

cb

Bibliotheek
Proefstation
Naaldwijk

A
6
D
52

BIBLIOTHEEK
PROEFSTATION VOOR TUINBOUW
ONDER GLAS TE NAALDWIJK

PROEFSTATION VOOR TUINBOUW ONDER GLAS TE NAALDWIJK

VERSLAG VAN HET PTG - ATO - RIKILT PROJECT 'OBJECTIVERING VAN MELIGHEID VAN
VLEESTOMAAT' OVER DE PERIODE NOVEMBER 1990 - MAART 1992

A. Disco (PTG), C. Buddendorf (ATO-DLO) & R. Frankhuizen (RIKILT-DLO)

april 1992

Intern verslag nr 53

2243477

A
6
D
52

INHOUDSOPGAVE	Pagina
Voorwoord	2
1. Inleiding	2
2. Doel	2
3. Sensorisch onderzoek	3
4. Fundamenteel onderzoek (ATO)	6
4.1. Morfologie en anatomie	6
4.2. Celwand analyse	7
4.3. pH van de apoplast	7
4.4. Meligheid en NMR relaxatie parameters	8
5. Objectieve methoden (PTG)	9
5.1. Bepaling van de hoeveelheid tussenschot en pericarp	9
5.2. Droge stof bepaling	9
5.3. Cellcount toets	10
5.4. Kleurtoets met cellufluor	12
5.5. Alcohol Insoluble Solids (A.I.S.)	13
5.6. Metingen met de Instron druk-trekbank	14
6. NIR metingen (RIKILT)	15
7. Discussie	18
8. Conclusie	20
9. Voortgang 1992	20
10. Literatuur	21

Voorwoord:

Het onderzoek naar de objectivering van de meligheid van vleestomaten is oorspronkelijk een samenwerkingsproject van het PTG en het ATO. Het ATO verricht in deze het achtergrondonderzoek naar fysiologische en ultrastructurele parameters in relatie tot meligheid. Op het PTG wordt aan een methode gewerkt om meligheid objectief te kwantificeren. Op verzoek is door het Rikilt vooronderzoek gedaan naar het aantonen van meligheidsverschillen m.b.v. NIRS (Nabij InfraRood Spectroscopie) en NITS (Nabij Infrarood Transmissie Spectroscopie). Dit verslag geeft een samenvatting van de resultaten van de periode november 1990 tot maart 1992.

1. Inleiding:

In 1986 is in het toenmalige West-Duitsland door het Centraal Bureau Tuinbouwveilingen (CBT) een enquête gehouden naar de kwaliteit en smaak van vleestomaten. Hieruit kwam naar voren dat meligheid een belangrijk negatief kwaliteitskenmerk is (CBT, 1989). Meligheid wordt omschreven als de mate waarin de vrucht korrelig en droog in de mond wordt ervaren. De mate van meligheid varieert per ras en wordt bovendien beïnvloed door teeltomstandigheden. Tot op heden wordt de mate van meligheid bepaald door middel van sensorisch onderzoek. Per proef beoordelen 10-12 personen de mate van meligheid door de vruchten te proeven. Dit is echter tijdrovend en duur. Met name voor de veilingkeur is een snelle, non-destructieve en objectieve toets gewenst om slecht smakende (melige) partijen te weren. Ahrens heeft in 1988 een methode beschreven om de meligheid van ronde tomaten te kwantificeren. Deze, destructieve, toets is mogelijk ook bruikbaar voor vleestomaten. In dit project wordt het begrip meligheid middels fundamenteel onderzoek beschreven en wordt gezocht naar een methode om de mate van meligheid objectief te kwantificeren.

2. Doel:

Het doel van het onderzoek is het ontwikkelen van een eenvoudige en snelle methode om als onderdeel van de veilingkeur de mate van meligheid van vleestomaten objectief te kwantificeren (PTG). Om een adequate, nauwkeurige en objectieve toets voor meligheid te kunnen ontwikkelen is ultrastructureel en biochemisch onderzoek noodzakelijk (ATO).

3. Sensorisch onderzoek:

3.1. Inleiding:

Meligheid bij vleestomaten is een verschijnsel dat tot nu toe slechts waar te nemen is door proeven. Daarom worden de verschillende rassen en herkomsten voor gebruik door een sensorisch panel beoordeeld. Deze subjectieve kwantificering dient als referentie voor de te ontwikkelen toets.

3.2. Materiaal en methoden:

* Materiaal:

Vrijwel gedurende de hele periode was er de beschikking over partijen tomaten met verschillende mate van meligheid.

periode november 1990 - april 1991

In de herfst van 1990 zijn op het PTG in een herfststeelt vier verschillende rassen vleestomaat geteeld, namelijk 'Dombito' (Bruinsma), 'Furon' (De Ruiter), 'Trend' (De Ruiter) en 'W1219' (De Ruiter). Hiervan was in deze periode nog een aantal vruchten beschikbaar.

periode april - augustus 1991

In kas 402 van het PTG zijn in een stookteelt vier verschillende rassen vleestomaat geteeld namelijk 'Dombito' (Bruinsma), 'Furon' (De Ruiter), 'Trend' (De Ruiter) en 'W1219' (De Ruiter). Hiervan is bekend dat de mate van meligheid verschilt. De vruchten werden geplukt bij kleurstadium 5, bewaard bij kamertemperatuur en gebruikt bij kleurstadium 11-12.

periode oktober - december 1991

In kas 111 van het PTG is in een herfststeelt het ras 'Dombito' (Bruinsma) geteeld bij vier verschillende K/Ca verhoudingen in de voedingsoplossing, namelijk 0.21, 1.00, 2.70 en 8.50. De totale ionensom was voor alle behandelingen gelijk. Bekend is dat naarmate de hoeveelheid Ca toeneemt de vruchten meliger worden. Drie maal per week werden alle kleurende vruchten vanaf stadium 4 geplukt en gemerkt met het kleurstadium bij oogst. De vruchten zijn bewaard bij 10 - 12 °C en RV 80% en gebruikt vanaf kleurstadium 10. In een proef werden steeds zoveel mogelijk vruchten gebruikt die bij de oogst hetzelfde kleurstadium hadden.

* Methode:

Het PTG beschikt over een groep mensen die geselecteerd zijn op hun vermogen te kunnen proeven. Deze mensen werken allemaal op het PTG en zijn samen het zogenoemde expertpanel. Gemiddeld werd er per smaakproef door 10 - 12 personen van het expertpanel geproefd aan ca 5 vruchten per partij. De mate van meligheid werd beoordeeld en aangegeven op een schaal van 0 (niet melig) tot 100 (extreem melig). In de periode tot 01-04-91 zijn de PTG-vruchten twee keer geproefd met een tussentijd van ca 1 maand. In de periode na 01-04-91 was de frequentie ongeveer één maal per maand.

Naar aanleiding van smaakproeven op het PTG en het ATO in 1990 is voor het ATO-onderzoek in 1991 gebruik gemaakt van de cultivars 'Trend', 'Dombito' en het cilindrische type 'Forto'. Vanaf april 1991 zijn met deze drie cultivars regelmatig smaakproeven uitgevoerd. Tijdens de smaakproeven is de indruk gewekt, dat het beoordelen van meligheid van met name 'Dombito' sterk afhankelijk is van het onderdeel van de vrucht dat geproefd wordt. Er is daarom een smaakproef gehouden om de meligheid van pericarp en tussenschot te onderscheiden.

3.3. Resultaten:

Tabel 1: Resultaten van de sensorische beoordeling van rassen die in de herfststeelt van 1990 op het PTG zijn geteeld. Resultaten zijn gemiddelden van drie proeven.

ras	sensorische meligheid (lsd 5% = 9.6)
W1219	72.4
Dombito	54.2
Trend	46.4
Furon	37.6

Tabel 2: Resultaten van de sensorische beoordeling van de rassen 'Dombito', 'W1219', 'Trend' en 'Furon' die in een stookteelt in 1991 op het PTG zijn geteeld. Resultaten zijn gemiddelden van drie proeven.

ras	sensorische meligheid (lsd 5% = 7.6)
Dombito	65.4
W1219	60.5
Trend	49.4
Furon	47.6

Tabel 3: Resultaten van de eenmalige sensorische beoordeling van het ras 'Dombito' op het PTG geteeld bij vier verschillende K/Ca verhoudingen namelijk
K/Ca verh 1 = 0.21, K/Ca verh 2 = 1.00, K/Ca verh 3 = 2.70, K/Ca verh 4 = 8.50

K/Ca verh	sensorische meligheid (lsd 5% = 11.4)
1	76.5
3	61.3
4	59.3
2	49.7

De resultaten van het ATO komen overeen met de resultaten van het PTG. 'Trend' werd steeds niet melig gevonden in tegenstelling tot 'Dombito'. Het cilindrische type 'Forto' was uitermate melig. Bij de beoordeling van vruchtonderdelen bleek dat het pericarp van 'Forto' sterk melig was en van 'Trend' weinig. Ook het pericarp van 'Dombito' werd weinig melig gevonden. Het tussenschot van 'Trend' was niet melig terwijl het van zowel 'Forto' als 'Dombito' wel melig was.

3.4. Conclusie:

Volgens het PTG smaakpanel was het ras 'W1219' uit de herfstteelt van 1990 betrouwbaar meliger dan de overige rassen. 'Furon' werd als minst melig beoordeeld (tabel 1). In de stookteelt van 1991 werden de rassen 'Dombito' en 'W1219' beide als melig beoordeeld, in tegenstelling tot 'Trend' en 'Furon' (tabel 2). De verschillende K/Ca verhoudingen hebben invloed gehad op de meligheid. Meer Ca geeft meer meligheid m.u.v. K/Ca verh 2 = 1.00 welke betrouwbaar als minst melig werd beoordeeld (tabel 3). Ook het ATO concludeert dat er duidelijk rasverschillen zijn voor wat betreft meligheid. Zowel pericarp als tussenschot kunnen melig zijn.

4. Fundamenteel onderzoek (ATO):

4.1. Morfologie en anatomie:

Het pericarp van 'Trend' en 'Forto' werd microscopisch onderzocht op verschillen die gerelateerd zijn aan meligheid. Door gebruik te maken van een celwandspecifieke fluorescerende kleurstof (Cellufluor, Polysciences 17353) werd voldoende contrast verkregen om verschillen in cellen van melig en niet-melig weefsel waar te nemen. Niet-melig weefsel bevat cellen met een glad oppervlak; de cellen zijn "transparant". Cellen van melig weefsel vertoonden een zeer sterke fluorescentie en hebben "dunne plekken" in de celwand. De verhoogde intensiteit van de fluorescentie kan veroorzaakt worden door meer cellulose, waar de kleurstof specifiek aan bindt, of door een betere bereikbaarheid van de cellulose door veranderde ruimtelijke structuur. Mogelijke verschillen in de hoeveelheid cellulose werden gravimetrisch onderzocht (zie 4.2). Cellen van melig weefsel hadden ook typische "vlokken" op de plaats waar contacten tussen cellen geweest moeten zijn. Bovendien waren preparaten van melig weefsel sterker "vervuild" dan preparaten van niet-melig weefsel. De losse vlokken in de preparaten kleurden sterk met het cellufluor, een aanwijzing voor de aanwezigheid van cellulose in de vlokken. De dunne plekken in de celwand van melige cellen vertoonden "donkere puntjes", waarschijnlijk plasmodesmata die in niet-melige cellen veel minder duidelijk zichtbaar waren.

Het is duidelijk dat cellen van melig weefsel microscopisch te onderscheiden zijn van cellen van niet-melig weefsel. In hoeverre de waargenomen verschillen te maken hebben met meligheid dient nader onderzocht te worden.

De fluorescerende kleurstof is ook gebruikt om te onderzoeken of het mogelijk is onderscheid te maken tussen melige en niet-melige tomaten in de praktijk (op de veiling). Voor de cultivars 'Trend' en 'Forto' met de extreme verschillen in meligheid was dit inderdaad mogelijk. De methode wordt verder uitgewerkt op het PTG.

Er is tussenschotweefsel van 'Dombito' en 'Trend' ingebed in Technovit en met het lichtmicroscop bestudeerd. Het bleek dat de middenlamel in melig weefsel van het tussenschot van 'Dombito' aanwezig was. Dit is verrassend, want de uitgangshypothese voor het ontstaan van meligheid (zoals aangetoond bij appel) is dat de middenlamel juist preferentieel wordt afgebroken, waardoor celcontact verloren gaat. Biochemisch onderzoek zal moeten worden verricht om te kijken of de kwaliteit/samenstelling van de middenlamel veranderd is. De middenlamel kan immers wel aanwezig zijn, maar als de bindende/klevende eigenschappen verloren zijn heeft dit consequenties voor de textuur van het vruchtweefsel c.q. de meligheid.

Er is materiaal voorbehandeld om verder te onderzoeken m.b.v. de electronenmicroscop. Hierbij zijn veel problemen opgetreden. Zo trad er plasmolyse op en lieten de cellen aan de periferie van het melige weefsel los tijdens de vloeistofwisselingen. Dit is logisch, hierop is immers de cellcounttoets gebaseerd. Naast chemische fixatie is de vries/substitutie techniek toegepast. De structuur van het weefsel zou hierbij beter bewaard blijven. Een probleem hierbij was dat de osmiumtetroxide-kleuring onvoldoende was. Uranylacetaat werkte goed. Een probleem bij het inbedden is dat het alcohol sneller de cellen verlaat dan het inbedmiddel binnenkomt. Er is geprobeerd dit probleem te ondervangen met Spurr's medium met n-hexenyl succinic anhydride (ultra lage viscositeit). Het plastic werd nu echter te zacht en kromp. Dit probleem is opgelost door het gebruik van nonenyl succinic anhydride. Het nadeel hiervan is wel dat de inbedprocedure daardoor verlengd is

tot 2 1/2 dag. Om het materiaal te bekijken bleek kleuring met toludine blauw niet te voldoen. Hiervoor werd een differentieel interferentie contrast microscoop gebruikt. Deze procedure resulteerde uiteindelijk in goed ingebed weefsel. Dit kan nu onder het electronenmicroscop worden bestudeerd.

4.2. Celwand analyse:

Celwanden van melig en niet-melig weefsel (tussenschotten van resp. 'Dombito' en 'Trend') zijn door ethanol-extractie geïsoleerd. De in de alcohol onoplosbare celwandbestanddelen pectine en hemicellulose zijn m.b.v. loog geëxtraheerd en van het cellulose en lignine gescheiden. De gehalten van deze componenten in beide cultivars zijn vergeleken. Er zijn geen kwantitatieve verschillen aangetroffen. M.b.v. HPLC is de monosaccharide-samenstelling van de gezuiverde cellulose en hemicellulose bepaald. Naast controle op de zuiverheid van de geïsoleerde producten is dit ook een methode om kwalitatieve verschillen aan te tonen. Ook hier bleek geen verschil tussen beide cultivars. Het pectine en hemicellulose was kwalitatief gelijk in beide cultivars. De conclusie ligt dus voor de hand dat de celwandsamenstelling van melige en niet-melige weefsels kwantitatief en kwalitatief gelijk is. Echter, na analyse van de resultaten van smaakproeven op het PTG en op het ATO bleek dat vruchten van 'Trend' tijdelijk ook meligheid vertoonden, juist in de periode dat vruchten waren bemonsterd voor de biochemische analyses. Het is dus noodzakelijk de experimenten te herhalen met materiaal dat in sensorische experimenten duidelijk in meligheid verschilt. Dan zal tevens de polymerisatiegraad worden bepaald.

4.3. pH van de apoplast:

Als de hoeveelheid cellulose in melige en niet-melige weefsels niet verschilt en de specifieke kleurstof cellufluor veroorzaakt toch verschil in fluorescentie, zou de ruimtelijke opbouw van de cellulose vezels verantwoordelijk kunnen zijn voor het verschil in het fluorescentiesignaal. Door hydrolyse van de onderlinge bindingen zouden de cellulose fibrillen losser van elkaar komen waardoor er meer bindingsplaatsen voor de kleurstof beschikbaar zijn. Hydrolyse van cellulose treedt op als gevolg van een daling van de pH. Dit treedt b.v. op tijdens de strekkingsfase in de lengtegroei van weefsels o.i.v. het hormoon auxine. Verlaging van de pH verhoogt de activiteit van celwandafbrekende enzymen. Als de celwand daardoor verzwakt en de turgorpotentiaal blijft gehandhaafd, zullen de cellen zich afronden en gemakkelijker van elkaar loslaten. Dit kan een melige smaakgevoel in de mond opleveren. Er is daarom onderzocht of er een daling van de pH in de apoplast van zich ontwikkelende melige tomaten voordoet.

Hiertoe is een opstelling gebouwd om de pH van de apoplast van stukjes tomaat te meten. Stukjes tomaat werden gespoeld en in een isotonische oplossing, inclusief macro- en microelementen, gebracht. De pH van de oplossing werd vervolgens regelmatig gemeten. Er is geen verschil in pH gemeten in oplossingen met melige en niet-melige stukjes tomaat. Er is ook geen aanwijzing dat meligheid in het groene stadium wordt aangelegd door een verlaging van de pH in het celwandmilieu. De pH in de oplossingen met groene en rode stukjes tomaat was gelijk.

Om een definitieve conclusie te kunnen trekken zou het experiment herhaald moeten worden met nog jonger weefsel en moet er nog aangetoond worden dat na het spoelen de pH van het incubatiemedium gelijk is aan de ingestelde pH van het MS-medium.

4.4. Meligheid en NMR relaxatie parameters:

De waterhuishouding van vleestomaten zou gekarakteriseerd kunnen worden door de verschillende fysische toestanden van water. Gebonden en vrij water en compartimentalisatie uitend zich in de NMR relaxatie parameter T2. Deze is o.a. afhankelijk van de interactie van watermoleculen met zijn omgeving. Een sterke interactie resulteert in een korte T2 waarde (gebonden water). In biologisch weefsel zijn verschillende compartimenten naast elkaar aanwezig met water in verschillende toestanden, dus met verschillende T2 waarden. Dit betekent dat er in biologisch weefsel een verdeling van T2 waarden is, waarbij de componenten vaak toe te kennen zijn aan water in de vacuole, cytoplasma en celwand. Onderzocht is of er een verband is tussen de T2-verdeling en meligheid. De verwachting was dat met name de fysische toestand van water in de celwand (en dus de T2 waarde) bij melige vruchten afwijkt van de toestand in niet melige vruchten. De metingen zijn uitgevoerd met laagveld NMR apparatuur van de vakgroep Moleculaire Fysika (Landbouwuniversiteit Wageningen). Met laagveld T2 metingen kan de meeste informatie uit T2 metingen worden verkregen. Hiermee kan namelijk ook de zeer korte T2 waarde van water in de celwand worden gemeten. Ook biedt laagveld apparatuur mogelijkheden voor toepassingen als meetmethode in de praktijk.

Helaas bleken de resultaten moeilijk interpreteerbaar. Pericarp en tussenschot weefsel van vleestomaat zijn waarschijnlijk te complex voor T2 metingen vanwege de vele complexe niet homogene compartimenten. Multicompartiment T2 analyse is een recente nog in ontwikkeling zijnde techniek en is zeer gevoelig voor variabiliteit in compartimentalisatie. De verschillen die gevonden werden voor de cultivars 'Trend', 'Dombito' en 'Forto' werden waarschijnlijk eerder veroorzaakt door verschillen in celgrootte en heterogeniteit (dwz cultivar verschillen) dan door meligheid.

5. Objectieve methoden (PTG):

5.1. Bepaling van de hoeveelheid tussenschot en pericarp (PTG)

5.1.1. Inleiding:

Volgens verwachting bevatten melige vruchten relatief meer tussenschot en pericarp dan niet melige vruchten omdat van melige vruchten vooral deze weefsels als melig worden ervaren. Gekeken werd of er relaties konden worden aangetoond tussen het oppervlakte percentage pericarp en schot, de dikte van het pericarp, het aantal schotten en de sensorische meligheid. (Dit onderdeel is grotendeels uitgevoerd door H. Noordman).

5.1.2. Materiaal en methoden:

Per ras (herfststeelt 1990) werden 10 vruchten equatoriaal gehalveerd waarna de contouren van de diverse weefsels met een viltstift op doorzichtig papier werden overgetrokken. Hetzelfde resultaat kon worden verkregen door zeer dunne plakken tomaat m.b.v. het copiëerapparaat te copiëren. Nadat de getekende vruchten uitgeknipt waren werd met de bladoppervlaktemeter (Li-3100, Li-Cor inc., Lincoln, Nebraska, USA) het oppervlak schot en pericarp gemeten en het percentage berekend. De dikte van het pericarp werd gemeten met een schuifmaat en het aantal schotten geteld.

5.1.3. Resultaten:

Tabel 4: Aantal schotten, dikte pericarp, diameter vrucht, oppervlakte percentage pericarp en schot (gemiddelden van 10 vruchten) en sensorische meligheid (gemiddelden van 3 smaakproeven) van de rassen 'W1219', 'Dombito', 'Trend' en 'Furon' uit de herfststeelt van 1990

ras	metingen		diameter vrucht (mm)	oppervlakte (%)		
	aantal schotten	dikte pericarp (mm)		schotten	pericarp + schotten	sensorische meligheid (lsd 5% = 9.6)
W1219	8.1	6.2	83.8	41.9	68.2	72.4
Dombito	5.5	6.3	75.3	40.1	73.5	54.2
Trend	6.8	6.3	77.6	34.1	67.2	46.4
Furon	5.4	5.7	70.2	27.6	58.6	37.6

5.2. Droge stof bepaling

5.2.1. Inleiding:

Bij de beschrijving van het begrip meligheid komt vrijwel altijd het woord droog voor. Vruchten worden melig bevonden als ze een droog gevoel in de mond geven. Het is dus goed mogelijk dat melige vruchten minder vocht bevatten dan minder melige vruchten. In dat geval zal het percentage droge stof bij melige

vruchten hoger liggen. In deze proef is (door H. Noordman) het droge stof gehalte bepaald van aparte onderdelen en van hele vruchten uit de herfstteelt van 1990 om te zien of er enige correlatie is met meligheid.

5.2.2. Materiaal en methoden:

Met uitzondering van de gelei gebeurde het drogen van de vruchten en de vruchtonderdelen in metalen bakken welke bekleed waren met aluminiumfolie. De gelei werd in een glazen petrischaal gedroogd, eveneens bekleed met aluminiumfolie. De bakken en schalen met daarin de in vieren gesneden vruchten of vruchtonderdelen werden na het bepalen van het versgewicht in een droogstoof geplaatst. Na 48 hr bij 80°C werden de monsters teruggewogen en het percentage droge stof berekend. Voor elke bepaling werden 10 vruchten gebruikt.

5.2.3. Resultaten:

Tabel 5: Droge stof percentages van gelei, pericarp, schot, pericarp + schot en hele vruchten bepaald aan 10 vruchten van de rassen 'W1219', 'Dombito', 'Trend' en 'Furon' uit de stookteelt van 1990 vergeleken met sensorische meligheid (gemiddelden van drie smaakproeven)

ras	gelei	pericarp	schotten	pericarp+ schotten	hele vruchten	sensorische meligheid (lsd 5% = 9.6)
W1219	5.7	10.6 *	4.7	-	5.0	72.4
Dombito	6.5	4.8	4.7	4.8	5.1	54.2
Trend	5.5	4.8	4.2	4.6	4.7	46.4
Furon	5.5	4.7	4.4	4.7	5.0	37.6

* = deze hoge waarde moet te wijten zijn aan een waarnemingsfout

5.3. Cellcount toets

5.3.1. Inleiding:

Het droge gevoel in de mond bij het eten van melige vruchten wordt mogelijk veroorzaakt door het feit dat cellen van melig weefsel minder hecht aan elkaar zitten dan cellen van minder melig weefsel. Tijdens het kauwen van melig weefsel schuiven de cellen daarom wellicht van elkaar en komt het celvocht niet vrij. Dit in tegenstelling tot niet melig weefsel waarvan de cellen kapot gaan door het kauwen. Ahrens en Huber hebben op grond van deze hypothese voor ronde tomaten de cellcount toets ontwikkeld (1988a). Door stukjes (ponsjes) van pericarp in een isotone sorbitoloplossing te laten schudden zullen er, na een bepaalde tijd schudden, meer losse cellen in de oplossing zitten naarmate het weefsel meliger is. Gekeken is of deze toets ook bruikbaar is voor vleestomaten. Verder is vooral gewerkt aan optimalisering en versnelling van deze toets.

5.3.2. Materiaal en methoden:

Voor het uittesten van deze methode is in eerste instantie gebruik gemaakt van buitenlandse vruchten. Daarna is deze toets vele malen uitgevoerd op diverse

manieren met alle eerder genoemde partijen vruchten. Voor de beste en meest gangbare methode werden per partij ca 10 vruchten gebruikt. Uit elke vrucht werden met een soort kurkboor met een doorsnede van 5 mm uit het pericarp 10 ponsjes gesneden zodanig dat de schil aan de ponsjes vast bleef zitten. Deze ponsjes werden vervolgens in een glazen petrischaal met een laagje 0.6M sorbitol gedaan. De ponsjes stonden hierbij geheel onder vloeistof. Na het ponsen van alle vruchten van alle rassen werden de stukjes weefsel met een pincet overgedaan in 100 ml erlenmeyers waarin reeds 50 ml 0.6M sorbitol was geschonken. Het gewicht van deze erlenmeyers met de sorbitol was van te voren bepaald. Aan elke erlenmeyer werden 20 ponsjes toegevoegd en van elk ras werden 4 erlenmeyers ingezet. Vervolgens werden de erlenmeyers gewogen en op een schudapparaat 1 hr geschud met een snelheid van 120 rpm. Daarna werd het aantal cellen per ml oplossing bepaald door ca 24 maal onder een binoculair bij een kleine vergroting het aantal cellen in 1 ml te tellen en de uitkomsten te middelen. Hieruit kon dan het aantal cellen per gram ponsgewicht worden berekend. De cellen konden beter zichtbaar gemaakt worden door ze te kleuren met toluidineblauw. Om een telbare oplossing te krijgen (7-25 cellen) werd in veel gevallen de gekleurde oplossing verdund met water. Een indruk van de hoeveelheid cellen in oplossing kon tevens worden gekregen door de transmissie van de oplossingen bij 550 nm te meten met behulp van een spectrofotometer (Bausch en Lomb, type spectronic 20) en hieruit de absorptie te berekenen. In de meeste gevallen moesten de oplossingen geconcentreerd worden om binnen het betrouwbare meetgebied (30-70% transmissie) te komen. Hiertoe werden de oplossingen 15 minuten gecentrifugeerd bij een snelheid van 1000 rpm waarna, al naar gelang de concentratie faktor, een bepaald aantal ml van het supernatant werd afgepipetteerd.

5.3.3. Resultaten:

Tabel 6: Gemiddeld aantal losse cellen per ml oplossing per gram ponsmateriaal van de rassen 'Dombito', 'W1219', 'Trend' en 'Furon' uit de stookteelt van 1991. Resultaten zijn gemiddelde waarden van drie smaakproeven en drie cellcount toetsen

ras	aantal cellen	s	sensorische meligheid (lsd 5% = 7.6)
Dombito	14.0	4.2	65.4
W1219	9.8	2.8	60.5
Trend	5.5	1.8	49.4
Furon	6.9	2.0	47.6

Tabel 7: Gemiddeld aantal losse cellen per ml oplossing per gram ponsmateriaal van vruchten van het ras 'Dombito' geteeld bij vier verschillende K/Ca verhoudingen in de voedingsoplossing. Resultaten zijn gemiddelde waarden van vier cellcount toetsen en één smaakproef

K/Ca verh	aantal cellen	s	sensorische meligheid (lsd 5% = 11.4)
0.21	12.4	4.7	76.5
1.00	7.8	3.4	61.3
2.70	4.9	2.7	59.3
8.50	11.4	4.2	49.7

Tabel 8: Absorptie van 5* geconcentreerde celoplossingen van de rassen 'Dombito', 'W1219', 'Trend' en 'Furon' uit de stookteelt van 1991, vergeleken met sensorisch bepaalde meligheid (waarden zijn gemiddelden van drie smaakproeven)

ras	absorptie	sensorische meligheid (lsd 5% = 7.6)
Dombito	0.2442	65.4
W1219	0.2596	60.5
Trend	0.1871	49.4
Furon	0.1612	47.6

5.4. Kleurtoets met cellufluor

5.4.1. Inleiding:

Naar aanleiding van resultaten van het ATO is geprobeerd de mate van meligheid zichtbaar te maken met de kleurstof cellufluor. Cellufluor bindt aan celwandcomponenten als cellulose, neemt UV licht tussen 340 en 400 nm op en zendt dat in de vorm van zichtbaar licht terug. Naarmate er meer kleurstof is gebonden neemt de fluorescentie toe. Omdat van melige vruchten de cellen minder hecht aan elkaar zitten kan de kleurstof dieper in het weefsel doordringen. Aan melig weefsel bindt zich dan meer kleurstof.

5.4.2. Materiaal en methoden:

Cellufluor is afkomstig van de firma Polysciences Inc. Het kleuren van de vruchten is op velerlei manieren uitgevoerd. Vruchten werden gehalveerd door ze met een mes equatoriaal door te snijden of ze axiaal door het schot te breken of te snijden. De helften werden al dan niet afgespoeld onder stromend water. De kleurstof werd gebruikt in een concentratie van 10 mg/100 ml. Buffers werden toegevoegd om diverse pH's te krijgen variërend van 6 - 12. Kleuring vond plaats door de helften met het snijvlak gedurende enkele minuten in de cellufluoroplossing te leggen of door ze te beproeien met behulp van een

plantenspuit. Na al dan niet afspoelen onder stromend water werd de kleurstof gedurende 2-5 minuten geactiveerd onder een UV lamp (Philips TL 8W/08 F8 T5 BLB) waarna de mate van fluorescentie met het oog of met behulp van een spectroradiometer (Li-Cor Li 1800, firma Leica) werd bepaald. Er is gebruik gemaakt van alle eerder genoemde partijen vruchten.

5.4.3. Resultaten:

In geen van de pogingen was er met het oog duidelijk verschil in fluorescentie waar te nemen.

Tabel 9: Geïntegreerde fluorescentiewaarden tussen 400 - 500 nm gemeten m.b.v. een spectroradiometer van de rassen 'Dombito', 'W1219', 'Trend' en 'Furon' uit de stookteelt van 1991

ras	geïntegreerde fluorescentiewaarden (Watt/nm)			sensorische meligheid (lsd 5% = 7.6)
	met cellulfl	zonder cellulfl	verschil	
Dombito	0.0063	0.0013	0.0050	65.4
W1219	0.0185	0.00 *	0.0185	60.5
Trend	0.0179	0.0015	0.0164	49.4
Furon	0.0165	0.0039	0.0126	47.6

* Deze waarde is eigenlijk zeer klein negatief en is afgerond op 0.

5.5. Alcohol Insoluble Solids (A.I.S)

5.5.1. Inleiding:

In het rapport "De sensorische meligheid van doperwten geschat met instrumentele methoden" van Schijvens, Frankhuizen en Van de Vuurst de Vries (1988) wordt de relatie aangetoond tussen AIS en meligheid van doperwten. In een proef is gekeken of AIS ook een maat is voor meligheid van vleestomaten.

5.5.2. Materiaal en methoden:

Er werd gewerkt volgens methode nr 32.021 "Solids (Alcohol-Insoluble) in Canned Peas. Gravimetric Method" zoals beschreven door Williams (1984). De proef werd uitgevoerd met schot en pericarp in gedroogde vorm.

5.5.3. Resultaten:

Tabel 10: Percentage AIS van schot en pericarp van de rassen 'Dombito', 'W1219' en 'Trend' uit de stookteelt van 1991

ras	AIS (%)		sensorische meligheid (lsd 5% = 7.6)
	schot	pericarp	
Dombito	28.1	33.7	65.4
W1219	27.7	32.2	60.5
Trend	27.6	30.9	49.4

5.6. Metingen met de Instron druk-trekbank

5.6.1 Inleiding:

Meligheid wordt met name waargenomen tijdens het kauwen. Het fijnmaken van het weefsel wordt bij melige vruchten anders ervaren dan bij niet melige vruchten. Door het weefsel in te drukken met de druk-trekbank is er wellicht een parameter te vinden die dit verschil aantoont.

5.6.2. Materiaal en methode:

Per partij werden 6 vruchten gebruikt. Met behulp van een mes met twee snijvlakken op een afstand van 9 mm van elkaar werden equatoriaal uit iedere vrucht 2 plakken gesneden. Met een penplunjer van 5 mm doorsnede werd per plak op drie plaatsen door het schot geboord met een snelheid van 25 mm/min en een kracht van 20 N. De volgende parameters werden geregistreerd: maximale kracht (F-max), afstand waar F max wordt bereikt, kracht bij breuk, afgelegde afstand bij breuk, kracht aan het eind van het lineaire stuk van de curve (F-eind), afgelegde afstand bij F-eind, helling van de raaklijn, kracht en energie op en tussen bepaalde punten.

5.6.3. Resultaten:

Nog niet beschikbaar

6. NIR metingen (RIKILT):

Samenvatting oriënterend onderzoek naar de mogelijkheden van de bepaling van de mate van meligheid van vleestomaat met behulp van nabij infrarood spectroscopie.

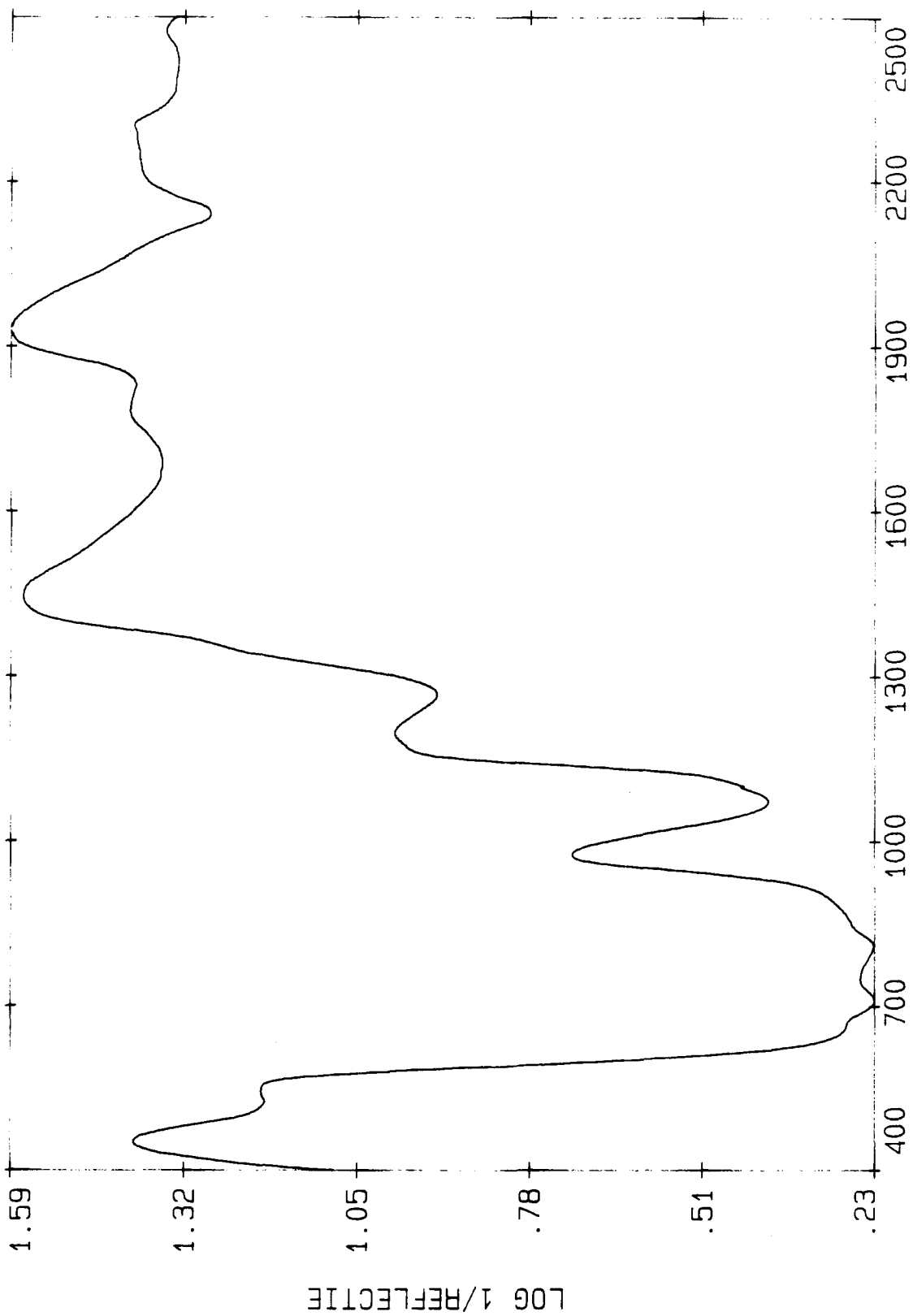
6.1. Inleiding:

Er is oriënterend onderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheid om de mate van meligheid van vleestomaat snel en niet-destructief te bepalen met behulp van nabij infrarood spectroscopie.

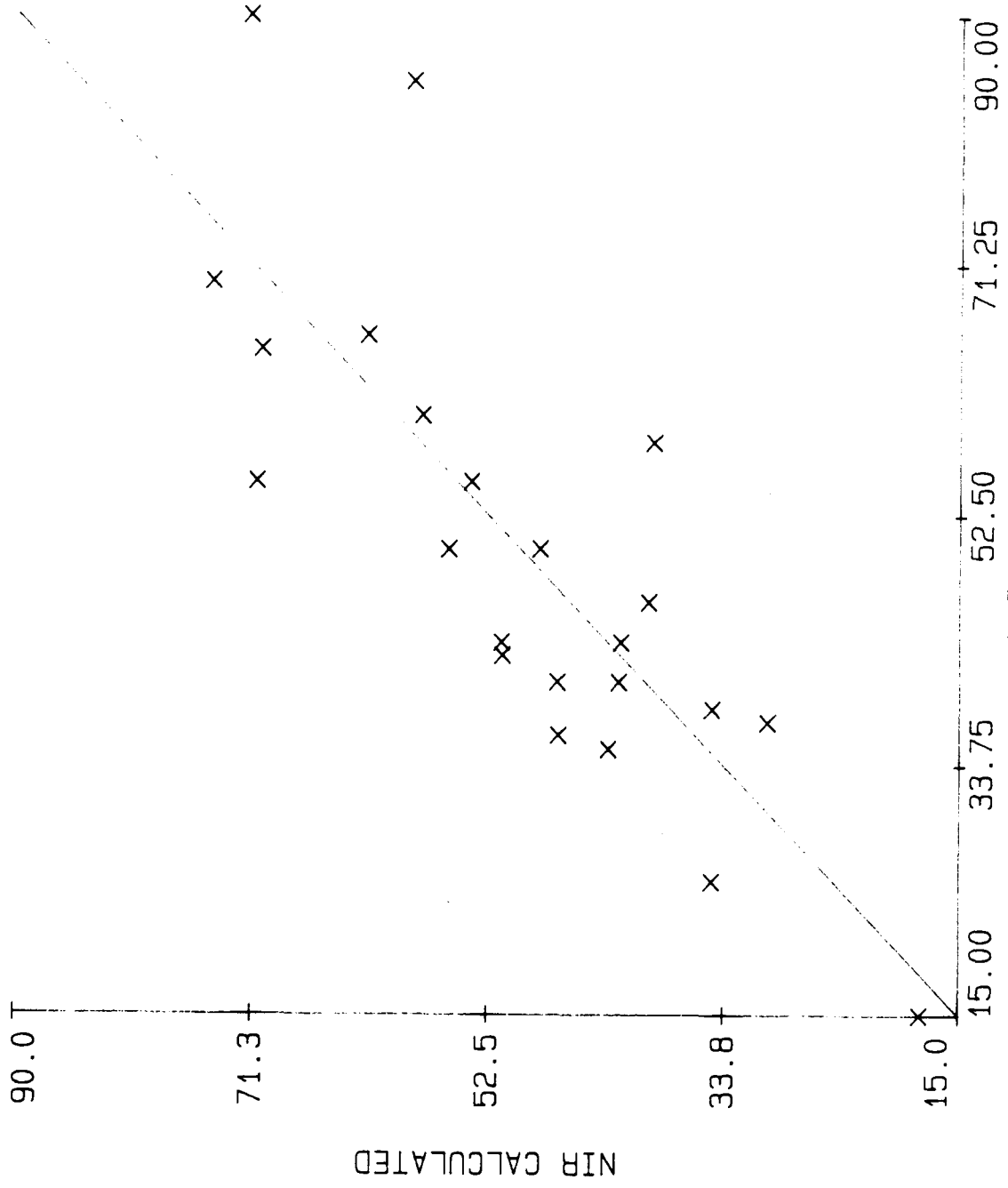
Gekozen is voor een meting in reflectie in het golflengtegebied van 400 - 2500 nm (VIS/NIR). Figuur 1 vertoont het VIS/NIR spectrum van vleestomaat. Bij deze meetmethode wordt een klein stukje van de tomaat verlicht. Een deel van het licht verlaat de tomaat na verstrooiing in het inwendige en treedt naar buiten in de nabijheid van de opvallende lichtbundel. Dit terugverstrooide licht bevat informatie van inwendige structuren van de tomaat tot een diepte van enkele centimeters. De grootte van de tomaat speelt bij deze methode een ondergeschikte rol.

6.2. Resultaten:

Het in "transmissie" meten van inwendige eigenschappen van tomaat in het golflengtegebied van 400 - 2500 nm is met de huidige op het RIKILT aanwezige apparatuur niet mogelijk gebleken. Het meten in "reflectie" gaf informatie van het inwendige van de tomaat tot een diepte van enkele centimeters. Zowel de variatie binnen een vrucht als de binnenmonstervariatie was groot. Omdat de spreiding rond de gemiddelde meligheidsscore's bepaald door een panel van 12 personen groot is (gem. lsd 5 % = 15 %) was het moeilijk relaties aan te tonen. Ondanks bovengenoemde punten is met behulp van meervoudige lineaire regressie (MLR) van de 2e afgeleide spectra een ijklijn opgesteld met een correlatiecoëfficiënt (r) van 0.81 met daarbij een standaard error of calibration (SEC) van 10.8 (op een schaal van 0 - 100 bij $n = 23$ monsters elk bestaande uit ca. 8 vruchten) (figuur 2).



Figuur 1. : VIS/NIR spectrum van vleestomaat



Figuur 2. : Sensorische meligheidscore's uitgezet tegen de met NIRS voorspelde meligheidscore's (r=0.81, SEC = 10.8, n = 25).

7. Discussie:

Meligheid van vleestomaten lijkt niet veroorzaakt te worden door gedeeltelijk afgebroken middenlamel. Dit in tegenstelling tot bijvoorbeeld appels. De samenstelling van de middenlamel zou bij melig weefsel wel anders kunnen zijn dan bij minder melig weefsel. Om dit te onderzoeken is biochemisch onderzoek noodzakelijk. Biochemisch onderzoek van de celwanden heeft geen verschillen te zien gegeven tussen melige en minder melige rassen. Echter wegens in meligheid slechts matig verschillend uitgangsmateriaal is niets te zeggen over de verschillen in celwandmateriaal van melige en niet melige vruchten. Herhaling van het experiment is noodzakelijk. Een pH daling in de apoplast van stukjes tomaat kon bij geen van de rassen worden aangetoond. Het is dan ook onwaarschijnlijk dat meligheid veroorzaakt wordt door hydrolyse van cellulose als gevolg van een pH daling. Meligheid aantonen m.b.v. NMR is vooralsnog niet gelukt. Pericarp en tussenschotweefsel zijn daar waarschijnlijk te complex voor.

Het is niet mogelijk gebleken een betrouwbare correlatie aan te tonen tussen de mate van meligheid en aantal schotten, dikte van het pericarp en oppervlakte-percentages pericarp en schotten. Slechts de verschillen in oppervlakte-percentages schot zijn bij een lsd = 5% betrouwbaar m.u.v. het verschil tussen Dombito en W1219 (tabel 4). De relatie tussen het opp% schot (X) en sensorisch bepaalde mate van meligheid (Y) wordt voor deze rassen goed benaderd door de lijn $Y = -17.8 + 1.96X$. De correlatiecoëfficiënt van ca 0.85 geeft aan dat naarmate het opp% schot toeneemt de vruchten meliger zijn. De beschikbare gegevens omtrent de droge stof percentages van vruchten en vruchtonderdelen (tabel 5) zijn niet voldoende om conclusies te trekken over de relatie tot meligheid. De resultaten zijn echter zodanig dat een relatie met meligheid zeer onwaarschijnlijk is. Dit zou inhouden dat het droge gevoel in de mond tijdens het kauwen van melige vruchten niet veroorzaakt wordt door een hoge percentage droge stof.

De verschillen in aantal losse cellen (X) bij de cellcount toets zijn tussen de verschillende rassen betrouwbaar behalve het verschil tussen 'Trend' en 'Furon' (tabel 6). De correlatie met sensorische meligheid (Y) wordt zeer goed benaderd ($r = 0.939$) door de lijn $Y = 36.4 + 2.14X$. De verschillen in aantal losse cellen tussen de diverse K/Ca verhoudingen zijn niet significant doch de verwachte lijn zit er in (tabel 7). Naarmate de K/Ca verhouding groter wordt neemt het aantal cellen af. Een correlatie met meligheid is niet te vinden. Dit komt hoofdzakelijk door het resultaat van de smaakproeven. Deze, met name K/Ca verh 2 = 1.00, wijkt af van de verwachting. Alles bij elkaar betekent het dat er bij de uitvoering van de cellcount toets zeer waarschijnlijk meer cellen los in de oplossing komen naarmate de vruchten meliger zijn. Al lijkt de cellcount toets heel aardig te werken, hij heeft drie grote nadelen. De toets is erg arbeidsintensief. Bovendien geven de resultaten een enorme spreiding te zien, vaak rond 30%, waardoor de toets slechts grote verschillen in meligheid aan kan tonen en de uitvoering in veelvoud dient te geschieden. Tot slot is de toets destructief. Door het tellen van de cellen te vervangen door het meten van de transmissie is de toetstijd aanmerkelijk te bekorten. Maar zelfs dan blijft de toets bewerkelijk. Het verband tussen de absorptie (X) en de meligheid (Y) (tabel 8) bij gebruik van de spectrofotometer wordt weergegeven door de formule $Y = 19.6 + 170X$. Over de betrouwbaarheid van de lijn is door gebrek aan meetpunten niets te zeggen. Nader onderzoek is hier noodzakelijk.

De resultaten van de kleurstof cellufluor zijn, ondanks het enthousiasme van het ATO en de regelmatige contacten hierover, op het PTG nog weinig hoopgevend. Wat daar de oorzaak van is is in het geheel niet duidelijk. Het komende jaar

zal door het PTG op het ATO deze methode verder op bruikbaarheid worden onderzocht.

Uit tabel 10 blijkt dat naarmate de vruchten meliger zijn het percentage AIS toeneemt. De verschillen zijn echter klein, mede gezien het feit dat er nogal wat foutenbronnen in de bepaling zitten. Door het te geringe aantal bepalingen zijn de betrouwbaarheid en correlatie met sensorische meligheid niet te bepalen. Omdat tevens de hoeveelheid zetmeel, waar deze bepaling eigenlijk op drijft, in rijpe tomaten gering is, is besloten met deze bepaling te stoppen. Over de metingen met de Instron druk-trekbank is nog weinig te zeggen. De komende periode zullen de resultaten worden bestudeerd om te zien of er een parameter gevonden kan worden die met meligheid correleert.

Een combinatie van een VIS/NIR-meting lijkt goede mogelijkheden te bieden voor het snel, objectief en praktisch bepalen van de mate van meligheid van vleestomaat. Indien definitief is vastgesteld dat de ratio van de absorptie-coëfficiënten bij de in dit onderzoek geselecteerde golflengten inderdaad betrouwbare informatie verschaft met betrekking tot de mate van meligheid is vervolgonderzoek naar toepassing van de techniek bij keuringen op veilingen aan te bevelen.

8. Conclusies:

Meligheid van vleestomaat lijkt niet veroorzaakt te worden door gedeeltelijk afgebroken middenlamel. Ook is het onwaarschijnlijk dat meligheid wordt veroorzaakt door hydrolyse van cellulose als gevolg van een pH daling. Biochemisch onderzoek van de celwanden moet worden herhaald om hierover conclusies te kunnen trekken. Meligheid aantonen met behulp van NMR lijkt nog niet mogelijk.

De hoeveelheid pericarp en schot is in het algemeen niet gerelateerd aan sensorische meligheid. Een correlatie tussen sensorische meligheid en percentage droge stof van vrucht of vruchtonderdelen was niet aantoonbaar. Wel kan het oppervlakte percentage schot van invloed zijn op sensorische meligheid. Grote verschillen in meligheid zijn door middel van de cellcount toets objectief aan te tonen. Door de grote spreiding is dat voor kleine verschillen erg moeilijk. De enorme bewerkelijkheid van de toets lijkt enigszins terug te brengen door het tellen van het aantal cellen in de oplossing te vervangen door het meten van de transmissie. Nader onderzoek is echter nodig. Ook voor conclusies omtrent de bruikbaarheid van de kleurstof cellufluor is nader onderzoek noodzakelijk. Met het objectief kwantificeren van meligheid met behulp van de Instron druk-trekbank is een begin gemaakt.

Een combinatie van een VIS/NIR-meting lijkt goede mogelijkheden te bieden voor het snel en objectief bepalen van meligheid.

9. Voortgang in 1992:

Op het ATO zal in de komende periode het biochemisch onderzoek worden herhaald. Met behulp van de electronen microscoop zullen coupes van melig en minder melig weefsel worden bestudeerd. Op het PTG zal het komende jaar de aandacht vooral uitgaan naar de metingen met de Instron druk-trekbank. Ook zal aandacht worden besteed aan het versnellen van de cellcount toets. Het PTG zal verder op het ATO de bruikbaarheid van de kleurstof cellufluor nader onderzoeken.

10. Literatuur:

1. Ahrens, M.J. - Firmness and mealiness: Attributes of texture in tomato fruit and their measurement. 37-71
2. Ahrens, M.J., D.J. Huber & J.W. Scott - Firmness and mealiness of selected Florida-grown tomato cultivars. Proc. Fla. State Hort. Soc. 100: 39-41 (1987)
3. Ahrens, M.J. & D.J. Huber - An objective method for measuring mealiness in tomato fruit. Hortscience 23; 3 (1988)
4. Ahrens, M.J. & D.J. Huber - Calcium content is related to mealiness in tomato fruit. Hortscience 23; 3 (1988)
5. CBT, Den Haag - Meligheid grootste kwaliteitsprobleem. Weekblad Groenten en Fruit; 26 mei (1989)
6. Frankhuizen, R. en A.J. van Munsteren - Literatuuronderzoek naar niet-destructieve metingen bij de kwaliteitscontrole van fruit en groente m.b.v. lichttransmissie. Rapport 87.54 Rikilt (1987)
7. Lill, R.E. & G.J. van der Mespel - A method for measuring the juice content of mealy nectarines. Scientia Hort. 36: 267 - 271 (1988)
8. Noordman, H. - Relatie tussen sensorische bepalingen en enkele objektieve toetsmethoden aan meligheid bij vleestomaten. Interne notitie PTG (1991)
9. Schijvens, Ir E.P.H.M., R. Frankhuizen & R.G. van de Vuurst de Vries - De sensorische meligheid van doperwtten geschat met instrumentele methoden. Rapport nr 2340 Sprenger Instituut (1988)
10. Schijvens, E.P.H.M., R. van de Vuurst de Vries en O. Bordewijk - Sensorische bepaling van de meligheid van tomaten. Intern verslag nr 810 Sprenger Instituut (1988)
11. Williams, S. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 14th ed nr 32.021 (1984)