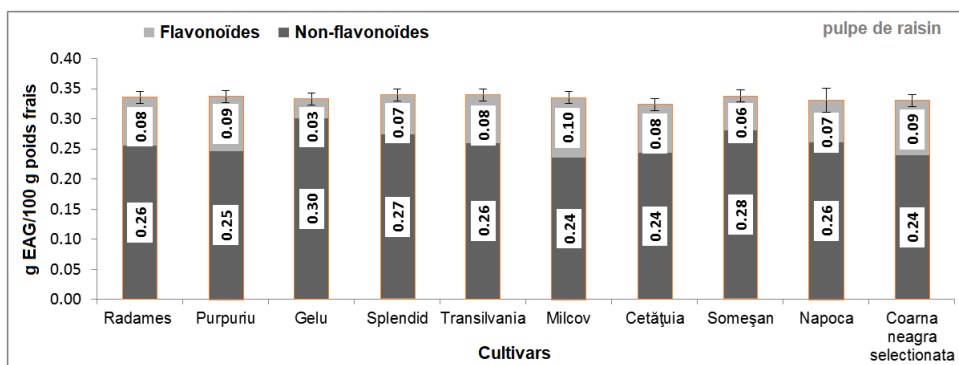


Fig. 3 Teneur en flavonoïdes et non flavonoïdes dans les pulpes de raisin

Le tableau 3 présente les coefficients de corrélation des relations identifiées entre les paramètres expérimentaux.

Tableau 3

Corrélation du teneur en polyphénols totale (TPT), anthocyanes (AC), flavonoïdes (FI), non-flavonoïdes (NFI) et l'activité de polyphénoloxydase (PPO)

Paramètre	PPO	AC	Peau TPT	Peau NFI	Peau F	Pulpe TPT	Pulpe NFI	Pulpe FI
AC	-0,9180	1						
Peau TPT	-0,9266	0,9639	1					
Peau NFI	0,0502	-0,2783	-0,1195	1				
Peau FI	-0,7772	0,9204	0,8711	-0,5917	1			
Pulpe TPT	-0,9397	0,8611	0,9020	-0,0068	0,7358	1		
Pulpe NFI	0,8132	-0,8174	-0,7567	0,3980	-0,8113	-0,7015	1	
Pulpe FI	-0,8833	0,8698	0,8280	-0,3343	0,8377	0,8029	-0,9880	1
Pépin TPT	-0,8713	0,7948	0,8401	0,2337	0,5666	0,8770	-0,6483	0,7319
Pépin NFI	-0,3872	0,5598	0,4509	-0,0263	0,3791	0,3592	-0,4568	0,4598
Pépin FI	-0,4561	0,1824	0,3521	0,2695	0,1526	0,4936	-0,1485	0,2310

Une activité élevée de la PPO avait une influence négative sur la teneur en anthocyanes (AC) des raisins ( $r = -0,9180$ ). Après Kader et collab. (1997), les phénolases sont communes enzymes de dégradation des anthocyanes, mais la destruction de pigment est plus efficace en présence d'autres composés phénoliques (catéchol, acide chlorogénique). Avec une augmentation de l'activité de PPO, composés phénoliques totaux de peaux ont suivi la même tendance que pour les anthocyanines, la fraction flavonoïde étant plus affectée ( $r = -0,7772$ ).

## CONCLUSIONS

1. La teneur en anthocyanes des peaux de raisin était fortement corrélée à leur teneur en flavonoïdes. La concentration en flavonoïdes était plus élevée dans les peaux et les pépins de raisin, tandis que les non-flavonoïdes prédominaient dans la pulpe de raisin.

2. Une activité élevée de la polyphénoloxydase dans les raisins était négativement corrélée à une teneur plus faible en anthocyanes et en composés phénoliques totale des peaux, de la pulpe et des pépins. Considérant l'effet destructeur possible de la polyphénoloxydase sur les anthocyanes, études complémentaires sont nécessaires pour évaluer l'influence de l'enzyme sur les paramètres chromatiques des peaux de baies.

3. Les données expérimentales obtenues sont utiles aux chercheurs, sélectionneurs et spécialistes de l'horticulture et de l'industrie alimentaire et peuvent servir de base de comparaison pour futures études.

**Remerciements:** Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) - projet S0446 SAIN (2017 – 2019).

## RÉFÉRENCES

1. Cory H., Passarelli S., Szeto J., Tamez M., Mattei J., 2018 - *The role of polyphenols in human health and food systems*. Front. Nutr. 5(87). doi: 10.3389/fnut.2018.00087.

2. De Pieri Troiani E., Tropiani C.T., Clemente E., 2003 - *Peroxidase and polyphenol oxidase (PPO) in grape (Vitis vinifera L.)*. Ciênc. agrotec., 27 (3), p. 635-642.
3. Ermakov A.Y., 1987 - *Methody biokhimicveskogo issledovaniya rastenii (Methods in Plant Biochemistry)*, p. 44 - 45. Leningrad, Agropromizdat.
4. Kader F., Rovel B., Girardin M., Metche M., 1997 - *Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (Vaccinium corymbosum L.)*. Partial purification and characterization of blueberry polyphenoloxidase. J. Sci. Food Agric., 73, p. 513-516.
5. Lee J., Durst R.W., Wrolstad R.E., 2005 - *Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study*. J. AOAC Intl., 88, p. 1269-1278.
6. Orak H.H., 2007 - *Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenol oxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations*. Scientia Horticulturae, 111 (3), p. 235-241.
7. Pandey K.B., Rizvi S.I., 2009 - *Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease*. Oxid. Med. Cell. Longev., 2 (5), 270-278.
8. Rocha A.M., De Morais A.M., 2005 - *Polyphenol oxidase activity of minimally processed 'Jonagored' apples (M. domestica)*. J. Food Proc. Preserv., 29, p. 8-19.
9. Singleton V.L., Rossi J.A., 1965 - *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. Am. J. Enol. Vitic. 16, p. 144-158.
10. Tibiri A., Sawadogo W.R., Ouedraogo N., 2010 - *Evaluation of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of Entada africana Guill. et Perr. (Mimosaceae) organ extracts*. Res. J. Medical Sci., 4(2), p. 81-87.
11. Vermerris W., Nicholson R., 2006 - *Phenolic compound biochemistry*. Springer, Netherlands.
12. \*\*\*, OIV, 2008 - *Standard on minimum maturity requirements for table grapes. Resolution VITI 1/08*. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, Paris.

## STUDIES REGARDING THE CORRELATION BETWEEN POLYPHENOLOXIDASE ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENT OF SOME AUTOCHTHONOUS CULTIVARS FOR TABLE GRAPES

**Abstract.** *The undesirable change in the grape color, flavor and texture is associated with the enzyme polyphenol oxidase (PPO), therefore it is important to control their effect, as well as to establish their characteristics associated to the fruits. Grapes (skin, pulp and seeds) of ten Romanian vine cultivars (cv.) for table grapes (Splendid, Cetățuia, Milcov, Transilvania, Someșan, Napoca, Gelu, Coarnă neagră selecționată, Purpuriu and Radames), grown in the Ampelographic collection of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iași, Romania, were analyzed for determination of PPO activity, total phenolics (flavonoids and non-flavonoids) and total anthocyanin content. The highest phenolic content was found in seeds, ranging from 4.36 to 5.35 g gallic acid equivalent/100 g fresh weight, of which flavonoids were between 65 and 88%. The highest PPO activity was determined in the extract of Radames cv. grapes (7.91 U/g/min), while total anthocyanin content was the most important in Napoca cv. grape skins (343.86 mg cyanidin-3-glucoside equivalent/100 g fresh weight). Were found stronger negative correlations between PPO activity and anthocyanin content ( $r = -0,9180$ ) as well as between PPO activity and total phenolic content of grape skins ( $r = -0,9266$ ) and pulp ( $r = -0,9397$ ), highlighting the destructive effect of the enzyme on this type of compounds.*

**Key words:** anthocyanins, phenolic compounds, polyphenol oxidase, table grapes, *Vitis vinifera* L.