



UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Janja JESENIČNIK

**VPLIV KRATKOTRAJNE TOPLOTNE OBDELAVE Z  
VODO NA SKLADIŠČNO SPOSOBNOST SADJA**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij - 1. stopnja Živilstvo in prehrana

Ljubljana, 2018

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Janja JESENIČNIK

**VPLIV KRATKOTRAJNE TOPLOTNE OBDELAVE Z VODO NA  
SKLADIŠČNO SPOSOBNOST SADJA**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij - 1. stopnja Živilstvo in prehrana

**INFLUENCE OF SHORT TERM WATER DIPPING ON FRUIT  
STORABILITY**

B. SC. THESIS

Academic Study Programmes: Field Food Science and Nutrition

Ljubljana, 2018

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študijskega programa 1. stopnje Živilstvo in prehrana.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje Oddelka za živilstvo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Rajka Vidriha in za recenzentko doc. dr. Anjo Klančnik.

Mentor: prof. dr. Rajko Vidrih  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Recenzentka: doc. dr. Anja KLANČNIK  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Mentor:

Recenzentka:

Datum zagovora:

Janja Jeseničnik

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du1  
DK UDK 664.8.03:634.1/.7(043)=163.6  
KG sadje, toplotna obdelava, topla voda, skladiščenje, trdota, mikroorganizmi, etilen, encimi  
AV JESENIČNIK, Janja  
SA VIDRIH, Rajko (mentor), KLANČNIK, Anja (recenzentka)  
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo  
LI 2018  
IN VPLIV KRATKOTRAJNE TOPLOTNE OBDELAVE Z VODO NA SKLADIŠČNO SPOSOBNOST SADJA  
TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij - 1. stopnja Živilstvo in prehrana)  
OP VI, 25 str., 2 pregl., 3 sl., 22 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Potapljanje sadja v toplo vodo je okolju in človeku prijazen način obdelave sadja. Kratkotrajno potapljanje sadja v toplo vodo pripomore k podaljšani življenjski dobi plodov in njihovemu daljšemu skladiščenju. Plodove lahko poleg potapljanja v vodo tudi ščetkamo. Optimalne temperature vode pri potapljanju sadja so od 40 do 55 °C. Po potapljanju sadja v toplo vodo plodovi ostanejo trši v primerjavi z nepotapljenimi plodovi. Moteno pa je sproščanje etilena iz sadja, ki se po potapljanju ustavi ali upočasni. Pri tem zmanjšamo tudi prisotnost mikroorganizmov in plesni ter posledično kasnejšega propadanja plodov. Potapljanje v toplo vodo je uspešno zavrlo rast rastlinske plesni *Colletotrichum musae*, ki pri ekoloških bananah povzroča antraknozo ter plesni *Penicillium expansum* (LINK) Thom, ki predstavlja problem pri jabolkih Zlati delišes. Zanimivo, da se antioksidativno delovanje plodov pri potapljanju poveča. Aktivnosti superoksid dismutaze in peroksidaze, sta se po potapljanju v toplo vodo zvišali. Potapljanje mandarin v toplo vodo je učinkovito znižalo akumulacijo ROS, katerih presežki, bi lahko delovali citotoksično. Med skladiščenjem sadja (predvsem tropskega) lahko prihaja do poškodb zaradi nizkih temperatur, ki pa se pri induciranjem toplotnem šoku ne pojavijo oz. se pojavijo v zmanjšanem obsegu. Potapljanje sadja v vodo podaljša življenjsko dobo sadja in pripomore k daljšemu skladiščenju plodov.

### KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du1  
DC UDC 664.8.03:634.1/.7(043)=163.6  
CX fruits, heat treatment, hot water, storage, firmness, microorganisms, ethylene, enzymes  
AU JESENIČNIK, Janja  
AA VIDRIH, Rajko (supervisor), KLANČNIK, Anja (reviewer)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology  
PY 2018  
TI INFLUENCE OF SHORT TERM WATER DIPPING ON FRUIT STORABILITY  
DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes: Field Food Science and Nutrition)  
NO VI, 25 p., 2 tab., 3 fig., 22 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB Hot water dipping is an environmentally and human-friendly way of treating fruits. Short-term hot water dipping contributes to the prolonged life of the fruits and their longer storage time. In addition to immersion into the water, the fruits can also be brushed. Fruit is immersed in water with optimal temperatures 40–55 °C. Hot water dipping significantly delay the decrease of fruit firmness during storage. The release of ethylene is also disturbed, which stops or slows down after immersion. There is also a decrease in the growth of microorganisms and molds, and consequently subsequent decline in fruits. Hot water dipping has successfully suppressed the growth of mold *Colletotrichum musae*, which causes anthracnose in organic bananas and mold *Penicillium expansum* (LINK) Thom, which is a problem for Golden Delicious apples. The antioxidant effects of enzymes become more intense, when it comes to hot water dipping. The activity of superoxide dismutase and peroxidase increased after hot water dipping. Hot water dipping also effectively reduced the accumulation of ROS, which action could be cytotoxic. Hot water dipping may control effectively chilling injury and decay especially for tropical fruits during extended storage.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION .....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VI</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>VI</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>VII</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBDELAVA SADJA S TOPLO VODO .....</b>	<b>2</b>
2.1 PRINCIP OBDELAVE S TOPLO VODO.....	2
<b>3 VPLIVI OBDELAVE SADJA S TOPLO VODO.....</b>	<b>3</b>
3.1 TRDOTA SADJA .....	3
3.1.1 Melone .....	4
3.1.2 Banane .....	4
3.2 IZLOČANJE ETILENA.....	5
3.2.1 Mango .....	5
3.2.2 Mandarine .....	6
3.3 OKUŽBE Z MIKROORGANIZMI .....	7
3.3.1 Ekološko pridelane banane.....	8
3.3.2 Jabolka.....	10
3.4 ENCIMSKA AKTIVNOST .....	12
3.4.1 Papaja .....	13
3.4.2 Mandarine .....	16
3.4.3 Breskev .....	17
3.5 PROPADANJE SADJA PRI NIZKIH TEMPERATURAH SKLADIŠČENJA .....	19
3.5.1 Mandarine .....	19
<b>4 SKLEPI .....</b>	<b>21</b>
<b>5 ZAKLJUČEK .....</b>	<b>22</b>
<b>6 VIRI .....</b>	<b>24</b>

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Skupine banan pri toplotni obdelavi (Vilaplana in sod., 2018).....	9
Preglednica 2: Pojavnost poškodb jabolk Zlati delišes ob inokulaciji s <i>P. expansum</i> (Fallik in sod., 2001).....	12

## KAZALO SLIK

Slika 1: Stroj za ščetkanje in izpiranje sadja s toplo vodo (Fallik, 2004).....	3
Slika 2: Vpliv temperature skladiščenja in tople vode na aktivnost askorbat peroksidaze (Shadmani in sod., 2015).....	16

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

- ACC 1-aminociklopropan-1-karboksilna kislina (ang. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)
- PDA Krompirjev dekstrozni agar (ang. Potato dextrose agar)
- ROS Reaktivne kisikove spojine (ang. Reactive oxygen species)



## 1 UVOD

Sadje in zelenjava sta vir prehransko pomembnih komponent, ki imajo pomembno vlogo pri preprečevanju nekaterih civilizacijskih bolezni. Sadje se danes ne uživa zgolj sezonsko, ampak se skladišči na daljši rok in uživa skozi celo leto (Fallik, 2004). V procesu zorenja in hkrati staranja plodov se kvaliteta plodov slabša, hkrati se poveča občutljivost za fiziološke in mikrobiološke bolezni plodov, kar vodi v njihov propad. V tem smislu je zahtevana kakovost sadja odvisna od postopkov uporabljenih pred in po obiranju sadja: njegove pridelave, skladiščenja, pakiranja, transporta ter prodaje (Valero in Serrano, 2010). Sveže pridelano sadje mora biti pred prodajo čisto (brez tujkov), brez znakov bolezni, insektov ali ostankov fitofarmaceutskih sredstev. Občutljivost svežega sadja se tekom skladiščenja povečuje zaradi fizioloških sprememb, ki omogočajo vse lažji razvoj patogenih mikroorganizmov. Pri sadnih vrstah je gniloba še vedno eden iz med glavnih dejavnikov, ki omejujejo čas skladiščenja (Fallik, 2004).

Pri skladiščenju sadja so v zadnjih desetletjih nastale številne pomembne spremembe z namenom zmanjšanja izgube od obiranja do porabe (Gvozdrenović, 1989). V času vse večje ozavešenosti potrošnikov pa v ospredje prihaja dejstvo, da je uporaba fitofarmaceutskih sredstev za tretiranje sadja za nadzor insektov, mikrobioloških bolezni in fizioloških motenj za človeka lahko potencialno škodljivo. S tem namenom se je človek nagibal k razvoju učinkovite in neškodljive fizikalne obdelave, s katero bi upočasnil staranje plodov in preprečil mikrobiološke okužbe plodov. Poznanih je več načinov za varno podaljševanje skladiščenja, kot je npr. pakiranje v modificirano atmosfero, predhlajenje sadja ali toplotna obdelava, ki je po mnenju Fallika (2004) ena iz med najbolj obetavnih metod za nadzor propadanja plodov. Obdelava sadja s toplo vodo je potrdila pozitivne učinke na podaljšanje skladiščne sposobnosti več vrst sadja in zelenjave. Omenjen postopek zmanjša razvoj patogenih mikroorganizmov, plesni in gliv (Rodov in sod., 1995). Prav tako naj bi bila sinteza etilena pri visokih temperaturah toplotne obdelave reverzibilno inhibirana, kar vodi v kasnejši propad plodov (Paull in Jung Chen, 2000).

Cilj naloge je bil preučiti do sedaj raziskane vplive kratkotrajnega potapljanja sadja v toplo vodo (40–55 °C) na skladiščno sposobnost sadja. Predvsem so nas zanimale spremembe, povezane z izgubo trdote plodov, izločanjem fitohormona etilena, mikrobno populacijo ter encimi z antioksidativnim delovanjem.

V nalogi smo si zastavili naslednje hipoteze:

- H1) Uporaba tople vode zmanjša mikrobiološke okužbe.
- H2) Kratkotrajno potapljanje sadja v toplo vodo vpliva na produkcijo etilena.
- H3) Sadje, ki je potopljeno v toplo vodo je manj občutljivo na nizke temperature skladiščenja.
- H4) Toplotni šok vpliva na antioksidativno učinkovitost sadja.

## 2 OBDELAVA SADJA S TOPLO VODO

Obdelava sadja s toplo vodo (40 do 55 °C) je bila prvič omenjena leta 1922, kot postopek za nadzor propadanja citrusov. Njena uporaba pa se je razširila tudi z namenom preprečevanja okužb, povzročenih z insekti. Čas obdelave s toplo vodo je trajal relativno kratko (nekaj minut), saj se ciljni patogeni nahajajo na površini ali v prvih nekaj celičnih plasteh sadja. Toploto se lahko dovaja preko tople vode ali v obliki vroče pare ali zraka. Toplotna obdelava z vročo paro se je razvila večinoma za odstranjevanje insektov. Vendar je voda bolj zaželen medij kot zrak, saj pride do učinkovitejšega prenosa toplote. Ugotovili so, da lahko s toplotno obdelavo za nekaj časa zaustavimo proces zorenja in pridobimo odpornost proti poškodbam, ki nastanejo tekom skladiščenja pri nizkih temperaturah. Z dodanim ščetkanjem med toplotno obdelavo so bistveno izboljšali učinkovitost te metode, zato postaja obdelava s toplo vodo čedalje bolj sprejeta na svetovnem trgu (Fallik, 2004).

Po navajanju Fallika (2004) se je pozitiven učinek te metode na zaviranje propadanja plodov pokazal na številnem subtropskem in tropskem sadju in zelenjavi. Obdelava s toplo vodo ima številne prednosti, kar vključuje relativno enostavno uporabo, kratek čas obdelave, zanesljivo spremljanje temperature sadja in vode ter uničenje povzročiteljev propadanja plodov. Vendar pa se fiziološki odzivi kultivarjev sadja med seboj razlikujejo. Razlogi za to nastanejo med drugim tudi zaradi različnega podnebja, tipa zemlje, sezone in proizvodne prakse.

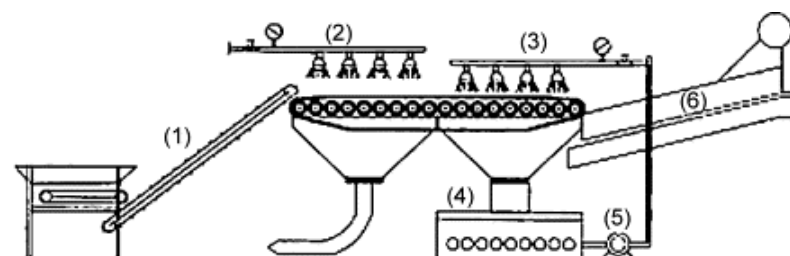
### 2.1 PRINCIP OBDELAVE S TOPLO VODO

Poznana sta dva glavna komercialna načina obdelave s toplo vodo: potapljanje v toplo vodo ter izpiranje in ščetkanje plodov (Fallik, 2004).

Glavne komponente, ki so potrebne za potapljanje v toplo vodo so: posoda za potapljanje sadežev, sistem za kroženje vode, grelec vode ter regulator temperature. Temperatura vode mora biti enaka po vsej prostornini posode, lahko pa je tudi malenkost višja od nastavljene (Fallik, 2004).

Nova tehnologija, ki temelji na kratkem izpiranju in ščetkanju plodov s toplo vodo je bila komercialno vpeljana leta 1996. Da bi izboljšali postopek čiščenja in razkuževanja ter povečali zmogljivost obdelave, so izdelali stroj s precizno kontrolo temperature in natančno določenim časom izpostavljenosti plodov topli vodi. Sveži plodovi se med valjanjem po ščetkah iz srednje mehkih sintetičnih vlaken najprej sperejo z vodo, ogreto na sobno temperaturo. Voda prihaja od vrha skozi šobe pod pritiskom. Na ščetkah se sadje zadržuje 10 sekund, kjer se iz njega odstranijo umazanija, ostanki fitofarmaceutskih sredstev in spore mikroorganizmov. Nato se plodovi po krtačkah odkotalijo naprej, kjer se 10 do 25 sekund spirajo s toplo vodo pod pritiskom, ogreto na 48 °C do 63 °C. Nato sadje potuje v 3 do 4

metre dolg tunel, kjer se 2 minuti suši z zrakom iz ventilatorjev. Poškodbe, ki nastanejo zaradi visokih temperatur, so opazne šele pri temperaturi nad 60 °C. Najboljši rezultati so pridobili pri vrtenju krtačk s 60 obrati/minuto (Fallik, 2004).



Slika 1: Stroj za čiščenje in izpiranje sadja s toplo vodo: (1) tekoči trak; (2) enota za čiščenje in izpiranje; (3) enota za čiščenje in izpiranje s toplo vodo; (4) zbiralnik za vodo; (5) vodna črpalka; (6) tunelsko sušenje (Fallik, 2004)

### 3 VPLIVI OBDELAVE SADJA S TOPLO VODO

Sadje spada med hitro pokvarljive kmetijske proizvode. Pridelani plodovi so rastlinski organi, katerih fiziološke funkcije se precej razlikujejo od funkcij tkiva matične rastline. V procesu zorenja in hkrati staranja plodov se kvaliteta izdelkov poslabša in se hkrati poveča občutljivost za mikroorganizme in mikrobiološki kvar plodov, ki vodi v njihov propad. V tem smislu je zahtevana kakovost sadja odvisna od postopkov, uporabljenih pred in po obiranju sadja. Prav tako ima velik pomen na kakovost plodov veriga od pridelave do skladiščenja, pakiranja, transporta in maloprodaje. Faktorji, ki najpogosteje omejujejo skladiščenje in rok uporabe so: izguba teže, videz, okus/aroma, mikrobiološki kvar in propad plodov. Poleg tega prihaja tudi do mehanskih poškodb sadja, ki pospešijo zgoraj naštet faktorje in posledično prihaja do hitrejšje izgube kakovosti (Valero in Serrano, 2010).

#### 3.1 TRDOTA SADJA

Pogoji med rastjo rastline in dozorevanjem plodov močno vplivajo na kvaliteto plodov, njihovo kemijsko strukturo in izgubo vode po obiranju. V času obiranja je nivo vode v plodovih relativno visok. Po obiranju plod ne more sprejemati vode iz tal, saj je bil prekinjen naravni rastlinski cikel. Poleg tega prihaja do transpiracije vode skozi rastlinsko tkivo, kar vodi v izgubo mase plodov. Tako so pogoji skladiščenja ključnega pomena za vzdrževanje trdote in čvrstosti tkiva. V tem smislu je potrebno zagotoviti optimalne pogoje za shranjevanje posameznih sadnih vrst (Valero in Serrano, 2010). V času skladiščenja se razne celične komponente depolimerizirajo pod vplivom različnih encimov in postajajo vse bolj topne v vodi. Te spremembe vodijo v izgubo trdote, hitrejšje nastanjanje okužb z mikroorganizmi in poveča se možnost pojava gnilobe plodov, kar vodi v izgubo kakovosti

sadja. Dokazali so, da obdelava s toplo vodo zavira izgubo trdote in gnilobo pri jagodi, hruški in breskvi (Yuan in sod., 2013).

### 3.1.1 Melone

Yuan in sod. (2013) so raziskovali, kako potapljanje melon (*Cucumis melo* L.) v toplo vodo vpliva na spremembo trdote tekom skladiščenja. Za vzorec so bile uporabljene melone, pobrane 45 dni po cvetenju iz province Gansu na Kitajskem. Vse so bile enakih oblik, velikosti, zrelosti ter brez fizioloških poškodb in mikrobioloških okužb. Melone so bile pakirane v škatle in transportirane v laboratorij najkasneje v 48. urah po obiranju ter skladiščene pri sobni temperaturi ( $22 \pm 2$  °C in relativni vlažnosti 55–60 %).

Prva skupina melon je bila najprej sprana z vodovodno vodo, nato pa so bile melone potopljene v vodno kopel s temperaturo 53 °C za 3 minute ter posušene na sobni temperaturi ( $22 \pm 2$  °C). Kontrolna skupina pa je bila za 3 minute potopljena zgolj v vodovodno vodo, ki je imela 25 °C. Melone iz obeh skupin so bile pakirane posamezno v plastične vreče in zložene v škatlo. Skladiščene so bile 15 dni pri sobni temperaturi ( $22 \pm 2$  °C) in relativni vlažnosti 55–60 %. Melone so po tretiranju (skladiščenju) prerezali vzdolž ekvatorja. Za merjenje trdote so uporabili napravo duroskop s 3,5 mm cilindrično sondo. Sondo so potisnili v sadje 3–4 mm v bližini lupine ter pri vsakem sadju ponovili meritev petkrat. Eksperiment so izvedli trikrat (Yuan in sod., 2013).

Yuan in sod. (2013) so ugotovili, da je potapljanje melon v toplo vodo močno upočasnilo zmanjševanje trdote plodov v času skladiščenja. Trdota potopljenih melon je bila 6. dan za 21,4 % in 15. dan za 37,8 % višja v primerjavi s kontrolno skupino. Podatki so pokazali, da se je v času padanja trdote plodov pojavnost naravne gnilobe močno zvišala.

### 3.1.2 Banane

Tudi na univerzi na Tajskem so Ummarat in sod. (2011) preučevali spremembo trdote banan tekom skladiščenja. Uporabljeni so bili šopi banan, enakih velikosti, pridobljeni iz kmetije Nong Khae na Tajskem. Zrelost banan je bila 80 % (90 dni po cvetenju). Šopi banan so bili potopljene v toplo vodo s 50 °C za 10 minut. Kontrolna skupina banan je bila potopljena v vodo s sobno temperaturo za 10 minut. Tako kontrolne, kot toplotno obdelane banane so bile pakirane v kartonaste škatle, zaradi simulacije ladijskega transporta in skladiščene pri 25 °C za 10 dni (Ummarat in sod., 2011).

Čvrstost sadne pulpe so merili s penetrometrom z uporabo cilindrične sonde premera 12 mm. Trdota je bila izmerjena kot sila izražena v N (Ummarat in sod., 2011). Rezultati kažejo, da se je trdota sadne pulpe zmanjševala tekom zorenja oz. skladiščenja. Banane, ki so bile potopljene v toplo vodo so po 8. in 10. dnevu bile bolj trde v primerjavi z bananami kontrolne

skupine. Trdota je pri bananah potopljenih v toplo vodo znašala 8. dan  $7,0 \pm 0,1$  N, medtem ko je bila pri kontrolni skupini  $5,2 \pm 0,4$  N. Tako lahko potapljanje v toplo vodo upočasni mehčanje plodov (Ummarat in sod., 2011).

### 3.2 IZLOČANJE ETILENA

Etilen je pomemben rastlinski hormon (Ketsa in sod., 1999). S fiziološkega stališča je sadje glede na izločanje etilena v osnovi razdeljeno na klimakterijsko in neklimakterijsko sadje. Za klimakterijsko sadje je med zorenjem značilna močno povečana stopnja dihanja in biosinteza etilena, medtem ko je pri neklimakterijskem sadju stopnja dihanja relativno visoka, izločanje etilena pa bistveno nižje kot pri klimakterijskem sadju (Valero in Serrano, 2010). Poskusi podaljšanja obstojnosti sadja, so bili bolj v prid tistemu, ki je bil obdelan z toplo vodo, kot neobdelanemu. Zaviranje zorenja s toploto je povezano z učinkom na etilen (Ketsa in sod., 1999).

Pri visokih temperaturah je sinteza etilena reverzibilno inhibirana, vendar sadje, ki je dlje časa izpostavljeno visoki temperaturi, zelo hitro pridobi ponovno sposobnost sinteze etilena (Paull in Jung Chen, 2000). Izpostavitve temperaturam nad  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  lahko povzroči akumulacijo intermedijata 1-aminociklopropan-1-karboksilne kisline (ACC) v tkivu plodov, kar pa znižuje produkcijo etilena (Ketsa in sod., 1999). Dokazali so, da temperature višje od  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  povzročijo akumulacijo endogenega ACC v jabolčnem tkivu ter povzročijo znižano produkcijo etilena. Akumulacija ACC se ne pojavlja pri sadju, ki je dlje časa tretirano z visokimi temperaturami, ali pri sadju, ki je v naravnem okolju izpostavljeno visokim temperaturam (Paull in Jung Chen, 2000).

Pretvorba ACC v etilen je pri temperaturah, višjih od  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , zelo dovzetna za vročinske spremembe. Ugotovili so, da prihaja do hitre izgube encima ACC oksidaze (tudi do 75 %) v papaji in ostalemu sadju, izpostavljenemu krajšemu času temperaturam nad  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . ACC oksidaza, ki je toplotno obstojna, predstavlja v papaji zgolj 25 % celotne ACC oksidaze (Paull in Jung Chen, 2000).

#### 3.2.1 Mango

Ketsa in sod. (1999) so izvedli študijo, s katero so ugotavljali vpliv visoke temperature skladiščenja na biosintezo etilena v mangu. Mango, enakih oblik in barve, je bil razdeljen v dve skupini. Kontrolna skupina plodov je bila direktno izpostavljena temperaturi  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , medtem ko je bila druga tretirana skupina zadržana tri dni v komori z nadzorovano temperaturo  $38 \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter z 95 % relativno vlažnostjo in nato skladiščena na  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  11 dni.

Plodovi, namenjeni merjenju etilena, so bili nato posamično zaprti v steklene kozarce in vzdrževani pri sobni temperaturi. Etilen se je v kozarcih akumuliral eno uro, nato pa so iz

vsakega kozarca odvzeli vzorec zraka in ga analizirali s plinskim kromatografom (Shimadzu G-14A), opremljenim s kolono (Poropak 80/100) in plamensko ionizacijskim detektorjem (Ketsa in sod., 1999).

Ugotovili so, da se je tekom skladiščenja pri 38 °C izločanje etilena stalno zmanjševalo, dokler se po 3. dnevu ni popolnoma ustavilo. Pri kontrolnih plodovih (izpostavljenih temperaturi zgolj 25 °C) se je izločanje etilena do 4. dne stalno povečevalo. Ko so skupino plodov manga odstranili iz toplotne komore (38 °C), se je plodovom postopno povrnila sposobnost tvorbe etilena. Po drugem dnevu, ko plodovi niso bili več v komori, je bila tvorba etilena enaka kot na začetku (ko je bilo sadje pobrano) in 6. dan pri temperaturi 25 °C je proizvodnja etilena dosegla najvišjo stopnjo (Ketsa in sod., 1999).

Na obnovitev sposobnosti proizvodnje etilena vplivajo tudi skladiščne sposobnosti in sorta (Ketsa in sod., 1999).

### 3.2.2 Mandarine

Ghasemnezhad in sod. (2008) so izvedli raziskavo, v kateri so preučevali vplive potapljanja mandarin v toplo vodo in po tretiranju njihovo toleranco na nizke temperature skladiščenja. Hkrati so v tej študiji merili spremembe na ravni metabolitov, med njimi tudi etilena.

Mandarine so bile obrane v Novi Zelandiji, v začetku sezone (april-maj 2005) ter do pričetka poizkusa skladiščene (1 dan po obiranju) pri 15–25 °C. Plodovi so bili uniformnih oblik, velikosti, barve in brez napak. Sadje je bilo potopljeno v vodo s 45, 47,5, 50, 52,5, ali 55 °C za dve ali pet minut. Po obdelavi so bile mandarine ventilacijsko posušene z zrakom s temperaturo 20 °C v času 1 ure in nato skladiščene pri 2 °C za 8 tednov (Ghasemnezhad in sod., 2008).

Po 4. in 8. tednu skladiščenja pri 2 °C je bilo iz vsake skupine mandarin odvzetih šest plodov, ki so bili posamično dani v 0,5 L kozarce. Po dveh urah inkubacije so iz vsakega kozarca odvzeli po 1 mL plina za analizo izločanja etilena. Ugotovili so, da se je izločanje etilena pri toplotno obdelanih mandarinah tekom skladiščenja močno zmanjšano. Med 4. in 8. tednom skladiščenja je prišlo do približno 50 % znižanja izločanja etilena. Pri skupini mandarin, ki so bile potopljene v vodo s 50 °C za 2 minuti in nato skladiščene na hladnem 8. tednov, je bilo izločanje etilena zelo nizko, v primerjavi z ostalimi skupinami (Ghasemnezhad in sod., 2008).

Izločanje etilena in stopnja dihanja pri različno toplotno obdelanih plodovih sta pomembno vplivala na skladiščno sposobnost. Ugotovili so, da sta bila izločanje etilena in pojav poškodb zaradi skladiščenja pri nizki temperaturi (štiri-tedensko skladiščenje pri 2 °C) povezana. Povečano dihanje in izločanje etilena lahko posredno kažeta na pojav poškodb tudi pri na videz zdravemu sadju (Ghasemnezhad in sod., 2008).

### 3.3 OKUŽBE Z MIKROORGANIZMI

Življenjska doba mnogih vrst sadja je omejena zaradi propadanja rastlinskega tkiva, ki se pojavi pod vplivom različnih biotskih stresnih dejavnikov (Di Francesco in sod., 2018). Bolezni, ki povzročijo kvarjenje sadja, se najpogosteje razvijejo zaradi neustreznega transporta in uporabe neustreznih postopkov pred skladiščenjem plodov (Valero in Serrano, 2010). Tekom podaljšanega skladiščenja omogočijo fiziološke spremembe v tkivu mikroorganizmom njihov razvoj (Di Francesco in sod., 2018). Pridelano sadje se lahko okuži pred obiranjem ali pa med transportom in skladiščenjem. Ocenjujejo, da v razvitih državah med pobiranjem in porabo propade 25 % plodov, medtem ko v nerazvitih državah lahko izguba naraste tudi do 70 %. Tako je primerna obdelava pobranega sadja ključnega pomena pri preprečevanju propada plodov. Prisotnost mikroorganizmov ne pomeni nujno pojav bolezni na plodu. Razvoj bolezni bo pospešen, ko bodo nastopili optimalni pogoji za rast mikroorganizmov, ki so odvisni od: temperature, relativne vlažnosti, dostopnosti hranil, ustrezne vrednosti pH ter ostalih pogojev okolja (Valero in Serrano, 2010).

Večino bolezni, ki se razvijejo po obiranju, povzročijo plesni, ki okužijo plodove že na polju med obiranjem ter kasneje vse do prodaje (Di Francesco in sod., 2018). Nizka pH vrednost sadja predstavlja naravno zaščito pred mikrobiološkimi boleznimi, med katerimi so glavni povzročitelji plesni. Kalitev spor in rast micelija sta odvisna od temperature, ki je glavni omejujoč faktor za razvoj bolezni. Optimalna temperatura tekom skladiščenja za rast plesni je od 20 do 25 °C in ni nujno enaka optimalni temperaturi kalitve. Odstopanja od optimalne temperature podaljšajo čas do začetka kaljenja, tvorbe micelija in trajanje inkubacijske dobe bolezni. Nekatere plesni pa ne predstavljajo nevarnosti za zdravje, vendar je takšno sadje vseeno nesprejemljivo in predstavlja veliko ekonomsko izgubo za proizvajalca (Valero in Serrano, 2010). Pri skladiščenju sadja je zahtevana visoka relativna vlažnost, da ne prihaja do izsuševanja sadja in posledično izgube teže. Z visoko vlažnostjo sta stimulirana rast in razvoj patogenov. Propadanje plodov je še okrepljeno z nastajanjem kondenza na površini plodov (Valero in Serrano, 2010). Že dolgo časa so v uporabi fungicidna sredstva, katerih uporaba je postala v zadnjih letih omejena s strani organov Evropske unije. Povpraševanje potrošnikov se vedno bolj nagiba k organsko pridelanemu sadju, sadju brez ostankov fitofarmaceutskih sredstev (Di Francesco in sod., 2018).

Med alternativnimi metodami za nadzor bolezni pred skladiščenjem plodov sta postala vroča voda in vroč zrak, ki veljata za najbolj obetavne metode obdelave (Di Francesco in sod., 2018). Obdelava s toplo vodo je eden iz med ne-konvencionalnih pristopov za kontrolo bolezni, ki se pojavljajo po obiranju plodov. Konvekcijsko ogrevanje medija (vode) doseže dober nadzor nad površinskim pojavom plesni, saj ta metoda začasno odpravlja okužbo tako, da deluje neposredno na sposobnost preživetja spor in njihovo sporulacijo (Fallik, 2004). Pomembna je uporaba ustrezne temperature in časa, da preprečimo možno izgubo kvalitete plodov. Uporaba previsoke temperature za daljši čas obdelave lahko poškoduje plodove in

vpliva na hranilno in senzorično kvaliteto plodov (Vilaplana in sod., 2018). Simptomi zaradi previsoke temperature, vidni takoj ali skozi daljše skladiščenje, običajno vključujejo zunanje poškodbe, kot na primer rjavenje povrhnjice, brazgotine na površini plodov, porjavelost stebel in listov. Lahko se pojavijo tudi notranje poškodbe, kot so porjavenje mesa, izguba vode in izguba sposobnosti za normalno zorenje (Usall in sod., 2016).

### 3.3.1 Ekološko pridelane banane

Banane so osmo najpomembnejše živilo na svetu ter ocenjene kot prva najpomembnejša kmetijsko-živilska pridelovalna surovina v Ekvadorju, kjer ekološko pridelane banane predstavljajo 3 % celotne državne proizvodnje banan (Vilaplana in sod., 2018). Banane so klasificirane kot tropsko klimakterijsko sadje. Tekom skladiščenja so izpostavljene številnim limitirajočim dejavnikom, ki lahko hitro vplivajo na poslabšanje kvalitete ter vodijo v višjo pojavnost gnilobe. Dovzetne so tudi za več vrst bolezni, ki jih povzročajo plesni in kvasovke (Vilaplana in sod., 2018).

Antraknoza, povzročena zaradi rastlinske plesni *Colletotrichum musae*, je ena najbolj uničujočih bolezni, saj povzroči od 30 do 40 % izgubo pridelanega sadja. Tekom transporta in skladiščenja predstavlja največje tržne izgube. Gre za prikrito (latentno) okužbo, saj plesen okuži nezrele plodove banan že na polju. Glavni vidni simptomi okužbe banan so rjave lise različnih velikosti na lupini, ki znižajo kvaliteto sadja (Vilaplana in sod., 2018). Danes po obiranju zmanjšujejo nastanek poškodb zaradi *C. musae* z uporabo fungicidov (tiabendazol, imazalil, prokloraz) ter s hlajenjem tekom transporta (Bazie in sod., 2014). Uporaba fungicidov je široko razširjena po svetu, saj ti produkti niso dragi ter so enostavni za uporabo. Imajo tudi preventivne učinke proti pojavu novih infekcij. Uporaba velikih koncentracij fungicidov skozi daljše časovno obdobje lahko pri patogenu inducira odpornost. Poleg tega v ospredje prihaja skrb, da bi lahko bili plodovi, z ostankom fungicidov, škodljivi za človeško zdravje. Zaradi potencialne nevarnosti za človeka in odpornosti gliv na fungicide, se je ustvarila potreba po razvoju varnejših in novejših metod za kontrolo bolezni. Pri tem se pričakuje, da bodo alternativne metode vključevale tudi zmanjšanje tveganja, povezanega z uporabo in zlorabo fungicidov za ljudi, živali in okolje (Vilaplana in sod., 2018).

Vilaplana in sod. (2018) so izvedli študijo, v kateri so se osredotočili na iskanje primerne kombinacije temperature in časa pri potapljanju ekološko pridelanih banan v toplo vodo, ki bi optimalno zmanjšala simptome okužbe z antraknozo in podaljšala življenjsko dobo banan skozi daljše skladiščno obdobje. Želeli so tudi ugotoviti ali potapljanje v toplo vodo vpliva na fizikalno-kemijske ter senzorične parametre ekološko pridelanih banan.

Ekološko pridelane banane (*Musa acuminata*) so bile obrane s komercialnega nasada v Los Ríosu v Ekvadorju in takoj prenesene v laboratorij. Izbrani so bili plodovi enakih velikosti,



oblik, barve, 11-12 tednov po cvetenju ter brez fizioloških poškodb (Vilaplana in sod., 2018). *Colletotrichum musae* sev HBAN-18 je bil izoliran ter identificiran iz okužene banane v laboratoriju za živilsko tehnologijo in biokemijo v Ekvadorju. Kultura je bila vzdrževana na krompirjevem dekstroznem agarju (PDA), inkubacija je potekala pri 25 °C 10 dni. S površine kulture so bile odstranjene spore in suspendirane v 5 mL destilirane vode z 0,05 % Tween 80 ter nato filtrirane skozi štiri plasti sterilnega filtra z namenom, da se odstranijo vsi delci micelija. Koncentracijo spor *C. musae* HBAN-18 so določili z uporabo hemocitometra in jo uravnali na 10<sup>6</sup> spor/mL z dodatkom destilirane vode (Vilaplana in sod., 2018).

Oprani šopi banan so bili ločeni na posamezne banane. Banane so potopili v tank, v katerem je krožila voda. Nato so bile oprane s 5 % natrijevim hipokloridom, zopet oprane z vodovodno vodo in osušene na zraku pri sobni temperaturi. Površinsko očiščene banane so bile inokulirane dvakrat na ekvatorialni coni 3 mm globoko. Za vsako inokulacijo je bila aplicirana enaka količina suspenzije *C. musae* HBAN-18 (20 µL) s koncentracijo 10<sup>6</sup> spor/mL. Nato so bile banane osušene na zraku za dve uri (Vilaplana in sod., 2018).

Banane inokulirane z *C. musae* so bile razdeljene v 14 skupin, glede na temperaturo in čas obdelave.

Preglednica 1: Skupine banan pri toplotni obdelavi (Vilaplana in sod., 2018).

Skupina banan	Temperatura obdelave (°C)	Čas obdelave (min)
1. kontrolna skupina		
2. tretirane s sintetičnim fungicidom imazalil (0,6 g/L)		
Banane potopljene v vročo vodo :		
3.	40	1
4.	40	5
5.	40	10
6.	40	20
7.	45	1
8.	45	5
9.	45	10
10.	45	20
11.	50	1
12.	50	5
13.	50	10
14.	50	20

Pri vsaki obdelavi so uporabili 10 banan in vsak poskus se je pri določeni temperaturi in času ponovil štirikrat. Po obdelavi so bile vse banane skladiščene pri 13 °C in 90 % relativni vlažnosti 21 dni, da bi se izognili poškodbam zaradi prenizkih temperatur. Nato so jih skladiščili še 7 dni na 20 °C da bi pospešili življenjski cikel plodov. Dinamiko gnilobe so spremljali z merjenjem premera (mm) lezije (poškodbe), povzročene zaradi *C. musae*

HBAN-18, kot povzročitelja kvara, po 7., 14. in 21. dnevu skladiščenja. Analize so bile ponovljene dvakrat (Vilaplana in sod., 2018).

Študija je pokazala, da sta gniloba in življenjski cikel tkiva banan pri vseh načinih obdelave kazala vzorec linearnega naraščanja tekom skladiščenja, čeprav se je pojavnost antraknoze zmanjšala pri bananah, ki so bile potopljene v vodo s 40 °C za 20 minut. Po 14. dneh skladiščenja je bil premer lezij pri kontrolni skupini in skupini banan, ki so bile potopljene v vodo s 50 °C močno povečan v primerjavi z ostalimi skupinami. Na koncu skladiščenja, torej 21. dan, so banane potopljene v vodo s 40 °C za 20 min pokazale 59,3 % zmanjšanje bolezní, medtem ko tiste, ki so bile tretirane s sintetičnim fungicidom pokazale 66,5 % zmanjšanje. Pri sadju obdelanem z imazalilom je prihajalo tudi do manjšega propadanja plodov. Ostali postopki obdelave banan s toplo vodo niso tako močno zmanjšali pojavnost bolezní. Premer lezij pri bananah potopljenih v vodo s 50 °C za 10 min je bil celo večji od premera lezij pri kontrolni skupini. Po sedmih dneh skladiščenja pri 20 °C so banane potopljene v vodo s 40 °C za 20 min kazale 44,7 % zmanjšanje bolezní, medtem ko tiste, ki so bile obdelane s sintetičnim fungicidom 59,0 % zmanjšanje. Druge obdelave s toplo vodo niso bile tako učinkovite (Vilaplana in sod., 2018). Ti rezultati so nasprotovali tistim, ki so jih dobili De Costa in Erabadupitiya (2005), ko so banane, skladiščene pri 25 °C, do razvoja antraknoze kazale najnižjo pojavnost bolezní pri izpostavitvi 50 °C za 3 min. Alvindia (2012) je v in vitro študiji ugotovila, da prihaja do najvišjega znižanja premera kolonij *C. musae* pri bananah potopljenih v vodo s 55 °C za 50 min, vendar je ta obdelava povzročila poškodbe in porjavenje olupka ter hitrejše mehčanje plodov banane.

V tej študiji je sadje potopljeno v vodo s 40 °C za 20 min pokazalo podobno izgubo teže, kot sadje obdelano s sintetičnim fungicidom do 21. dneva skladiščenja. Izguba teže je bila pri obeh postopkih obdelave nižja v primerjavi z ostalimi postopki. Prav tako so dosegli največje zmanjšanje pojavnosti antraknoze pri tej temperaturi in času. Delež zmanjšanja pojavnosti bolezní je bil primerljiv z deležem pri bananah obdelanih s sintetičnim fungicidom (Vilaplana in sod., 2018).

### 3.3.2 Jabolka

Jabolka so pogosto skladiščena pri nizkih temperaturah in v kontrolirani atmosferi. V tem času se lahko pojavijo različne fiziološke in mikrobiološke spremembe, med drugim tudi gniloba. *Penicillium expansum* (LINK) Thom je ena izmed najpomembnejših plesni, ki povzroča propad skladiščenih jabolk v Izraelu (Fallik in sod., 2001). Okužena območja na površini plodov so mehkejša, bolj vodena, nežno rjave barve. Starejše lezije so lahko pokrite z modro-zelenimi sporami, ki so na začetku skoraj snežno bele barve (Errampalli, 2004). Okužba se lahko zgodili celo pri 0 °C in čeprav propad pri nizkih temperaturah napreduje zelo počasi, se lahko hitro razvije, ko sadje prinesemo v toplejše okolje (Fallik in sod., 2001). Poleg razpadanja plodov lahko patogen v nekaterih primerih proizvaja tudi rakotvorni mikotoksin patulin. Uporaba fungicidov takoj po obiranju jabolk je postala pomembna

strategija pri podaljšanju njihove skladiščne dobe. V Severni Ameriki jabolka pri komercialnem postopku skladiščenja v roku enega dneva po obiranju tretirajo s fungicidom tiobendazolom in tako preprečijo oz. omilijo propadanje plodov (Errampalli, 2004).

Za čiščenje in dezinfekcijo sveže obranih plodov so se v zadnjih letih razvile inovativne tehnologije, ki temeljijo na kratkotrajnem ščetkanju in izpiranju plodov. Ta tehnologija je bila zasnovana z namenom, da je del sortirne linije in je komercialno uporabna v Izraelu pri obdelavi paprike, melon, manga, ličija ter ekološko pridelanega grozdja (Fallik in sod., 2001).

Fallik in sod. (2001) so preučevali vpliv kratkotrajnega ščetkanja in izpiranja jabolk v primerjavi s suho toplotno obdelavo na propadanje plodov okuženih s *Penicillium expansum* (LINK) Thom.

Jabolka sorte Zlati delišes so bila obrana v komercialnem nasadu. Plodovi enakih oblik, velikosti in barve so bili razdeljeni v dve enaki skupini s po 25 plodov. Kontrolna skupina jabolk ni bila inokulirana s *P. expansum* (LINK) Thom, medtem ko so bila ostala jabolka inokulirana na dveh straneh, s pikom globine in premera 1,5 mm. Vsaka stran jabolka je bila inokulirana s 40  $\mu$ L suspenzije spor s koncentracijo  $10^5$  spor/mL. Po inokulaciji so bili plodovi hranjeni na pladnjih in pokriti s plastično vrečko za 6 h pred suho ali mokro toplotno obdelavo (Fallik in sod., 2001).

Suha vročinska obdelava je po opisu Fallika in sod. (2001) potekala znotraj temperaturno regulirane komore 96 h pri 38 °C. Ščetkanje in izpiranje plodov pa je potekalo na vrtljivih ščetkah in z vodo temperature 50, 55, 60 in 65 °C $\pm$ 1°C za 15 s. Nato so jabolka sušili na zraku (temp. 20-22 °C) približno 20 min.

V vzporednih poskusih je bilo spontano okuženo sadje bodisi oprano takoj po pobiranju pri enakih temperaturah kot zgoraj ali pa je bilo zadržano na temp. 38 °C za 96 h. Pri obeh eksperimentih je bilo sadje skladiščeno pri 20 °C, 4 tedne pri 90 % relativni vlažnosti ali na 1 °C za 4 mesece in nato 10 dni na 20 °C. Neobdelana jabolka (sprana z vodovodno vodo) so služila kot kontrolni vzorec (Fallik in sod., 2001).

Suha toplotna obdelava sadja pri 38 °C za 96 h ter spiranje in ščetkanje plodov pri 55 °C za 15 s je močno znižalo pojav propadanja plodov zaradi *P. expansum* v primerjavi z ostalimi režimi obdelave. Suha toplotna obdelava (38 °C, 96 h) je še močneje zavrla propadanje plodov v primerjavi z izpiranjem in ščetkanjem plodov. Pojavnost poškodb je bila pri mokri obdelavi za 3 % višja v primerjavi s suho obdelavo. Oba postopka obdelave sta po štirih mesecih skladiščenja pri 1 °C močno preprečila propadanje plodov. Kakorkoli, med obema postopkoma obdelave ni bilo opaziti bistvenih razlik. Visok delež propadanja plodov so opazili pri jabolkih, ki so jih spirali in ščetkali pri 65 °C. Obseg poškodb se ni razlikoval od

obsega poškodb pri kontrolni skupini. Poleg obdelave pri 60 °C in 65 °C, noben drug postopek ni povzročil poškodb zaradi previsokih temperatur (Fallik in sod., 2001).

Preprosta obdelava ščetkanja in izpiranja plodov je pokazala, da znižuje propadanje plodov tekom skladiščenja, zato bi lahko uspešno nadomestila preveč dolgotrajno suho toplotno obdelavo (Fallik in sod., 2001).

Preglednica 2: Pojavnost poškodb jabolk Zlati delišes ob inokulaciji s *P. expansum* (Fallik in sod., 2001).

Obdelava	Pojavnost poškodb (%)	Trdota (N)	Temperaturne poškodbe (%)
Takoj po obiranju			
Kontrolna skupina	0	79±2,9	0
Po 4 mesecih pri 1 °C + 10 dni pri 20 °C			
Kontrolna skupina	15±1,8	49±1,8	0
20 °C	10±1,4	50±1,8	0
50 °C	8±0,8	52±1,4	0
65 °C	4±1,8	54±1,9	0
60 °C	18±1,7	49±0,8	40±2,1
65 °C	23±1,9	48±0,8	85±1,6
38 °C za 96 h	4±1,6	57±3,4	0

### 3.4 ENCIMSKA AKTIVNOST

Sadje vsebuje številne snovi, ki niso hranilne, vendar imajo specifično biološko aktivnost, zato jih splošno imenujemo biološko aktivne komponente. Mednje spadajo tudi snovi z antioksidativnim delovanjem. Beseda antioksidant postaja čedalje bolj sprejeta v sodobni družbi, zaradi predstavljenih zdravju koristnih učinkov. Antioksidanti so sintetične oz. naravne substance, ki preprečujejo oziroma zavirajo oksidacijo v biološkem sistemu. Mednje spadajo tudi encimi z antioksidativnim delovanjem. Ti nevtralizirajo presežke reaktivnih kisikovih spojin (ROS), ki bi lahko poškodovale celične stene (Valero in Serrano, 2010). Prenasičenost rastlinskega tkiva z ROS lahko zmoti normalno delovanje metabolizma s porušenjem celičnih sten, peroksidacijo lipidov, oksidacijo DNA in proteinov, kar vodi v celično smrt. Da vzdržujejo ravnovesje ROS, so rastline razvile kompleksne sisteme, ki vključujejo encimske antioksidante ter druge presnovke (Huan in sod., 2017). Primeri encimov, ki neposredno odstranjujejo reaktivne kisikove spojine so superoksid dismutaze, katalaze in različne peroksidaze (Valero in Serrano, 2010).

Uporaba potapljanja sadja v toplo vodo, bi lahko znižala poškodbe, ki se pojavijo pri skladiščenju zaradi prenizkih temperatur in propadanje le tega. Na celičnem nivoju se zgodijo prvi odzivi na nizke temperature, ki se odražajo v spremembi strukture celične membrane, kar posledično vpliva na njeno permeabilnost. Sekundarne reakcije se opazijo kot zmanjšanje elektrolitov v celičnih tekočinah, zmanjšanje presnove in na koncu liza celic (Shadmani in sod., 2015).

Sadje izpostavljeno prenizkim ali previsokim temperaturam proizvaja več ROS, ki povzročijo oksidativne poškodbe (Shadmani in sod., 2015). Med ROS štejemo visoko reaktivne proste radikale, z enim ali več prostimi elektroni, kot so superoksidni anioni, hidroksilni radikali ter peroksilni radikali (Valero in Serrano, 2010). Ko so rastline za nekaj časa izpostavljene šibkemu oksidativnemu stresu, ta stres prilagodi raven antioksidantov in povzroča odpornost pri nadaljnjih, lahko tudi resnejših stresih. Aktivnost encimskih antioksidantov katalaze, askorbat peroksidaze ter superoksid dismutaze je povezana s toleranco na nizke temperature in preprečevanjem poškodb pri hlajenju (Shadmani in sod., 2015).

### 3.4.1 Papaja

Izvozni potencial papaje je danes močno omejen zaradi njene hitro pokvarljive narave in s tem povezanega omejenega roka trajanja. Zaradi poškodb, ki nastanejo pri nizkih temperaturah hlajenja ter hitrega poslabšanja kakovosti tekom transporta in skladiščenja prihaja do velikih izgub po obiranju in med skladiščenjem. Nizke temperature pri transportu in skladiščenju sicer zavirajo proces zorenja vendar hkrati povzročajo fiziološke poškodbe.

Shadmani in sod. (2015) so želeli ugotoviti vpliv obdelave papaje s toplo vodo in nato dveh različnih skladiščnih temperatur (6 in 12 °C) na pojav poškodb ter na aktivnost encimskih antioksidantov tekom skladiščenja plodov.

Papaja (*Carica papaya* L Frangi), z manj kot 10 % rumene povrhnjice, je bila obrana s komercialnega nasada na kmetiji v Lanchanhu v Maleziji. Sadeži so bili nato v treh urah po obiranju preneseni do laboratorija na Fakulteti za kmetijstvo, Univerza Putra v Maleziji. Izbrani so bili nepoškodovani plodovi uniformnih oblik, velikosti (450-550 g) in brez poškodb (Shadmani in sod., 2015).

Izvedli so dvojno toplotno obdelavo. Najprej so sadje potopili v vodo s temperaturo 42 °C za 30 minut in takoj za tem v vodo s temperaturo 49° C za 20 minut. Potapljanje je bilo izvedeno v vodni kopeli s termostatsko vzdrževano temperaturo. Med obdelavo so s termometrom izmerili središčno temperaturo plodov, ki se je po drugem potapljanju dvignila na 46,3 °C. Tako toplotno obdelani plodovi, kot kontrolna skupina plodov (plodovi niso bili potopljani v toplo vodo) so bili po koncu obdelave potopljani v fungicid Folicur za 60 sekund in nato ohlajeni na sobni temperaturi (25±2 °C) za 20 minut. Encimi so bili določeni enkrat tedensko tekom skladiščenja tako za temperaturo 6 °C kot za 12 °C pri 85-90 % relativni vlažnosti. Vzorci so bili analizirani tudi pred skladiščenjem in ta meritev je predstavljala teden 0 (Shadmani in sod., 2015).

### Encimske analize:

**Katalaza:** Za ekstrakcijo encimov so bili vzorci sadja prineseni iz skladišča in takoj zamrznjeni na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  dokler niso na njih bile izvedene meritve. Za analizo so 1 gram papajine pulpe prelili s tekočim dušikom in ga zmleli v terilnici. Katalazna aktivnost je bila izmerjena na osnovi predhodno opisanih metod z nekaterimi modifikacijami. Ekstrakcijski pufer je vseboval 5 mL 50 mM natrijevega fosfatnega pufera (pH 7,0). Reakcijska zmes (1 mL) je vsebovala 500  $\mu\text{L}$  100 mM natrijevega fosfatnega pufera (pH 7,8), 150  $\mu\text{L}$  encimskega ekstrakta, 250  $\mu\text{L}$  destilirane vode in 100  $\mu\text{L}$  50 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Zmes je bila homogenizirana 15 min pri  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Reakcija se je pričela z dodatkom 100  $\mu\text{L}$  50 mM vodikovega peroksida. S spektrofotometrom so nato izmerili absorbanco pri 240 nm. Ena enota encimske aktivnosti je bila definirana kot 1  $\mu\text{mol}$  oksidiranega  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{mL}/\text{min}$  pri  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Rezultati so bili izraženi kot encimske enote na gram sveže teže (U/g FW). Katalazno aktivnost so izračunali z uporabo ekstinkcijskega koeficienta 39,4 mM/cm (Shadmani in sod., 2015).

**Superoksid dismutaza:** Vzorce so ekstrahirali s 5 mL ekstrakcijskega pufera, ki je vseboval 5 mL 50 mM natrijevega fosfatnega pufera (pH 7,8). Homogenizacija je potekala pri 10,000  $\times$  g 15 min pri  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Za analizo so uporabili analizni komplet SOD (Cell Technology Inc., USA), s katerim so naredili tudi umeritveno krivuljo. Določili so absorbanco pri 450 nm s pomočjo čitalca mikrotitrstkih plošč (Labomed, UVD-2950, Power Wave X 340, Biotek Instruments Inc., USA). Pod temi pogoji analize 1 enota aktivnosti SOD inhibira povečanje absorbance (inhibicija redukcije WST-1 v vodotopni formazan) pri 440 nm za 50 %. Delež inhibicije poskusnega vzorca je koreliral z aktivnostjo superoksid dismutaze z uporabo standardne krivulje. Rezultat je bil izražen kot U/g FW (Shadmani in sod., 2015).

**Askorbat peroksidaza:** Vzorce so ekstrahirali s 5 mL ekstrakcijskega pufera. Ekstrakcijski pufer je vseboval 250  $\mu\text{L}$  50 mM natrijevega fosfatnega pufera (pH 7), 50  $\mu\text{L}$  1 mM L-askorbinske kisline, 5  $\mu\text{L}$  0,1 M etilendiamintetraoetne kisline in 1 % polivinilpoliprolidona. Zmes je bila homogenizirana pri 10 000  $\times$ g za 15 min pri  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Askorbat peroksidazna aktivnost je bila analizirana po predhodno objavljenih metodah z nekaterimi modifikacijami. Reakcijska zmes je vsebovala 500  $\mu\text{L}$  100 mM natrijevega fosfatnega pufera (pH 7), 100  $\mu\text{L}$  5 mM L-askorbinske kisline, 250  $\mu\text{L}$  destilirane vode, 50  $\mu\text{L}$  encimskega ekstrakta in 100  $\mu\text{L}$  1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Končni reakcijski volumen je bil prilagojen na 1 mL in askorbat peroksidazna aktivnost je bila izmerjena na podlagi oksidacije askorbata pri 290 nm. Reakcija se je pričela ob dodatku 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ena enota encimske aktivnosti je bila definirana kot 1  $\mu\text{mol}$  oksidiranega askorbata/mL min pri  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Rezultat je bil izražen kot U/g FW. Aktivnost askorbat peroksidaze je bila izračunana z uporabo ekstinkcijskega koeficienta 2,8 mM/cm (Shadmani in sod., 2015).

Katalaza je encim, ki ščiti celice pred ROS, saj katalizira razgradnjo vodikovega peroksida v kisik in vodo. Katalazna aktivnost je pri kontrolni skupini sadja zelo nihala tekom

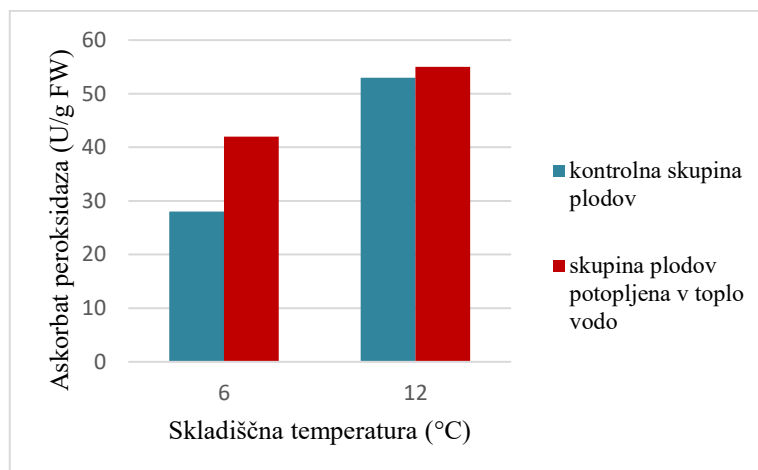
skladiščenja. To so Shadmani in sod. (2015) povezovali s povišanjem koncentracije vodikovega peroksida v sadju tekom skladiščenja. Katalazna aktivnost se je iz tedna 0 v teden 1 zmanjšala, nato pa se je konstantno povečevala do 2. tedna. Iz 2. v 3. teden skladiščenja se je katalazna aktivnost občutno zmanjšala. Povečanje katalazne aktivnosti bi lahko bila posledica razgradnje vodikovega peroksida, kar je povzročilo tvorbo hidroksilnih radikalov in lajšanje poškodb induciranih zaradi nizkih temperatur skladiščenja. Spremembe v katalitski aktivnosti med različnima temperaturama skladiščenja odražajo fiziološke spremembe, ki so vezane na funkcijo antioksidativnega sistema v sadju.

Tekom 1. tedna skladiščenja se je aktivnost superoksid dismutaze povečevala in nato znatno padala do 2. tedna skladiščenja. V 2. in 3. tednu je prišlo zopet do povečane aktivnosti. Shadmani in sod. (2015) so v svojih rezultatih navedli, da pojav poškodb pri papajinih plodovih ni povsem koreliral s produkcijo superoksid dismutaze. Zmanjšanje poškodb med 2. in 3. tednom skladiščenja pri 12 °C pa vseeno povezujejo s povečanjem aktivnosti superoksid dismutaze. Izboljšana aktivnost po 2. tednu skladiščenja pri 12 °C bi lahko inhibirala akumulacijo superoksidnih radikalov in s tem posledično vplivala na zmanjšanje poškodb rastlinskega tkiva.

Tudi aktivnost askorbat peroksidaze je padala iz 1. tedna proti 3. tednu pri papaji skladiščeni pri temperaturi 6 °C. Najvišja opažena aktivnost askorbat peroksidaze je bila v 3. tednu skladiščenja pri 12 °C. Posledično je bilo v 3. tednu opaženo tudi zmanjšanje poškodb povrhnjice plodov papaje. Shadmani in sod. (2015) navajajo možnost, da je prišlo pri skladiščenju pri 12 °C do sinteze izoformnih oblik askorbat peroksidaze, ki so znižale koncentracijo vodikovega peroksida in posledično ščitile papajo pred oksidativnim stresom. Slika 2 kaže na to, da je razlika v aktivnosti askorbat peroksidaze med kontrolno in toplotno obdelano skupino papaj višja pri 6 °C skladiščenja. V tem grafu so zbrani podatki treh ponovitev vzorčenja. Kontrolna skupina plodov, skladiščena pri 12 °C je pokazala znatno višjo askorbat peroksidazno aktivnost v primerjavi s kontrolno skupino skladiščeno pri 6 °C. Visoka stopnja aktivnosti askorbat peroksidaze, inducirane tekom hladnega skladiščenja, ima lahko pomembno vlogo pri zniževanju nastanka poškodb zaradi nizkih temperatur.

Povečana aktivnost antioksidativnih encimov, ki jih povzročajo toplotne obdelave, lahko ščiti plodove pred poškodbami, ki nastanejo zaradi prenizkih temperatur skladiščenja in posledično spodbudi nastanek tolerance na nizke temperature. Znano je, da tekom zorenja pri optimalni temperaturi nastajajo prosti radikali, ki povzročijo negativne spremembe, vezane na propadanje plodov. Skladiščenje pri nizkih temperaturah zavira normalen proces zorenja in tvorbo prostih radikalov. Poškodbe rastlinskih tkiv, povezane z ROS, naraščajo ob stresnih situacijah, kot so nizke temperature skladiščenja v primeru večine tropskega sadja. Sadje potopljeno v toplo vodo in skladiščeno pri 6 °C je pokazalo znatno nižjo pojavnost poškodb zaradi prenizke temperature in hkrati višjo askorbat peroksidazno aktivnost. Ti rezultati so pokazali, da toplotna obdelava spodbudi aktivnost encimov z

antioksidativnim delovanjem. Vzajemno delovanje katalaze, superoksid dismutaze in askorbat peroksidaze je ključno za preživetje celic med hlajenjem (Shadmani in sod., 2015).



Slika 2: Vpliv temperature skladiščenja in tople vode na aktivnost askorbat peroksidaze (Shadmani in sod., 2015).

### 3.4.2 Mandarine

Vežano na poglavje 3.2.2 so Ghasemnezhad in sod. (2008) preučevali različne parametre, ki so se spreminjali med skladiščenjem mandarin pri nizkih temperaturah. Pri mandarinah potopljenih v toplo vodo so merili tudi katalazno in peroksidazno aktivnost ter ju primerjali z aktivnostjo obeh encimov pri toplotno ne obdelani skupini sadja.

Ghasemnezhad in sod. (2008) so takoj po toplotni obdelavi mandarin in na koncu skladičenja odvzeli vzorce tkiva treh mandarin (iz vsake skupine) ter jih shranili pri  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  za nadaljnje encimske analize. Katalazna in peroksidazna aktivnost sta bili določeni spektrofotometrično (SpectraMax 384) in izraženi kot nanokatalitska aktivnost/kg. Katalazno aktivnost so izračunali z uporabo ekstinkcijskega koeficienta  $2600\text{ mmol/m}$  pri  $470\text{ nm}$ , peroksidazno aktivnost pa z ekstinkcijskim koeficientom  $3940\text{ mol/m}$  pri  $270\text{ nm}$ . Vsebnost beljakovin so v vsakem vzorcu določili ob uporabi govejega serumskega albumina kot standarda (Ghasemnezhad in sod., 2008).

Tekom osemnedenskega skladiščenja pri  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$  je bilo opaziti upadanje katalazne aktivnosti, medtem ko je peroksidazna aktivnost naraščala. Katalazna in peroksidazna aktivnost sta se po potapljanju v toplo vodo močno spremenili. Z naraščajočo temperaturo vode, v katero so bile potopljene mandarine, se je aktivnost peroksidaze takoj po potapljanju povečevala tako, da je bila najvišja aktivnost povezana s sadjem, potopljenim v vodo pri  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  za 2 ali 5 minut. Kontrolna skupina je imela v skupnem seštevku najnižjo peroksidazno aktivnost. Najvišja peroksidazna aktivnost je bila pri mandarinah potopljenih v vodo s  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  za 5 minut. To Ghasemnezhad in sod. (2008) povezujejo s tem, da so bile na teh mandarinah



vidne najbolj intenzivne poškodbe lupine po toplotni obdelavi in skladiščenju na hladnem. Tudi katalazna aktivnost se je s povišano temperaturo zviševala, vendar je pri mandarinah potopljenih v vodo s 55 °C po 8. tednih skladiščenja prišlo do zmanjšanja aktivnosti. Ghasemnezhad in sod. (2008) ugotavljajo, da višja katalitična aktivnost ni bila v korelaciji z odpornostjo proti nastanku poškodb pri nizkih temperaturah.

Skladiščenje mandarin 8 tednov pri 2 °C je povzročilo zmanjšanje aktivnosti katalaze, medtem ko se je aktivnost peroksidaze nekoliko povečala. Na splošno se aktivnost encimskih antioksidantov poveča, ko je nivo oksidanta povečan s stresom iz okolice. Zato je bila višja peroksidazna aktivnost odgovor na stres, ki ga je povzročila previsoka temperatura obdelave. Visoko peroksidazno aktivnost mandarin potopljenih v vodo s 55 °C za 5 min Ghasemnezhad in sod. (2008) povezujejo s hudimi poškodbami lupine mandarin.

### 3.4.3 Breskev

Breskev je klimakterijsko sadje, ki pri sobni temperaturi začne zelo hitro propadati. Njeno zorenje in senescenca predstavljata hiter potek oksidacije preko tvorbe reaktivnih kisikovih spojin, kot sta superoksidni radikal ( $O_2^-$ ) ter vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ). V tej študiji so Huan in sod. (2017) raziskovali učinek izpostavitve breskev toplemu zraku ali topli vodi na metabolizem teh dveh ROS tekom hladnega skladiščenja breskev.

Breskve (*Prunus persica* L. cv. Xiahui 5) so zrasle na nasadu Akademije za kmetijstvo in znanost v Nanjingu na Kitajskem. Za potrebe eksperimenta je bilo obranih približno 800 breskev, uniformnih oblik in velikosti, brez bolezenskih znakov, 100 dni po popolnem cvetenju. Obrani plodovi so bili naključno razporejeni v skupine s po 250 plodov in izbrani za tri vrste obdelav (Huan in sod., 2017).

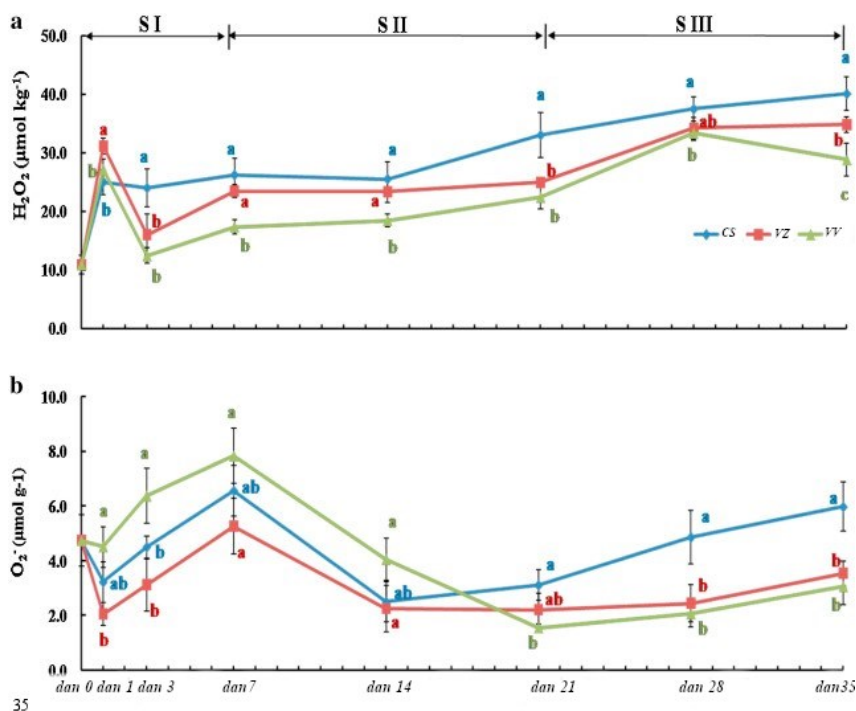
Prva skupina plodov je bila kontrolna. Ta ni bila obdelana, ampak je bila zgolj skladiščena pri  $4 \pm 0,5$  °C in 85-90 % vlažnosti 5 tednov. Druga skupina je bila izpostavljena toplemu zraku. Sadje je bilo v inkubatorju s temperaturo zraka 38° C za 3 h in nato skladiščeno pri  $4 \pm 0,5$  °C in 85-90 % vlažnosti 5 tednov. Inkubator je bil opremljen s sistemom stalnega kroženja zraka in termostatsko kontrolo temperature. Tretja skupina plodov je bila potopljena v vodo z 48 °C za 10 min. Po eni uri sušenja na sobni temperaturi je bilo sadje nato tudi skladiščeno pri  $4 \pm 0,5$  °C in 85-90 % vlažnosti 5 tednov (Huan in sod., 2017).

Breskve so bile vzorčene posamično 1., 3. in 7. dan skladiščenja in nato v intervalu sedmih dni. Za vsak časovni interval je bilo odvzetih 30 vzorcev, 10 iz vsake skupine. Koncentracija  $O_2^-$  je bila izmerjena po metodi Xu in sod. (2012). Za izračun koncentracije superoksidnega radikala je bila uporabljena standardna krivulja z  $NaNO_2$ . Koncentracija  $O_2^-$  radikalov je bila izražena v nmol/kg sveže teže. Koncentracija  $H_2O_2$  je bila izmerjena po metodi Pattersona in sod. (1984) in izražena v  $\mu$ mol/kg sveže teže (Huan in sod., 2017).

Koncentracija  $H_2O_2$  je pri kontrolni skupini breskev po 1. dnevu močno narasla, nato pa se je do 14. dneva skladiščenja ohranjala bolj ali manj konstantna vsebnost  $H_2O_2$ . Do konca skladiščenja se je nato vsebnost rahlo povečevala. Obdelava z vročim zrakom je najprej spodbudila nastanek večje količine  $H_2O_2$ , nato pa je vrednost močno padla. Koncentracija  $H_2O_2$  se je pri breskvah izpostavljenih toplemu zraku znižala za 13 % v primerjavi s kontrolno skupino, pri obdelavi s toplo vodo pa za 28 % (Huan in sod., 2017).

Koncentracija  $O_2^-$  se je v plodovih kontrolne skupine v zgodnji fazi zorenja (od 0 do 7 dneva skladiščenja) postopno povečevala, nato pa se je v naslednjem tednu močno znižala in zopet povečala do konca skladiščenja. Obdelava s toplo vodo je do 7. dne močno povečala koncentracijo  $O_2^-$ , nato pa se je ta do konca skladiščenja znižala pod nivo koncentracije  $O_2^-$  pri kontrolni skupini. Ta je bila ob koncu skladiščenja najnižja (Huan in sod., 2017).

Uporaba toplega zraka ali vode je ohranjala kvaliteto plodov, znižala vsebnost ROS ter spodbudila antioksidativno sposobnost breskev, skladiščenih pri nizkih temperaturah. Vendar je uporaba tople vode bolj učinkovito znižala vsebnost ROS v primerjavi z uporabo toplega zraka. Huan in sod. (2017) navajajo, da bi bile potrebne še nadaljnje študije časovnega in temperaturnega režima potapljanja plodov v vodo, da bi dosegli še večjo učinkovitost te metode.



Slika 3: Koncentracije (a) vodikovega peroksida ( $H_2O_2$ ) in (b) superoksidnega aniona ( $O_2^-$ ) v breskvah tekom skladiščenja. SI: zgodnja faza zorenja (0 - 7. dan), SII: srednja faza zorenja (7.- 21. dan), SIII: faza poznega zorenja (21. - 35. dan), CS : kontrolna skupina plodov, VZ: topel zrak, VV: topla voda (Huan in sod., 2017).

### 3.5 PROPADANJE SADJA PRI NIZKIH TEMPERATURAH SKLADIŠČENJA

Temperatura ima zelo pomemben vpliv v nadaljnjih procesih po obiranju sadja. Hitro hlajenje v proizvodnji po obiranju plodov je nujno za zagotavljanje kakovosti in nizka temperatura je pomemben dejavnik, s katerim lahko znižamo dihanje sadja in podaljšamo njegovo življenjsko dobo. Obstaja veliko metod hlajenja obranega sadja, s katerimi dosežemo različne učinke na podaljšanje življenjske dobe. Ko izbiramo metodo hlajenja moramo upoštevati številne faktorje, kot so občutljivost sadja na vodni kontakt, temperaturo zmrzišča, temperaturo vode, občutljivost na izgubo vode, ekonomičnost in pričakovan čas skladiščenja. Z upoštevanje vseh teh dejavnikov pridemo do spoznanja, da nekatere metode niso primerne za določene vrste sadja. Nekatere vrste sadja so občutljive na nizke temperature in pri izpostavljenosti utrpijo poškodbe (Valero in Serrano, 2010).

Poškodbe zaradi nizkih temperatur so primarne fiziološke motnje, ki se pojavijo predvsem pri tropskih in subtropskih vrstah sadja. Poškodbe zaradi hlajenja ne smemo enačiti s poškodbami zmrzovanja. Poškodbe zmrzovanja so rezultat nastajanja ledenih kristalov, ki se oblikujejo v tkivih rastlin pri skladiščenju pod temperaturo ledišča. Poškodbe zaradi hlajenja pa se običajno zgodijo pri občutljivemu sadju, ki je skladiščeno pod temperaturo 10–13 °C. Kritična temperatura pri kateri nastanejo poškodbe variira glede na vrsto skladiščenega blaga. Plodovi, ki so dovzetni za poškodbe hlajenja imajo pogosto kratko skladiščno dobo ter nizke temperature ne zagotavljajo upočasnitev propadanja plodov ter zaščito pred rastjo patogenih mikroorganizmov (Valero in Serrano, 2010).

Bolezni znaki, ki nastanejo pri hladnem skladiščenju so posledica oksidativnega stresa, ki nastane zaradi presežnega nabiranja ROS v tkivih rastlin. Predhodna obdelava plodov s toplo vodo lahko povzroči začasno toleranco na nizke temperature skladiščenja z aktivacijo encimskih antioksidantov, ki preprečujejo kopičenje reaktivnih kisikovih spojin (Ghasemnezhad in sod., 2008).

#### 3.5.1 Mandarine

Vežano na poglavje 3.2.2 in 3.4.2 so Ghasemnezhad in sod. (2008) mandarine tudi vizualno ocenili, da so ovrednotili stopnjo poškodb, ki so nastale zaradi nizke temperature skladiščenja (2 °C). Ker so mandarine potapljali v vodo s temperaturami nad 45 °C, so nastale tudi poškodbe zaradi previsoke temperature. Za poškodbe na račun nizkih temperatur skladiščenja je značilen razvoj temno obarvanih lezij, ki so običajno nepravilnih oblik in so čisto drugačne v primerjavi s poškodbami, ki nastanejo zaradi previsoke temperature vode. Simptome je bilo enostavno ločiti takrat, ko ti niso bili tako hudi, da ni prišlo do prekrivanja površin. Poškodbe lupina so bile vrednotene po 4. in 8. tednu skladiščenja. Obseg poškodb je bil ocenjen z vrednostmi od 1–4. Vrednosti so pomenile naslednje: 1= ni vidnih poškodb; 2= 1–25 % površine plodu je prizadete; 3= 26–50 % površine plodu je prizadete; 4= več kot

50 % površine plodu je prizadete. Za vrednotenje poškodb zaradi previsoke temperature so uporabili enako metodo. Poškodbe zaradi hlajenja ali previsokih temperatur so bile predstavljene kot pojavnost poškodb in resnost poškodb. Pojavnost poškodb je odstotek sadja, ki je kazal simptome nastanka poškodb zaradi nizkih temperatur. Resnost poškodb pa je bila ocenjena kot delež sadja, ki ima komercialno nesprejemljiv obseg poškodb (Ghasemnezhad in sod., 2008).

Znaki poškodb so se začeli pojavljati po 4. tednu skladiščenja pri 2 °C in so tekom podaljšanega časa skladiščenja naraščali. Mandarine potopljene v vodo s 47,5 °C ali 50 °C za 2 min kakor tudi 47 °C za 5 min so pokazale manjšo pojavnost in resnost poškodb zaradi hlajenja in toplotne obdelave tekom daljšega skladiščnega obdobja. Premeri površinskih lezij so bili manjši v primerjavi z neobdelanimi plodovi. Pri temperaturah vode višjih od 50 °C je prišlo do nastanka obsežnejših poškodb v obliki porjavenja lupine. Zato avtorji v Novi Zelandiji priporočajo potapljanje mandarin v vodo s temperaturo od 47,5 do 50 °C (Ghasemnezhad in sod., 2008).

Običajno so poškodbe zaradi prenizkih temperatur vidne šele po tem, ko so plodovi za nekaj časa prineseni na sobno temperaturo. Nekateri načini obdelave s toplo vodo so potrdile hipotezo zmanjšanja nastanka poškodb zaradi nizkih temperatur skladiščenja (Ghasemnezhad in sod., 2008).

#### 4 SKLEPI

Glede na hipoteze, ki se nanašajo na mikrobiološke okužbe plodov, spreminjanje izločanja etilena, manjšo občutljivost na nizke temperature skladiščenja in spremembe antioksidativne učinkovitosti sadja povzamemo naslednje sklepe:

- Uporaba tople vode zmanjša prisotnost plesni. Pri bananah potapljanje v vodo s 40 °C za 20 minut močno zmanjša rast plesni *Colletotrichum muase*, ki na bananah povzroča bolezen antraknozo. Pri bananah se po 21. dnevu skladiščenja pojav boleznij zmanjša za 59,3 % v primerjavi z neobdelano skupino. Zmanjšanje poškodb zaradi mikrobiološke okužbe s plesnijo *Penicillium expansum* (LINK) Thom povzroča tudi potapljanje in ščetkanje plodov pri 55 °C za 15 minut.
- Kratkotrajno potapljanje sadja v toplo vodo zniža izločanje etilena. Pri mandarinah potopljenih v toplo vodo prihaja med 4. in 8. tednom skladiščenja pri 2 °C do približno 50 % znižanja izločanja etilena. Najnižje izločanje je pri mandarinah potopljenih v vodo s 50 °C za 2 minuti. Poleg tople vode lahko zavira sproščanje etilena tudi topel zrak. Mango, tretji dan zadržan v komori s temperaturo 38±0,5 °C, izgubi sposobnost tvorbe etilena, vendar se ta po odstranitvi iz komore (skladiščenje pri 25 °C) ponovno vrne in postane enaka kot na začetku.
- Sadje, potopljeno v toplo vodo, je manj občutljivo na nizke temperature skladiščenja, saj med skladiščenjem kasneje porjavi in na površini se v manjšem obsegu pojavijo poškodbe povrhnjice. Mandarine potopljene v vodo s 47,5 °C ali 50 °C za 2 min kakor tudi 47 °C za 5 min kažejo manjšo pojavnost in resnost poškodb zaradi nizkih temperatur (2 °C) tekom osemtedenskega skladiščenja. Obseg poškodb povrhnjice, ocenjen s štiristopenjsko lestvico, je nižji pri mandarinah, ki so bile prej potopljene v toplo vodo.
- Toplotni šok v sadju zviša aktivnost encimov z antioksidativnim delovanjem. Med 2. in 3. tednom skladiščenja s toplo vodo obdelane papaje prihaja do povečane aktivnosti superoksid dismutaze in askorbat peroksidaze. Aktivnost katalaze med skladiščenjem papaje niha. Vpliv potapljanja v toplo vodo je viden tudi pri mandarinah. Neobdelana skupina mandarin ima v skupnem seštevku nižjo peroksidazno in superoksid dismutazno aktivnost. Najvišja aktivnost je izmerjena pri mandarinah, potopljenih v vodo s 55 °C za 5 minut. Na spremembo encimov z antioksidativnim delovanjem kaže tudi znižanje vsebnosti vodikovega peroksida in superoksidnega aniona v sadni pulpi breskev, potopljenih v vodo z 48 °C za 10 min.

Preko študija literature smo v naši nalogi potrdili vse štiri zastavljene hipoteze glede na primere preučevanega sadja.

## 5 ZAKLJUČEK

V nalogi smo preučevali povezavo med kratkotrajnim potapljanjem sadja v toplo vodo (40 do 55 °C) in skladiščenjem sadja. Predvsem so nas zanimale spremembe, ki nastanejo v zvezi s spreminjanjem trdote plodov, sproščanjem etilena in s preprečevanjem mikrobioloških okužb ter ali te spremembe pripomorejo k daljšemu skladiščenju sadja, da ohrani zahtevano kakovost.

Obdelava sadja s toplo vodo je bila omenjena že na začetku 19. stoletja. Sadje potapljamo v vodo s temperaturami od 40 do 55 °C. Je popolnoma naravna ter človeku in okolju neškodljiva metoda, saj gre za fizikalni postopek. Poleg potapljanja plodov lahko plodove tudi ščetkamo. Potapljanje sadja (melon, banan) v toplo vodo zavre zniževanje trdote plodov. Plodovi po potapljanju v vodi ostanejo bolj čvrsti in trši, kot pa tisti, ki niso potopljani. Kratkotrajno potapljanje sadja vpliva tudi na sproščanje etilena. Pri mandarinah med podaljšanim skladiščenjem (od 4. do 8. tedna) prihaja do polovičnega padca sproščanja etilena v primerjavi s kontrolno skupino plodov. Uporaba tople vode zmanjša rast mikroorganizmov. Pri sadju glavnino bolezni po obiranju povzročajo plesni. Za optimalno skladiščenje plodov je potrebna visoka relativna vlažnost, ki stimulira rast in razvoj mikroorganizmov. Pri ekoloških bananah plesen *Colletotrichum musae* povzroča antraknozo. Potapljanje banan v vodo s 40 °C za 20 min močno zmanjša pojavnost te bolezni. Tudi potapljanje jabolk sorte Zlati delišes v toplo vodo uspešno zavre propadanje plodov zaradi plesni *Penicillium expansum* (LINK) Thom. Toplotni šok vpliva tudi na antioksidativno učinkovitost sadja. Sadje vsebuje številne biološko aktivne komponente, med njimi tudi encime z antioksidativnim delovanjem, ki nevtralizirajo presežek ROS. Encimska aktivnost se pri potapljanju sadja v toplo vodo močno spremeni. Prihaja do zniževanja katalazne aktivnosti. Aktivnosti superoksid dismutaze ter peroksidaze pa se pri potapljanju sadja v toplo vodo zvišata. Koncentracija ROS je pri sadju potopljenem v vodo nižja v primerjavi s skupino plodov, ki ni potopljena v vodo. To pomeni, da potapljanje plodov v toplo vodo učinkovito znižuje akumulacijo ROS. Poleg vsega naštetega je sadje, ki je toplotno obdelano, manj občutljivo na nizke temperature skladiščenja. Sadje, ki je občutljivo na nizke temperature, utrpí fiziološke poškodbe povrhnjice, ki vodijo v propad plodov. Poškodbe, ki se pojavljajo pri nizkih temperaturah, so najpogosteje posledica oksidativnega stresa, ki pa je povezan z aktivnostjo antioksidantov. Glede na to, da topla voda spodbudi aktivnost encimov z antioksidativnim delovanjem, lahko pravilne temperaturne obdelave zmanjšajo nastanek poškodb zaradi skladiščenja pri nizkih temperaturah.

Kasnejša izguba čvrstosti plodov, nižje izločanje etilena ter upočasnjena rast mikroorganizmov na plodovih prispevajo k daljšemu skladiščenju plodov. Vendar neprimerna temperaturna obdelava vpliva na hranilno in senzorično kvaliteto plodov. Previsoke temperature vode (55 °C in več) pa lahko povzročijo nastanek vročinskih poškodb

(nastanek rjavih lezij na povrhnjici plodov), ki so vidne takoj ali pa skozi daljše skladiščno obdobje. Menimo, da postopek potapljanja sadja v toplo vodo pozitivno vpliva na skladiščno sposobnost plodov in lahko zmanjša uporabo fitofarmaceutskih sredstev. Problem bi lahko predstavljali zgolj spreminjajoči se pogoji potapljanja (temperatura in čas) znotraj iste vrste ali različnih vrst sadja. Temperatura in čas, ki bi zagotavljala optimalne rezultate, sta odvisna od številnih dejavnikov (sezone rasti, lokacije rasti rastlin, podnebja, tipa prsti, oskrbe rastlin, zrelosti plodov ob obiranju), ki pa se tekom gojenja rastlin težko obvladujejo in se skozi rastno dobo spreminjajo.

## 6 VIRI

- Alvindia D.G. 2012. Revisiting hot water treatments in controlling crown rot of banana cv. Buñgulan. *Crop Protection*, 33: 59-64
- Bazie S., Ayalew A., Woldetsadik K. 2014. Integrated management of postharvest banana anthracnose (*Colletotrichum musae*) through plant extracts and hot water treatment. *Crop Protection*, 66: 14-18
- De Costa D.M., Erabadupitiya H.R.U.T. 2005. An integrated method to control postharvest diseases of banana using a member of the *Burkholderia cepacia* complex. *Postharvest Biology and Technology*, 36: 31-39
- Di Francesco A., Mari M., Roberti R. 2018. Defense response against postharvest pathogens in hot water treated apples. *Scientia Horticulturae*, 227: 181-186
- Errampalli D. 2004. Effect of fludioxonil on germination and growth of *Penicillium expansum* and decay in apple cvs. Empire and Gala. *Crop Protection*, 33: 811-817
- Fallik E. 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). *Postharvest Biology and Technology*, 32: 125-134
- Fallik E., Tuvia-Alkalai S., Feng X., Lurie S. 2001. Ripening characterization and decay development of stored apples after a short pre-storage hot water rinsing and brushing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2: 127-132
- Ghasemnezhad M., March K., Shilton R., Babalar M., Woolf A. 2008. Effect of hot water treatments on chilling injury and heat damage in 'satsuma' mandarins: Antioxidant enzymes and vacuolar ATPase, and pyrophosphatase. *Postharvest Biology and Technology*, 48: 364-371
- Gvozdenović D. 1989. Od obiranja sadja do prodaje. Ljubljana, Kmečki glas: 31-31
- Huan C., Han S., Jiang L., An X., Yu M., Xu Y., Ma R., Yu Z. 2017. Postharvest hot air and hot water treatments affect the antioxidant system in peach fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 126: 1-14
- Ketsa S., Chidtragool S., Klein J.D., Lurie S. 1999. Ethylene synthesis in mango fruit following heat treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 65-72



- Paull .R.E., Jung Chen N. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 21: 21-37
- Patterson B.D., MacRae E.A., Ferguson I.B. 1984. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV). *Analytical Biochemistry*, 139: 487-492
- Rodov V., Ben-Yehoshua S., Albagli R., Fang D.Q. 1995. Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips. *Postharvest Biology and Technology*, 5: 119-127
- Shadmani N., Ahmad S.H., Saari N., Ding P., Tajidin N.E. 2015. Chilling injury incidence and antioxidant enzyme activities of *Carica papaja* L. 'Frangi' as influenced by postharvest hot water treatment and storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 99: 114-119
- Ummarat N., Matsumoto T.K., Wall M.M., Seraypheap K. 2011. Changes in antioxidants and fruit quality in hot water-treated 'Hom Thong' banana fruit during storage. *Scientia Horticulturae*, 130: 801-807
- Usall J., Ippolito A., Sisyuella M., Neri F. 2016. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 122: 30-40
- Valero D., Serrano M. 2010. *Postharvest biology and technology for preserving fruit quality*. New York, CRC Press: 91-100
- Vilaplana R., Hurtado G., Valencia-Chamorro S. 2018. Hot water dips elicit disease resistance against anthracnose caused by *Colletotrichum musae* in organic bananas (*Musa acuminata*). *Food Science and Technology*, 95: 247-254
- Xu M., Dong J., Zhang M., Xu X., Sun L. 2012. Cold-induced endogenous nitric oxide generation plays a role in chilling tolerance of loquat fruit during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 65: 5-12
- Yuan L., Bi Y., Ge Y., Wang Y., Liu Y., Li G. 2013. Postharvest hot water dipping reduces decay by inducing disease resistance and maintaining firmness in muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 161: 101-110