

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Alja FARKAŠ

**VPLIV SPREMENJENE ATMOSFERE IN GNOJENJA
S KALCIJEM NA FIZIKALNOKEMIJSKE
LASTNOSTI PLODOV JABOLK**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Alja FARKAŠ

**VPLIV SPREMENJENE ATMOSFERE IN GNOJENJA S KALCIJEM
NA FIZIKALNOKEMIJSKE LASTNOSTI PLODOV JABOLK**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**EFFECT OF MODIFIED ATMOSPHERE AND FERTILIZATION
WITH CALCIUM ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF
THE FRUIT OF APPLES**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Analize so bile opravljene v laboratoriju Katedre za tehnologije, prehrano in vino, Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija dodiplomskega študija živilstva je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Rajka Vidriha, za somentorico doc. dr. Mojco Korošec in za recenzentko prof. dr. Tatjano Košmerl.

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

Somentorica: doc. dr. Mojca Korošec
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Recenzentka: prof. dr. Tatjana Košmerl
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Alja Farkaš

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 664.8.03:634.11:641.1:631.8:543.2/.9(043)=163.6
KG	jabolka / jablana / sorta 'Aroma' / sorta 'Discovery' / gnojenje / foliarno gnojenje / mineralna gnojila / vpliv kalcija na jabolka / skladiščenje jabolk / normalna atmosfera / kontrolirana atmosfera / ULO / antioksidanti / fenolne spojine / flavonoidi
AV	FARKAŠ, Alja
SA	VIDRIH, Rajko (mentor) / KOROŠEC, Mojca (somentorica) / KOŠMERL, Tatjana (recenzentka)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2016
IN	VPLIV SPREMENJENE ATMOSFERE IN GNOJENJA S KALCIJEM NA FIZIKALNOKEMIJSKE LASTNOSTI PLODOV JABOLK
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XII, 75 str., 24 pregl., 11 sl., 85 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	V diplomskem delu smo raziskovali vpliv foliarnega gnojenja z dušikom (urea), kalcijevim kloridom (CaCl_2) in s kombinacijo obeh na vsebnost skupnih fenolov (SF), flavonoidov (F), skupnega antioksidativnega potenciala (AOP) in antioksidativnega potenciala v etil acetatu topnih antioksidantov (AOP_{EA}) pri jabolkih sorte 'Aroma' in 'Discovery'. Foliarno gnojenje je bilo v celoti izvedeno šestkrat. Odmerek za enkratno aplikacijo je znašal 3 kg N/ha uree in/ali 2,5 kg/ha CaCl_2. Na enoto površine (ha) je bilo skupno apliciranega 18 kg dušika v obliki uree in 15 kg kalcija v obliki CaCl_2. Zeleno barvo v jabolčni lupini smo izrazili z indeksom (I_{AD}), ki predstavlja absorbanco znotraj absorpcijskega območja klorofila. Rezultati so pokazali, da je foliarno gnojenje z dušikom vplivalo na večjo vrednost AOP, v primerjavi s foliarnim gnojenjem s Ca ali kombinacijo Ca-N. Statistično značilnega vpliva foliarnega gnojenja na flavonoide, skupne fenole in AOP_{EA} nismo ugotovili. Večjo vsebnost skupnih fenolov so imela jabolka sorte 'Discovery', medtem ko se vrednosti AOP, vsebnosti flavonoidov in AOP_{EA} med sortama niso znatno razlikovale. Skladiščenje jabolk sort 'Aroma' in 'Discovery' ni značilno vplivalo na merjene parametre, opazili smo le tendenco večje vrednosti AOP jabolk, ki niso bila skladiščena. Med merjenimi parametri smo ugotovili pozitivne korelacije med AOP, AOP_{EA} in skupnimi fenoli. Indeks I_{AD} se ni izkazal za zanesljivega pri določanju zrelosti plodov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC UDC 664.8.03:634.11:641.1:631.8:543.2/.9(043)=163.6

CX apples / apple tree / cv. 'Aroma' / cv. 'Discovery' / fertilization / foliar application / mineral fertilizers / effect of calcium on apples / storage of apples / normal atmosphere / controlled atmosphere / ULO / antioxidants / phenolic compounds / flavonoids

AU FARKAŠ, Alja

AA VIDRIH, Rajko (supervisor) / KOROŠEC, Mojca (co-supervisor) / KOŠMERL, Tatjana (reviewer)

PP SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology

PY 2016

TI EFFECT OF MODIFIED ATMOSPHERE AND FERTILIZATION WITH CALCIUM ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF THE FRUIT OF APPLES

DT Graduation thesis (University studies)

NO XII, 75 p., 24 tab., 11 fig., 85 ref.

LA sl

AL sl/en

AB In graduation thesis the influence of foliar application of nitrogen (urea), calcium chloride and combination of both on the content of total phenols (TP), flavonoids (F), total antioxidative potential (AOP), ethyl acetate fraction of AOP (AOP_{EA}) was investigated on apples cv. 'Aroma' and 'Discovery'. Urea (3 kg N/ha) or/and CaCl₂ (2,5 kg/ha) were applied through 6 foliar spraying in orchard in total amount of 18 kg N/ha and CaCl₂ in total amount of 15 kg/ha. Visible spectrometer that measures a discrete band of light in a chlorophyll absorption range was used to monitor greenness of apple peel (I_{AD}). Results showed that foliar application of N results in higher AOP as compared to Ca or Ca-N treatment. No significant differences were found for flavonoids, total phenols and AOP_{EA} between treatments. More total phenols were found in 'Discovery', while AOP, flavonoids and AOP_{EA} did not differentiate significantly between both cultivars. Storing of 'Aroma' and 'Discovery' apples did not influence significantly the studied parameters only tendency that AOP decreases with storing was observed. Among studied parameters, positive correlations between AOP, AOP_{EA} and TP were found. I_{AD} index proved not to be a reliable parameter for maturity determination.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 JABLANA	3
2.2 JABOLKO	3
2.3 ZNAČILNOSTI SORT JABOLK	4
2.3.1 'Aroma'	4
2.3.1.1 Drevo sorte 'Aroma'	4
2.3.1.2 Plodovi sorte 'Aroma'	4
2.3.1.3 Splošne lastnosti sorte 'Aroma'	5
2.3.2 'Discovery'	5
2.3.2.1 Drevo sorte 'Discovery'	5
2.3.2.2 Plodovi sorte 'Discovery'	5
2.3.2.3 Splošne lastnosti sorte 'Discovery'	5
2.4 FIZIKALNA SESTAVA PLODOV JABOLK	6
2.4.1 Koža	6
2.4.2 Meso	6
2.4.3 Peščišče in pečke	6
2.5 KEMIJSKA SESTAVA PLODOV	7
2.5.1 Organske kisline	8
2.5.2 Ogljikovi hidrati	9
2.5.2.1 Škrob	9
2.5.2.2 Celuloza	9
2.5.2.3 Pektinske snovi	9
2.5.3 Lipidi	10
2.5.4 Proteini	10
2.5.4.1 Encimi	10
2.5.5 Vitamini	10
2.5.6 Mineralne snovi	11
2.5.7 Rastlinska barvila	11
2.5.7.1 Klorofil	11
2.5.7.2 INDEKS I _{AD}	11
2.5.7.3 Karotenoidi in ksantofili	12
2.5.7.4 Antociani	13
2.5.8 Tanin	14

2.5.9	Aromatske snovi	14
2.6	ANTIOKSIDANTI	14
2.6.1	Antioksidativni potencial AOP.....	15
2.6.2	Antioksidanti v rastlinah	15
2.7	FENOLNE SPOJINE.....	15
2.8	FLAVONOIDI.....	17
2.9	MINERALNA PREHRANA RASTLIN IN GNOJILA	17
2.9.1	Makroelementi.....	19
2.9.1.1	Dušik.....	19
2.9.1.2	Fosfor.....	20
2.9.1.3	Kalij	20
2.9.1.4	Kalcij	21
2.9.1.5	Magnezij	22
2.9.2	Mikroelementi.....	23
2.9.2.1	Bor	23
2.9.2.2	Železo	23
2.9.2.3	Mangan	24
2.9.2.4	Baker.....	24
2.9.2.5	Cink	24
2.9.3	Foliarno ali listno gnojenje	25
2.9.3.1	Foliarno gnojenje s sečnino – CO(NH ₂) ₂	26
2.9.4	Vnos kalcija v rastlino.....	26
2.9.4.1	Foliarno gnojenje s kalcijem.....	28
2.9.4.2	Potapljanje plodov v raztopino CaCl ₂	29
2.9.4.3	Premaz s karboksimetilcelulozo (CMC).....	30
2.10	SKLADIŠČENJE JABOLK.....	30
2.10.1	Skladiščenje v normalni atmosferi (NA)	31
2.10.2	Skladiščenje v spremenjeni – kontrolirani atmosferi (CA)	31
2.10.2.1	Skladiščenje v atmosferi z ultra nizko vsebnostjo kisika (ULO)	32
3	MATERIAL IN METODE.....	34
3.1	MATERIAL.....	34
3.1.1	Jabolka.....	34
3.1.2	Reagenti	34
3.2	METODE DELA	34
3.2.1	Priprava vzorcev za analizo.....	34
3.2.2	Določanje antioksidativnega potenciala s prostim radikalom DPPH [•] (AOP)	35
3.2.3	Določanje antioksidativnega potenciala v etil acetatu topne frakcije (AOP _{EA})	37
3.2.4	Določanje flavonoidov	38
3.2.5	Določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin	40
3.2.6	Statistična obdelava podatkov	42
4	REZULTATI	44
4.1	REZULTATI ANALIZ VZORCEV PRVEGA EKSPERIMENTA	44
4.1.1	Vpliv sorte	44
4.1.2	Vpliv foliarnega gnojenja.....	45

4.1.3	Interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja.....	45
4.1.4	Vpliv skladiščenja	46
4.1.5	Interakcija vpliva sorte in skladiščenja	47
4.1.6	Vpliv ponovitve vzorcev	48
4.1.7	Interakcija vpliva sorte in ponovitve vzorcev	48
4.2	REZULTATI ANALIZ DRUGEGA EKSPERIMENTA	49
4.2.1	Vpliv vrednosti indeksa I_{AD}	49
4.2.2	Vpliv pogojev skladiščenja.....	50
4.2.3	Interakcija vpliva vrednosti indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja.....	51
4.2.4	Vpliv časa in pogojev skladiščenja	52
4.2.5	Interakcija vpliva časa in pogojev skladiščenja ter vrednosti indeksa I_{AD}	53
4.2.6	Vpliv pogojev trimesečnega skladiščenja	54
4.3	KORELACIJE	55
4.3.1	Korelacije v prvem eksperimentu	55
4.3.1.1	Korelacije pri sorti 'Aroma' in 'Discovery'	55
	**Korelacija je statistično značilna ($p < 0,001$)	56
4.3.1.2	Korelacije pri sorti 'Aroma'	56
	**Korelacija je statistično značilna ($p < 0,001$)	56
4.3.1.3	Korelacije pri sorti 'Discovery'	56
4.3.2	Korelacije v drugem eksperimentu.....	56
5	RAZPRAVA	58
5.1	VREDNOST ANTIOKSIDATIVNEGA POTENCIALA	59
5.1.1	AOP v prvem eksperimentu	59
5.1.2	AOP v drugem eksperimentu	61
5.2	VREDNOST AOP V ETIL ACETATU TOPNE FRAKCIJE	62
5.2.1	AOP_{EA} v prvem eksperimentu.....	62
5.2.2	AOP_{EA} v drugem eksperimentu	62
5.3	VSEBNOST FLAVONOIDOV	63
5.3.1	Flavonoidi v prvem eksperimentu.....	63
5.3.2	Flavonoidi v drugem eksperimentu	63
5.4	VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN	64
5.4.1	Skupne fenolne spojine v prvem eksperimentu	64
5.4.2	Skupne fenolne spojine v drugem eksperimentu	64
5.5	OSTALE KORELACIJE.....	65
6	SKLEPI	66
7	POVZETEK.....	67
8	VIRI	69

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Sestava surovega jabolka z lupino (USDA, 2003)	7
Preglednica 2: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram, 2000: 25)	16
Preglednica 3: Vloga in delež (%) hranil v rastlini (Štampar in sod., 2014: 56)	19
Preglednica 4: Standardne raztopine kvercetina za umeritveno krivuljo pri določevanju flavonoidov	39
Preglednica 5: Podatki za umeritveno krivuljo za določanje flavonoidov	39
Preglednica 6: Standardne raztopine galne kisline za pripravo umeritvene krivulje pri določanju skupnih fenolov	42
Preglednica 7: Podatki za umeritveno krivuljo za določanje skupnih fenolov	42
Preglednica 8: Mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk (Seljak, 1996)	43
Preglednica 9: Vpliv sorte jabolk - povprečje in standardni odklon AOP ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/ 100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/ 100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca)	44
Preglednica 10: Vpliv foliarnega gnojenja - povprečje AOP ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/ 100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/ 100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca)	45
Preglednica 11: Interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja - povprečje AOP ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/ 100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/ 100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca)	46
Preglednica 12: Vpliv skladiščenja v prvem eksperimentu - povprečje in standardni odklon AOP ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/ 100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/ 100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca)	47
Preglednica 13: Interakcija vpliva sorte in skladiščenja - povprečje in standardni odklon AOP ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/ 100 g), skupnih fenolov (mg galne kisline/ 100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca)	48
Preglednica 14: Vpliv ponovitve - povprečje AOP ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/ 100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/ 100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca)	48

Preglednica 15: Interakcija vpliva sorte in ponovitve - povprečje AOP (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca)	49
Preglednica 16: Vpliv vrednosti indeksa I _{AD} - povprečje AOP (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca)	50
Preglednica 17: Vpliv pogojev skladiščenja v drugem eksperimentu - povprečje AOP (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca)	51
Preglednica 18: Interakcija vpliva vrednosti indeksa I _{AD} in pogojev skladiščenja - povprečje in standardni odklon AOP (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca)	52
Preglednica 19: Vpliv časa in pogojev skladiščenja - povprečje AOP (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca)	53
Preglednica 20: Interakcija vpliva časa in pogojev skladiščenja ter vrednosti indeksa I _{AD} - povprečje in standardni odklon AOP (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca)	54
Preglednica 21: Vpliv pogojev trimesečnega skladiščenja - povprečje AOP (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g svežega vzorca)	55
Preglednica 22: Povezanost spremenljivk prvega eksperimenta pri obeh sortah, izražena s korelacijskim koeficientom	56
Preglednica 23: Povezanost spremenljivk prvega eksperimenta pri sorti 'Aroma', izražena s korelacijskim koeficientom	56
Preglednica 24: Povezanost spremenljivk drugega eksperimenta, izražena s korelacijskim koeficientom	57

KAZALO SLIK

Slika 1: Zdravstvene koristi uživanja jabolk (Kalinowska in sod., 2014: 171).....	4
Slika 2: Jabolka sorte 'Aroma Balsgaard' (NordGen/Pomettet, 2013)	4
Slika 3: Jabolka sorte 'Discovery' (Viršček Marn in Stopar, 1998: 61).....	5
Slika 4: Biosintetska pot fenolnih snovi. Sekundarni metabolizem do sinteze antocianov (Jakopič, 2011: 3)	13
Slika 5: Shematični prikaz ksilemskega in floemskega toka po rastlini v zgodnjih stopnjah razvoja ploda, ko se ta pre-hranjuje v največji meri preko ksilema, pozneje preko floema. Floemski tok vsebuje malo kalcija, zato se v plodovih pogosto pojavi pomanjkanje (fiziološke motnje). Dodamo ga lahko foliarno (Fertina Ca) (Štampar in sod., 2014: 59)	22
Slika 6: (A) Mikroskopska slika kože in osnovnega tkiva pod kožo jabolka sorte 'Zlati delišes' (levo zgoraj). (B) Rasterski elektronsko mikroskopski posnetek prereza kože jabolka sorte 'Zlati delišes'. Površina sadja je prekrita z voščeno kutikulo. Pod kutikulo se nahaja nekaj kompaktnih plasti debele celične stene, ki vpliva na čvrstost jabolčne kože. Velike celice parenhima, ki imajo obsežno količino medceličnega prostora, tvorijo meso jabolka. c = kutikula, is = medcelični prostor, p = celice parenhima (Glenn in Poovaiah, 1987).....	27
Slika 7: Mikroskopska slika s kalcijem netretiranega (A) in s kalcijem tretiranega mesa (B) jabolk sorte 'Zlati delišes' po 7 mesecih skladiščenja. Netretirano sadje je postalo moknato s sferičnimi celicami z zelo malo medceličnih kontaktov (A). S Ca tretirano sadje je bilo čvrsto in imelo mnogokotne oblike celic zaradi velike količine medceličnih kontaktov (Glenn in Poovaiah, 1987)	27
Slika 8: Transmisijska elektronska mikrografija celičnih sten netretiranih (A, C) in s kalcijem tretiranih (B) jabolk sorte 'Zlati delišes'. Opazen je razpad srednje lamelne regije v netretiranem sadju v primerjavi s kalcijem tretiranim sadjem (puščice). Celična stena s kalcijem tretiranega sadja zgleda dobro vzdrževana in ima dober medcelični stik (B). Oblikovanje mehurčkov, ki je pogosto pri staranju sadja, je bilo prisotno pri sadju, ki ni bilo tretirano s kalcijem, vendar ne v sadju tretiranem s kalcijem (Glenn in Poovaiah, 1987)	28
Slika 9: Molekula DPPH [•] radikala (1) in reducirana oblika DPPH ₂ (2) (Molyneux, 2004: 212).....	35
Slika 10: Umeritvena krivulja za določanje flavonoidov	40
Slika 11: Umeritvena krivulja za določanje skupnih fenolov.....	42

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AlCl_3	aluminijev klorid
AOP	antioksidativni potencial
AOP_{EA}	antioksidativni potencial v etil acetatu topnih antioksidantov
ASK	askorbinska kislina ali vitamin C
B	bor
Ca	kalcij
CA	kontrolirana atmosfera (ang. Controlled Atmosphere)
CaCO_3	kalcijev karbonat
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	kalcijev nitrat
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	kalcijev hidroksid
CH_3COOK	kalijev acetat
CMC	karboksimetilceluloza
CO_2	ogljikov dioksid
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	sečnina ali urea
Cu	baker
dH_2O	destilirana voda
DPPH [•]	stabilni prosti radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
F.C.	Folin-Ciocalteujev reagent
Fe	železo
I_{AD}	indeks razlike absorbanc
K	kalij
K_2O	kalijev oksid
Mb	molibden
MFK	metafosforna kislina

Mg	magnezij
MgCO ₃	magnezijev karbonat
Mn	mangan
NA	normalna atmosfera (ang. Normal Atmosphere)
Na ₂ CO ₃	natrijev karbonat
NH ₄ ⁺	amonijev ion
NH ₃	amonijak
NO ₃ ⁻	nitratni ion
P	fosfor
P ₂ O ₅	fosforjev pentoksid
RF	referenčni vzorec
SP	slepi vzorec
ULO	atmosfera z ultra nizko vsebnostjo kisika (ang. Ultra Low Oxygen)
Zn	cink

1 UVOD

Vsaka sadna vrsta zahteva svoje pogoje rasti, uspeva v različnih podnebnih razmerah in pri določeni sestavi tal. Klimatski pogoji in talne razmere nam omogočajo, da v Sloveniji lahko uspešno gojimo več kot 30 različnih sadnih vrst. Eden izmed ključnih dejavnikov za doseganje dobrih pridelkov v intenzivnem nasadu ali domačem vrtu, je pravilno gnojenje ali prehrana rastlin. Če je hranil v tleh premalo ali preveč, ali pa so posamezna hranila v nesorazmerju, sta rast in cvetenje neustrezna, ovesek (delež cvetov, ki se oplodi in se iz njih razvijejo plodovi) majhen, razvijejo se neakovostni, iznakaženi plodovi ali plodovi z veliko fizioloških napak (Štampar in sod., 2014).

Zahteve potrošnikov po kakovosti jabolk so vedno večje. Dobra kakovost in skladiščna sposobnost jabolk pa je pogojena z uravnoteženo mineralno prehrano drevesa. Z napredkom življenja in zaradi potrebe po vse večjih donosih in prihodkih se je vzporedno razvila konvencionalna (intenzivna) kmetijska pridelava, ki zaradi prevelike količine umetnih gnojil in drugih kemikalij, ki jih uporabljajo v kmetijstvu, onesnažuje reke in morja. V naših telesih je tako vse več pesticidov, na tak način pridelana hrana pa je revna z vitamini, minerali in mikroelementi, ki jih potrebujemo. Zato je pomembno, da izberemo tisto mineralno/organsko gnojilo, ki bo zadovoljilo potrebe rastlin in zemlje, hkrati pa pripomoglo k ohranjanju in izboljšanju rodovitnosti tal in ne bo kvarno vplivalo na okolje (Leskošek, 1993).

Zaradi različnih sposobnosti sprejema in transporta posameznih elementov prihaja pri jablanah pogosto do motenj mineralnega ravnovesja in posledično do pojava različnih fizioloških bolezni plodov itd. Pri tem igra odločilno vlogo kalcij (Ca). Kalcij v zadostnih količinah ohranja trdoto plodov in zavira zorenje, kar je pomembno za daljše skladiščenje jabolk. Najboljši agrotehnični ukrep za doseg zadostne koncentracije kalcija v plodovih je foliarno gnojenje z raztopino kalcijevega klorida (Muršec in sod., 2004).

Zorenje jabolčnih sort je odvisno predvsem od sorte, podnebja in vremena. V Sloveniji obiramo jabolka v obdobju od konca junija do konca oktobra. Čas obiranja pridelka je odvisen tudi od tega, kako bomo plodove uporabili, ali za takojšnjo potrošnjo, predelavo ali skladiščenje. Po stopnji zrelosti razvrstimo plodove v nezrele, tehnološko zrele, užitno zrele in prezrele plodove. Plodovi, ki ostanejo na drevesu do užitne zrelosti, imajo najboljši okus in največjo maso, a take plodove tudi takoj porabimo. Za intenzivno pridelavo obiramo sadje v t. i. tehnološki zrelosti, torej obiramo prej, da zmanjšamo izgube med prevozom, skladiščenjem in prodajo. Zgodnje sorte jabolk obiramo skoraj v užitni zrelosti ali le nekaj dni pred njo. Zaradi slabe skladiščne sposobnosti jih moramo praviloma hitro uporabiti. Pozne zimske sorte navadno niso uporabne takoj po obiranju, lahko jih skladiščimo več mesecev. Po obiranju se namreč nadaljujejo spremembe plodu (Viršček Marn in Stopar, 1998).

Upočasnevanje presnovnih procesov, zorenje in prezorevanje jabolk ter s tem povečanje trajnosti plodov lahko zagotovimo z znižanjem temperature v hladilnicah, z uravnavanjem vsebnosti kisika (O_2), in ogljikovega dioksida (CO_2) v atmosferi skladiščnega prostora. Pri zorenju sadja se sprošča etilen C_2H_4 – imenujemo ga tudi hormon staranja oz. zorilni plin (Suwa Stanojević, 1995; Štampar in sod., 2014), ki pospešuje dozorevanje. Z odstranjevanjem etilena iz atmosfere prav tako podaljšamo skladiščno sposobnost jabolk.

Skladiščimo samo kakovostno in zdravo sadje, kajti mehansko poškodovano sadje zori znatno hitreje, občutljivo pa je tudi na mikrobiološki kvar (Viršček Marn in Stopar, 1998).

1.1 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je bil ovrednotiti, kako foliarno gnojenje s kalcijem, dušikom ter kombinacijo obeh in spremenjena atmosfera med skladiščenjem jabolk sort 'Aroma' in 'Discovery' vplivata na fizikalnokemijske lastnosti plodov jabolk. Za primerjavo kemijskih parametrov smo določali skupni antioksidativni potencial (AOP) vzorcev z metodo s prostim radikalom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH^{*}), ter antioksidativni potencial v etil acetatu topne frakcije (AOP_{EA}). Določali smo tudi vsebnost flavonoidov in vsebnost skupnih fenolnih spojin (skupni fenoli).

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevamo, da foliarno gnojenje s kalcijem, dušikom ter kombinacijo obeh in spremenjena atmosfera med skladiščenjem plodov jabolk vplivata na AOP in AOP_{EA}, vsebnost skupnih fenolov in flavonoidov v vzorcih jabolk. Razlike obstajajo tudi med obema sortama jabolk.

2 PREGLED OBJAV

Na svetu je zelo veliko vrst in različnih kultivarjev ali sort sadja. V svetu pridelamo 636,5 milijonov ton sadja (brez melon), prevladujejo jabolka s 76,4 milijona ton. V Sloveniji ima tradicija pridelovanja sadja bogato zgodovino. Letno pridelamo kar 150.000 ton različnega sadja, kar pomeni 75 kg na prebivalca Slovenije (Štampar in sod., 2014). Kljub temu, da je v Sloveniji pridelava jabolk vodilna sadjarska panoga, pa vsem dobro poznan pregovor »Eno jabolko na dan odžene zdravnika stran« pri nas ni udejanjen. Povprečna poraba jabolk je le 15 kg na osebo, kar z drugimi besedami pomeni le eno četrtno jabolko na dan (Godec, 2006).

Jabolko spada med najstarejše sadeže na Zemlji, uspeva na vseh celinah. Njegove prvotne domovine ni mogoče natančno določiti (omenjajo se različni predeli Azije). Vse današnje sorte jabolk – poznamo jih več tisoč – izvirajo iz vrste *Malus domestica* (Kranz, 1997). Današnja jablana je medvrstni križanec, saj je pri njenem nastanku v preteklosti sodelovalo več različnih vrst, v novjšem času pa v postopku žlahtnenja novih sort vnašamo gene iz drugih vrst (Viršček Marn in Stopar, 1998).

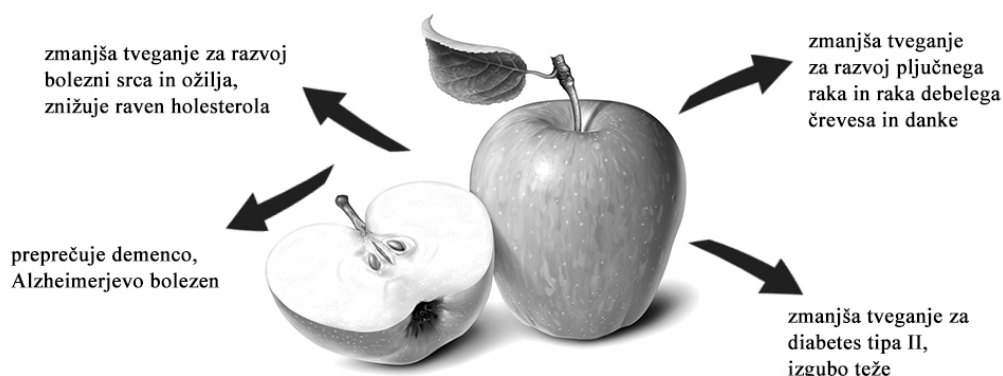
2.1 JABLANA

Jablane pri nas in v svetu sodijo med najbolj razširjeno sadno vrsto. Je zelo prilagodljiva sadna vrsta z dolgo življenjsko dobo (Godec in sod., 2013). Najbolje uspeva na srednje težkih peščeno-ilovnatih tleh, ki so dobro prepustna za viške vode. Jablane ne prenašajo visoke podtalnice, ki sega višje kot 50-70 cm pod površino tal (Adamič in sod., 1975; Jazbec in sod., 1995; Štampar in sod., 2014). Ustrezajo ji dobro gnojena, zračna in zmerno kislila tla s pH 5,5 do 6,5, uspeva pa tudi v tleh s pH 7,5 do 8,0, kar pomeni, da ta sadna vrsta ni občutljiva za pH. Jablanam ustreza zmerno toplo podnebje z enakomerno razporeditvijo padavin čez celo vegetacijsko obdobje (dokaj zahtevne glede vlage). Temperaturna nihanja (dnevno-nočne temperaturne spremembe) med zorenjem ugodno vplivajo na obarvanje plodov (Adamič in sod., 1975; Jazbec in sod., 1995).

2.2 JABOLKO

Od vsega sadja v Sloveniji pridelamo največ jabolk. Jabolko sodi med pečkato sadje (pečkarji) v družino *Rosaceae* (Šiško, 1983; Štampar in sod., 2014).

Jabolko igra pomembno vlogo v naši prehrani in zelo koristi zdravju ljudi (Boyer in Liu, 2004). Vsebuje več z zdravjem povezanih sestavin, vključno s prehranskimi vlakninami, sladkorji, vitamini in fenolnimi spojinami. Vitamin C (askorbinska in dehidroaskorbinska kislina) je močan antioksidant in je esencialen v naši prehrani (Padayatty in sod., 2003). Antioksidativni učinek v jabolkih je večinoma posledica vsebnosti fenolnih spojin, kot so flavonoidi in fenolne kisline (Lee in sod., 2003b). Obstajajo trdni dokazi za preventivni učinek fenolnih spojin na bolezni povezane s starostjo, vključno z boleznimi srca in ožilja ter rakom (Boyer in Liu, 2004; Kroon in Williamson, 2005).



Slika 1: Zdravstvene koristi uživanja jabolk (Kalinowska in sod., 2014: 171)

2.3 ZNAČILNOSTI SORT JABOLK

Seznam sort ali kultivarjev imenujemo sadni izbor (sortiment), ki je priporočljiv za gojenje na določenem področju in velja za omejeno obdobje (Šiško, 1983).

2.3.1 'Aroma'

2.3.1.1 Drevo sorte 'Aroma'

Je švedska sorta iz leta 1947, znana tudi pod sinonimom 'Aroma Balsgaard'. Aroma je križanec sort 'Ingrid Marie' x 'Filippa' (NordGen/Pomettet, 2013).

2.3.1.2 Plodovi sorte 'Aroma'

Plodove obiramo v severni Evropi konec septembra. Za uživanje so idealni do meseca novembra ali decembra, v sodobnih hladilnicah ostanejo obstojni do februarja. So srednje veliki, sploščeni do sploščeno okroglasti, rahlo nesimetrični, lupina plodov je gladka. Osnova barva je rumenozelena, krovna barva je rdeča – zajema 75 % plodu. Meso je srednje čvrsto do mehko, sočno, in dobrega do zelo dobrega okusa, srednje do močno sladko, srednje kislo, z veliko arome in rumenkasto bele barve (NordGen/Pomettet, 2013).



Slika 2: Jabolka sorte 'Aroma Balsgaard' (NordGen/Pomettet, 2013)

2.3.1.3 Splošne lastnosti sorte 'Aroma'

Nasplošno je jabolko povprečnega zunanjšega videza. Sorta je odporna proti škrlupu, primerna za gojenje v sadovnjakih/vrtovih (NordGen/Pometet, 2013).

2.3.2 'Discovery'

2.3.2.1 Drevo sorte 'Discovery'

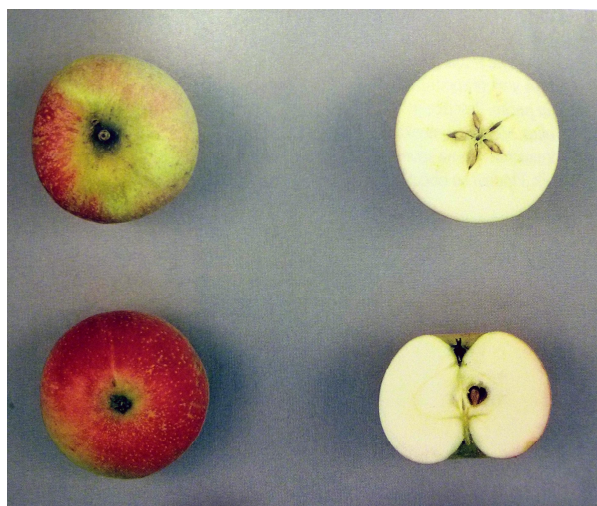
Je angleška sorta iz leta 1964. Dobro jo oprašuje sorta James Grieve, sama pa je dober opraševalec, je diploidna (Jazbec in sod., 1995). Rast drevesa je srednje bujna. Zarodi razmeroma pozno in rodi srednje dobro. Plodovi se dobro držijo na drevesu in ne odpadejo predčasno (Jazbec in sod., 1995; Viršček Marn in Stopar, 1998; Sancin, 1988).

2.3.2.2 Plodovi sorte 'Discovery'

Plodovi zorijo v začetku avgusta in so uporabni le krajši čas, približno mesec dni. So drobni do srednje debeli in ploščate-okroglaste oblike, izenačeni, skoraj simetrični. Krovna barva kože je belkastorumena, krovna barva je živo- do temnordeča in pokriva približno polovico površine kože (50-100 %). Meso je čvrsto, sočno, okusno, s prijetno kislino, prijetno aromatično, rumeno do kremasto, pod kožo lahko tudi rdečkasto (Jazbec in sod., 1995; Viršček Marn in Stopar, 1998; Sancin, 1988).

2.3.2.3 Splošne lastnosti sorte 'Discovery'

Nasplošno so jabolka zelo prikupna. Sorti ne ustreza preveč vlage in preveč dušika, plodovi radi razpokajo in gnijejo, kar je največja pomanjkljivost te sorte. Sorta je zelo odporna proti plesni in škrlupu, primerna zlasti za gojenje v vrtovih (Jazbec in sod., 1995; Viršček Marn in Stopar, 1998; Sancin, 1988).



Slika 3: Jabolka sorte 'Discovery' (Viršček Marn in Stopar, 1998: 61)

2.4 FIZIKALNA SESTAVA PLODOV JABOLK

2.4.1 Koža

Jabolka imajo različno debelo lupino (Viršček Marn in Stopar, 1998). Lahko je gladka ali hrapava oz. rjasta ter suha ali pokrita s sloji rastlinskih voskov, ki se ponavadi močneje razvijejo pri skladiščenju in dajejo plodovom maščoben sijaj (Šiško, 1983; Viršček Marn in Stopar, 1998). Nekatere sorte razvijejo na plodovih poprh, tj. tanko belkasto prevleko, ki prekriva plod kot nekakšna meglica (Viršček Marn in Stopar, 1998). Koža ploda je sestavljena iz enega (epidermis) ali več slojev (hipodermis) ploščatih celic, v katerih nastajajo pod vplivom svetlobe barvne snovi. Celice v epidermisu so drobnejše, poliedričnih oblik, pokrite z odebeljeno opno ali kutikulo, ki jo prekriva tanka voščena ovojnica. Pod epidermalnimi celicami je hipodermis – sloj večjih s tanko steno obdanih celic, ki se povečujejo proti notranjosti ploda. Celična stena mladih, nezrelih plodov je iz celuloze, zrelih pa iz protopektina in pektina. V zelenih plodovih se skozi reže izmenjavajo plini (CO_2 in O_2), pozneje skozi lenticle – na epidermisu v obliki manjših ali večjih peg (Šiško, 1983; Viršček Marn in Stopar, 1998).

Razlikujemo osnovno in krovno barvo kože, kjer osnovna barva prekriva celoten plod in zajema različne odtenke zelene in rumene ter se spreminja ob zorenju plodov na drevesu in v skladišču (z zorenjem zelenkasti odtenki prehajajo v rumenkaste), krovna barva pa zajema različne odtenke rdeče barve in prekriva osnovno barvo. Če je krovna barva razporejena enakomerno, pravimo, da je prelita, če je delež prelite barve majhen, pa govorimo o rahli rdečici ali rdečem nadihu. Rdeča barva je lahko razporejena tudi v obliki različno dolgih in širokih temnejših prog (t.i. priž) na svetlejši preliti krovni barvi (Viršček Marn in Stopar, 1998).

2.4.2 Meso

Meso je sestavljeno večinoma iz celic okroglih oblik, med katerimi je intracelularni kanal, napolnjen z zrakom. Skozi ta kanal odteka z difuzijo ogljikov dioksid in vodni hlapi, ki nastanejo pri dihanju ploda, po drugi strani pa gre kisik na enak način v notranjost ploda. Celične stene so sestavljene iz celuloze in manjše količine pektinskih snovi. Kjer se celične stene stikajo, prehaja voda iz ene v drugo s pomočjo osmoze. Voda, mineralne snovi in asimilati prihajajo v večjih količinah iz peclja skozi cevne povezke, ki so vidno razvejani po mesu. Bolj ko je raztopina celičnega soka bogata s sladkorjem, drugimi organskimi snovmi in solmi, tem nižje temperature prenese (Šiško, 1983).

Trdota mesa in odpornost tkiva, ki sta neposredno odvisna od čvrstosti celičnih membran in od kemične oblike pektina, se spreminjata med dozorevanjem in staranjem plodov. Del netopnega pektina se spremeni v topnega, kar povzroča mehčanje tkiva in pokažejo se vidni znaki staranja plodov (Hribar, 1989).

2.4.3 Peščišče in pečke

Peščišče ali endokarp je notranji del plodu. Oblike peščišč so različne in naj bi bile dobro znamenje za določanje jabolčne sorte (Viršček Marn in Stopar, 1998). Pri pečkarjih se razvijeta dve semenski zasnovi (Štampar in sod., 2014). Pečke, tj. jabolčno seme, je

običajno nameščeno v petih semenskih prekatih, poredko se zgodi, da je teh prekatov tudi manj/več. Endokarp pri pečkarjih postane luskast (semenski predalčki).

2.5 KEMIJSKA SESTAVA PLODOV

V grobem razvrstimo kemijske snovi v plodu na organske in neorganske snovi. Slednje sestavljajo voda, plini (CO_2 , H_2O in N_2) in mineralne snovi. V skupino organskih snovi pa sodijo sladkorji, pektinske snovi in drugi uronidi, organske kisline, aminokisline, proteini, encimi, lipidi, aromatične snovi in etilen, rastlinska barvila (klorofil, karotenoidi in antociani), vitamini, hormoni idr. (Gvozdenović, 1989).

Jabolko vsebuje 85 % vode, 15 % ogljikovih hidratov (sadni sladkorji, škrob, celulozne vlaknine) in vitamin C, katerega je največ v jabolkih, ki rastejo na osvetljenih delih krošnje (Suwa Stanojević, 1995). Vsebuje tudi pektin, ki zelo ugodno deluje na prebavila. Mineralne snovi v jabolku nevtralizirajo škodljive kisline, ki se tvorijo v človeškem telesu pri presnovi (Sancin, 1988).

Preglednica 1: Sestava surovega jabolka z lupino (USDA, 2003)

Komponenta	100 g	154 g/obrok
voda	85,56 g	131,76 g
proteini	0,26 g	0,40 g
skupni lipidi	0,17 g	0,26 g
pepel	0,19 g	0,29 g
skupni ogljikovi hidrati	13,81 g	21,27 g
sladkor (skupni)	10,39 g	16,00 g
saharoza	2,07 g	3,19 g
glukoza	2,43 g	3,74 g
fruktoza	5,90 g	9,09 g
škrob	0,05 g	0,08 g
prehranske vlaknine	2,40 g	3,70 g
kalcij	6,00 mg	9,00 mg
železo	0,12 mg	0,18 mg
magnezij	5,00 mg	8,00 mg
fosfor	11,00 mg	17,00 mg
kalij	107 mg	165 mg
natrij	1,0 mg	2,0 mg
cink	0,04 mg	0,06 mg
vitamin C	4,60 mg	7,10 mg
vitamin A	54,0 IU	83,0 IU
holesterol	0,0 mg	0,00 mg
kalorije	52,0 Kcal	80,0 Kcal

Celična stena daje celici obliko in oporo, hkrati pa je dovolj prožna, da lahko celica raste in se plodovi debelijo. Dinamične lastnosti celične stene omogočajo obrambo pred škodljivci

in boleznimi ter hkrati povečujejo čvrstost plodov. Sestavljena je iz celuloze, lignina, kutina in suberina. Slednja dva sta lipoida in predstavljata pregrado za vodo in v njej raztopljene mineralne snovi. Kutin zmanjšuje izhlapevanje (transpiracija) iz zorečih plodov – voščena prevleka na plodovih, preprečuje izpiranje ionov zaradi dežja in ovira vstop patogenov, sredstev za varstvo rastlin ter foliarnih gnojil v celico. Suberin pa se najpogosteje pojavlja na območju ran (plutaste celice na kožici plodov jablan; mrežavost pri sorti zlati delišes) (Štampar in sod., 2014).

Vodne vakuole (pribl. 90 % celotnega volumna celic) vsebujejo celični sok, v katerem so raztopljeni sladkorji, organske kisline, aminokisline, minerali in druge spojine. Ti uravnavajo pH celičnega soka, imajo pomembno obrambno vlogo in vplivajo na sprejem vode v vakuolo, zaradi česar se ta veča in pritiska na celično steno ter tako omogoča pravilno delovanje vseh organelov in rast rastline. Če rastline nimajo zadosti razpoložljive vode, pride do padca napetosti celične stene, t. i. turgorja, kar se navzven kaže kot venenje listov (Štampar in sod., 2014).

Kemijske spremembe pri zorenju sadja so povezane z intenzivnostjo dihanja, ki ni v vsakem času razvoja plodu enako. Takoj po oploditvi je dihanje najintenzivnejše in izloči se največ ogljikovega dioksida, nakar se začne v naslednjih tednih zmanjševati, dokler ne doseže minimuma. Takrat je sadje že založeno z vsemi asimilati in je že primerno za obiranje. Nato se začne izločanje CO₂ zopet povečevati do maksimuma, t.i. klimakterijskega maksimuma. V tem času se razvije aroma in na koži plodu se pojavijo voščene prevleke. Po parih mesecih popolnoma preneha in tedaj nastopi senescenca ali smrt plodu. V skladiščih poskušajo z zaviranjem dihanja to obdobje od minimuma do maksimuma kar se da raztegniti (pri jesenskih sortah to obdobje krajše, pri zimskih daljše) (Gvozdenović, 1989).

2.5.1 Organske kisline

V sadju najdemo organske kisline v celični tekočini, nevezane ali v obliki soli, estrov, glukozidov idr. Imajo pomembno vlogo v metabolizmu plodov. Stopnja zrelosti plodov je pogosto povezana s količino organskih kislin ali pa z razmerjem med vsemi sladkorji in vsemi kislinami (Gvozdenović, 1989).

Organske kisline so poleg sladkorjev pomembne tudi za okus jabolka. V jabolku prevladuje jabolčna kislina (0,3 do 0,9 %). Le-ta je v primerjavi z ostalimi organskimi kislinami v sadju (vinska, citronska...) najbolj dovzetna za oksidacijo. Za oksidiranje jabolčne kisline zadostujejo relativno nizke temperature, zato so tisti sloji jabolka, ki jih obseva sonce, manj kisli od tistih v senci oziroma notranjosti krošnje. Pri višjih temperaturah je dihanje močnejše in s tem izguba organskih snovi. Tudi organske kisline se izdihajo v obliki CO₂ in H₂O (Šiško, 1983):



2.5.2 Ogljikovi hidrati

Glavni sladkorji, ki jih vsebuje sadje, so sladkorji z nizko molsko maso. Mednje sodi fruktoza (največ %), glukoza in saharoza (najmanj %). Skupna količina teh treh sladkorjev se v svežih in zrelih plodovih giblje med 2-65 % sveže mase. Ostali sladkorji (maltoza, arabinoza, rafinoza in ksiloza) običajno nastajajo le kot produkti razpadanja drugih snovi ter hitro izginejo. V zelenih plodovih prevladuje škrob, v zrelih pa fruktoza, glukoza in saharoza. Precejšeni ogljikovi hidrati so neprebavljivi, kar pomeni, da prehajajo skozi črevesni trakt in izboljšujejo njegovo peristaltiko. Sem sodijo celuloza, hemiceluloza, pektinske snovi ipd., to so polimeri z visoko molekulsko maso (Gvozdenović, 1989).

2.5.2.1 Škrob

Vsebnost škroba v jabolkih je od 4 do 6 % in se z zrelostjo plodov zmanjšuje. Škrob je v jabolkih v obliki zrn. Med zorenjem se pod vplivom diastaze spreminja v enostavnejše sladkorje, pecelj ob tem bolj in bolj leseni in postaja nepropusten. Pri nepopolni oksidaciji se lahko glukoza razkroji v etilen, ki ni zaželen in ga, kot že omenjeno, v skladiščih odstranjujemo (Šiško, 1983):



2.5.2.2 Celuloza

Čvrstost plodov je odvisna od celuloze, hemiceluloze ter nekaterih drugih neceluloznih polisaharidov, ki so osnovni gradniki celičnih sten. Celuloza je sestavni del celične stene in jo najdemo v količinah od 1,2 – 3,3 % (Šiško, 1983).

2.5.2.3 Pektinske snovi

Pektin je heteropolisaharid, v katerem se izmenjujejo odseki galakturonske kisline z ostanki fosforjeve kisline, ostanki celuloze, sladkorja in očetne kisline. Od kovin sodita v njegovo sestavo kalcij in magnezij. V plodovih najdemo pektin v treh oblikah: netopni pektin (protopektin), topni pektin in pektinska kislina. V zgodnjih fazah razvoja je v plodovih največ protopektina (Gvozdenović, 1989). Nezreli plodovi vsebujejo pektozo in ostane v tej obliki, dokler še ni dovolj tanina. Ko ta izgori, pride do pretvorbe pektoze v topni pektin nižje molekulske mase, ki je sluzave narave (Šiško, 1983).

Torej, tvorba pektina se začne s presnovo tanina, pektin nabrekne in celične mrenice želirajo (postanejo neprepustne). Zmanjša se prepustnost za kisik in plod se mora zadovoljiti z anaerobnim dihanjem (protoplast začne živeti v anaerobiozi). Sladkorji se ne oksidirajo v CO_2 in O_2 , ampak pride do vmesnih produktov, do nastanka alkohola. Ta se spoji s kislinami v estre, ki dajejo sadju značilen vonj. Plod se prične mehčati, lahko se prekine tudi povezava med celicami, ki se osamosvojijo in pride do pojava moknatosti (Šiško, 1983).

Kalcijevi ioni (obratno kot kalijevi) upočasnjujejo pretvorbo protopektina v pektin. Kalijevi ioni namreč povečujejo topnost, ker povečujejo hidratacijo koloidov (Gvozdenović, 1989).

Pektinske snovi so pomembne za strukturo (trdoto) tkiva. Protopektin, ki je netopni pektin, lahko med segrevanjem ob navzočnosti kisline (npr. jabolčne) preide v topni pektin. Pri segrevanju topnega pektina skupaj s sladkorjem in kislino nastane žele. Pektinska kislina pa je oblika pektinskih snovi, ki ne more želirati. Najpogosteje se pektin uporablja v živilski industriji kot želirno sredstvo (v marmeladah, slaščicah), stabilizator (v sadnih sokovih, mlečnih napitkih) in kot prehranska vlaknina (Gvozdenović, 1989).

2.5.3 Lipidi

V plodovih predstavljajo lipidi manj kot 1 % sveže mase. Njihova naloga je varovanje kutikule in zgradbe celičnih membran, še posebno v plodovih z malo maščobami (Gvozdenović, 1989).

2.5.4 Proteini

Kljub temu, da so proteini največkrat v majhnih koncentracijah, imajo pomembno funkcijo, ne le kot sestavina zgradbe jedra in citoplazme, pač pa tudi encimov, ki sodelujejo v metabolizmu plodov, ko ti rastejo, se razvijajo in zorijo (Gvozdenović, 1989).

2.5.4.1 Encimi

Najvažnejši encimi v sadju so amilaza, pektinaza, oksigenaze in peroksidaze. Rastlinski encimi sestojijo iz beljakovin in vitaminov ali mikroelementov – koencimov. Sodelujejo pri kemičnih spremembah sadja, kot oksidacijski encimi. Inaktiviramo jih s temperaturami med 72 – 82 °C, kar se uporablja tudi v sami tehnologiji predelave sadja (Gvozdenović, 1989).

2.5.5 Vitamini

Vitaminov je v rastlinah običajno malo. Sodelujejo v biokemičnih procesih izmenjave snovi v rastlinah. Zelo pomembni so za človeško prehrano, saj jih človek sam ne more sintetizirati. V človeškem organizmu so vitamini sestavni del posameznih encimov. Znani so kot njihovi aktivatorji. Sodelujejo pri sintezi RNK in DNK oziroma v ključnih procesih razgradnje ogljikovih hidratov, beljakovin in maščob, v katerih se sprošča energija, ki je nujna za biokemijske in fiziološke procese. Vitamini prav tako izpopolnjujejo učinek hormonov (Gvozdenović, 1989).

Askorbinska kislina (ASK) je polarni (vodotopni) antioksidant, ki kot močan reducent ščiti druge, tudi v maščobah topne antioksidante (Požrl, 2001). ASK, imenovana tudi vitamin C, najdemo skoraj izključno v živilih rastlinskega izvora. Največ ga najdemo v svežem sadju in zelenjavi. Razen ledvic nobeno živilo živalskega izvora ni pomemben vir vitamina. Vsebnost ASK je pogojena z različnimi faktorji, kot so vrsta, sorta, del rastline, stopnja zrelosti, osvetlitev, klima, metode obiranja, skladiščenja in procesiranja. Pri jabolkih je največ ASK pod lupino (123 mg/100 g na obsijani strani in 35 mg/100 g na senčni strani). Proti notranjosti od lupine se ASK močno zmanjšuje. Tako je koncentracija ASK pri semenu le še 2 mg/100 g (Simčič in sod., 2001).

Vitamin C ima v metabolizmu rastlin veliko pomembnih funkcij. Ena izmed njih je tudi zmanjševanje aktivnosti superoksidnih anionov in vodikovega peroksida v kloroplastih pri fotosintezi. Ima tudi pomembno vlogo pri nastajanju kolagena, ki je potreben za razvoj in obnavljanje telesnih tkiv, dlesni, krvnih žil, kosti in zob, pomaga pri celjenju ran, opeklin, znižuje raven holesterola v krvi, krepi obrambno sposobnost organizma, zmanjšuje delovanje alergenov itd. Da bi se vitamin C v sadju in zelenjavi ohranil čim dlje, je pomembno hrano skladiščiti v hladnem prostoru in čim krajši čas ter plodove narezati šele tik pred uporabo, jih ne namakati v vodi in kuhati čim krajši čas. V živilski industriji se askorbinska kislina (ASK) uporablja kot stabilizator in antioksidant v proizvodnji mesnih izdelkov, pijač in tehnologiji vin (Ball, 1998).

2.5.6 Mineralne snovi

V plodovih sadja so različne kovine in nekovine, ki so običajno v obliki organskih kislin. Delimo jih na makroelemente (kalij, fosfor, kalcij, žveplo, magnezij, železo) in mikroelemente (bor, mangan, cink, baker, molibden, kobalt). Makroelementi igrajo pomembno vlogo v izmenjavi snovi, povečujejo odpornost proti boleznim, vplivajo na nastajanje proteinov in ogljikovih hidratov ter njihove transformacije v plodovih, rast plodov, nastajanje karotenoidov, pospešujejo nastajanje vitamina C in fotosintezo ter povečujejo zmožnost jabolk za daljše skladiščenje (Gvozdenović, 1989).

2.5.7 Rastlinska barvila

Najpogostejša barvila v jabolkih so nedušikova barvila, ki dajo pri določeni vrednosti pH plodovom značilno barvo. Količina teh barvil je majhna, a odločilno prispeva k lepemu videzu plodov. Barvila, ki vplivajo na barvo plodov, nastajajo med dozorevanjem jabolk v celicah epidermisa in hipodermisa, največ med polno zrelostjo (Hribar, 1989).

Rastlinska barvila najdemo v membranah celičnih plastidov, imenovanih kloroplasti. Od rastlinskih barvil je v kloroplastih največ klorofila a in b (v kožici plodov v razmerju 3:1), karotenoidov in antocianov (Štampar in sod., 2014).

2.5.7.1 Klorofil

Količina klorofila je odvisna od sorte, prehrane, bujnosti, rodnosti idr. (Gvozdenović, 1989). Naloga klorofila (in drugih barvil) je sprejem svetlobne energije in njena pretvorba v energetsko bogate ogljikove spojine (fruktoza, glukoza, saharoza, sorbitol, škrob). Na izgradnjo klorofila vplivajo poleg osvetlitve še temperatura (nizke ali zelo visoke temperature vodijo k razgradnji klorofila). Tudi pomanjkanje N, Fe in Mg zmanjšuje količino klorofila v kloroplastih (Štampar in sod., 2014).

2.5.7.2 INDEKS I_{AD}

Spremembe temeljne barve kožice plodov spremljamo z opazovanjem na podlagi izkušenj ali s pomočjo barvnih lestvic, ki so veliko bolj zanesljive (Gvozdenović, 1989).

Za indirektno (nedestruktivno) določanje vsebnosti klorofila v koži (koščičastega) sadja je bil v Bologni (Italija) razvit ročni inštrument (DA-meter) (Nyasordzi in sod., 2013).

Prenosna naprava temelji na principu infrardeče VIS/NIR spektroskopije (Farneti in sod., 2015). Meri absorbanco znotraj absorpcijskega območja klorofila pri dveh valovnih dolžinah, in sicer pri 670 nm, ki je absorpcijski maksimum koščičastega sadja, in 720 nm, ki je absorpcijski minimum in se ne spremeni z razgradnjo klorofila v lupini plodov. Instrument poda rezultat v obliki indeksa razlike absorbanc (I_{AD}) pri 670 nm in 720 nm (Ziosi in sod., 2008). Določanje klorofila v sadju nam pokaže stanje zrelosti plodov in je lahko uporabno v različnih fazah, tako v proizvodni verigi sadja, kot tudi v ciklu porabe sadja. Med skladiščenjem se lahko uporablja za ocenitev zrelosti skladiščenega sadja in nam poda informacijo o pričakovanem roku uporabnosti, v trgovinah pa tako pripomore pri izbiri bolj zrelega sadja za prodajo itd. (Nyasordzi in sod., 2013).

Izkazalo se je, da je lahko vsebina klorofila jabolčne lupine koristen pokazatelj zrelosti jabolk. Merjenje indeksa I_{AD} z DA-metrom lahko uporabimo kot merilo za razvrščanje plodov jabolk ob obiranju za različne kakovostne razrede po skladiščenju ali pri odstranitvi iz skladišča za različne tržne razrede. Čeprav veliko preprostejši način določanja zrelosti jabolk kot je določevanje z vsestranskimi in prefinjenimi izračuni, dosegljivi z uporabo VIS-NIR spektroskopije, tak način merjenja v prihodnosti obeta njegovo uporabo pri določanju časa obiranja, kot tudi pri določanju kakovosti plodov med skladiščenjem (Nyasordzi in sod., 2013).

2.5.7.3 Karotenoidi in ksantofili

Nekaj tednov pred obiranjem se začne klorofil razgrajevati, počasi postajajo vidni prej maskirani karotenoidi. Prične se sinteza novih karotenoidov ter ksantofilov, ki dajejo kožici svetlejšo barvno odtenke. Količina barvil se običajno najintenzivneje povečuje nekaj tednov pred in med samim obiranjem (Gvozdenović, 1989). Karoteni in ksantofili igrajo pomembno vlogo v jesenskem času, ko dajo plodovom in listju značilno barvo (Štampar in sod., 2014).

Med zorenjem plodov se klorofil razgrajuje, zato prihajajo vse bolj do izraza karotenoidi in antociani. Rumena barva je posledica razgradnih produktov klorofila a, karotenoidov in njihovih derivatov, rdečo barvo, pa dajejo plodovom antociani, ki so raztopljeni v celičnem soku (Hribar, 1989).

Karotenoidi so tetraterpeni, ki se nahajajo izključno v membranah kloroplastov vseh zelenih tkiv in v stromi kromoplastov rumeno, oranžno in rdeče obarvanih tkiv. V kromoplastih imajo nalogo privabljati opraševalce in raznašalce semen in plodov (Mikulič Petkovšek, 2015). V kloroplastih imajo pomembno vlogo pri zbiranju svetlobe in pri odvajanju odvečne svetlobe iz fotosistema (Šircelj, 2008), poleg tega nevtralizirajo tudi proste radikale, reaktivne in energijsko bogate molekule, ki nastajajo v biokemijskih reakcijah celičnega metabolizma in pa nevtralizirajo zunanje vplive, ki povzročajo oksidativni stres (Batič in Raspor, 2000).

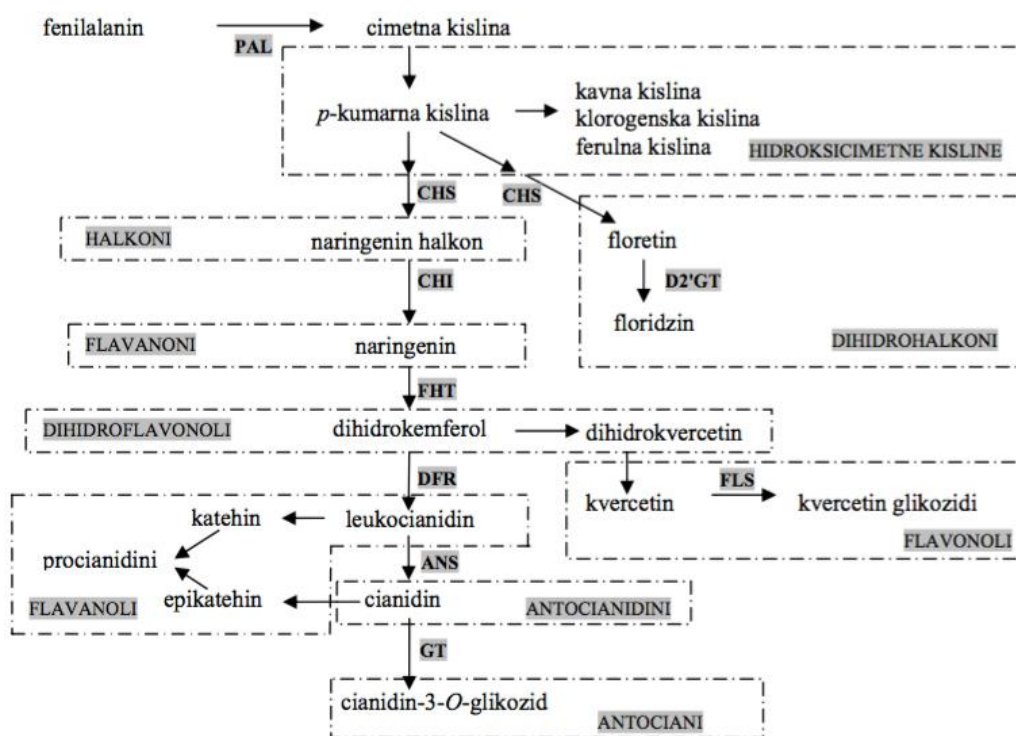
Znanih je več kot 600 različnih karotenoidov, med njimi vsebuje večina višjih razvitih rastlin betakaroten, lutein, violaksantin in neoksantin ter manjše količine zeaksantina, anteraksantina in alfa-karotena. Najpomembnejši karotenoidi so alfa- in betakaroten ter beta-kriptoksantin, ki se lahko v organizmu pretvorijo v retinol in služijo kot vir vitamina

A (Mikulič Petkovšek, 2015; Korošec, 2000). Provitamin A dobimo z mlekom, jajci, ribami, jetri in obarvanim sadjem ter zelenjavo (Korošec, 2000).

Nekatere raziskave poročajo vpliv karotenoidov na antioksidativni potencial živil, v drugih ni bilo najdene nobene povezave med vsebnostjo karotenoidov in antioksidativnim potencialom, ali pa je bil učinek karotenoidov zanemarljiv in nižji od učinka fenolnih spojin in vitamina C (Rodriguez Amaya, 2010).

2.5.7.4 Antociani

Antociani so v vodi topna barvila, ki se nahajajo v vakuolah (Gvozdenović, 1989). Uvrščamo jih med fenolne spojine, v skupino flavonoidov. Izraz antocian vključuje antocianine in antocianidine (Mikulič Petkovšek, 2015).



Slika 4: Biosintetska pot fenolnih snovi. Sekundarni metabolizem do sinteze antocianov (Jakopič, 2011: 3)

Antociani dajejo plodovom intenzivno rdečo (ali modro) barvo, ki pogosto prekrije klorofile in karotenoide. Poleg okoljskih dejavnikov, kot so svetloba, prehranjenost z elementi, pH tal, količina vode in stresni faktorji, imajo pozitiven učinek na sintezo antocianov tudi nizke nočne temperature. Te doprinesejo k zmanjšani porabi rastlinskih asimilatov, zaradi česar se zmanjša dihanje in pospeši proces fotosinteze, kar doprinese k večji sintezi antocianov (Mikulič Petkovšek, 2015). Prav tako se poveča njihova količina v plodovih, ki po obiranju ostanejo v sadovnjaku. Ker je rdeča barva jabolk nekaterih sort (jonatan, ajdared ipd.) cenjena lastnost, z obiranjem počakamo, da se akumulira kar največja količina antocianov (Gvozdenović, 1989).

Obstaja tudi nekaj dokazov, ki kaže vpliv antocianinov na zaščito proti škodljivemu ultravijoličnemu in pretiranemu sončnemu obsevanju (Merzlyak in sod., 2003). Glavnemu antocianu v jabolkih (cianidin 3-galaktozid) pa je bila pripisana vloga antioksidanta, saj lahko uničuje kisikove radikale v in vitro sistemu (Yamasaki in sod., 1996).

2.5.8 Tanin

Čreslovina ali tanin so rastlinske spojine fenolne narave grenkega in trpkega okusa z veliko molsko maso. Predstavljajo oporne snovi v jabolku in jih najdemo v soku celic (Šiško, 1983). Tanine delimo na hidrolizirajoče, kondenzirane in kompleksne. Povezuje jih skupna lastnost, in sicer tvorijo stabilne komplekse z beljakovinami, ogljikovimi hidrati, vitamini in minerali (Mikulič Petkovšek, 2015).

Če jabolko prerežemo, taninske snovi oksidirajo v rjav flobafen. Oksidacija tanina ni odvisna od temperature. Iz njega nikdar ne nastajajo sladkorji, popolnoma izgori v CO₂ in H₂O. Z zorenjem sadja tanin izgineva, in z njim tudi trpek okus (Šiško, 1983).

2.5.9 Aromatske snovi

So spojine v plodovih jabolk prisotne v zelo majhnih količinah. Njihova vsebnost je odvisna od sorte, klime, lege, stopnje zrelosti in pogojev skladiščenja (okus jabolka najbolje vzdržujemo s shranjevanjem v skladiščih s kontrolirano atmosfero) (Sinha, 2007).

Poleg sladkorjev in organskih kislin prispevajo k značilni aromi plodov še različne hlapne snovi, ki nastajajo predvsem med zorenjem plodov. Aromatske spojine niso samo estri, ampak tudi laktoni, kisline, alkoholi, ketoni, etri in acetali, karbonili in ogljikovodiki (Gvozdenovič, 1989; Štampar in sod., 2014). Spojine, kot sta etil propionat in butil acetat, dajejo jabolkom značilno aromo. Heksil acetat je zaslužen za sladko-sadno noto, 1-butanol pa za sladko. β-damascenon (cvetlična aroma), butil izoamil in heksil heksanoati, skupaj z etil-, propil- in heksil butanoati, so pomembni tvorci arome jabolka. Ostale spojine jabolčne arome so še propil acetat, butil butirat, *t*-butil propionat, 2-metilpropil acetat, butil acetat, etil butirat, etil 3-metilbutirat in heksil butirat (Sinha, 2007).

2.6 ANTIOKSIDANTI

Ko govorimo o oksidativnem stresu, govorimo o porušenem ravnotežju med prostimi radikali in antioksidanti, kar privede do različnih bolezni, kot so rak, bolezni srca in ožilja idr. (Lee in sod., 2003b; Korošec, 2000). V normalnih razmerah v celici antioksidanti z različnimi mehanizmi sproti odstranjujejo proste radikale: z lovljenjem prostih radikalov, z odstranjevanjem in/ali popravilom oksidativno poškodovanih biomolekul ter s keliranjem kovinskih ionov (Korošec, 2000). V splošnem so antioksidanti snovi, ki preprečujejo oksidacijo ali kemijske reakcije, ki vključujejo kisik (Batič in Raspor, 2000). Po definiciji živilcev in živilskih tehnologov pa so »antioksidanti tiste sestavine živil oz. tisti dodatki živilom, ki so bodisi lovilci radikalov, tvorijo kelate s kovinskimi ioni ali pa kot reducenti kako drugače preprečujejo ali zmanjšujejo pojav žarkosti živil in druge oksidativne spremembe senzoričnih in prehranskih lastnosti živil.« (Vidrih in Kač, 2000).

Nekatere antioksidante lahko sintetizira telo samo (glutation, sečna kislina, ubikinon),

druge pa dobimo s hrano (vitamini in kovine v sledovih). Razvrščamo jih v tri skupine. Prva skupina veže proste radikale in predstavljajo glavno znotrajcelično antioksidativno zaščito (superoksid dismutaza SOD, katalaza, glutationska peroksidaza). V drugo skupino sodijo reducenti, to so neencimski proteinski antioksidanti v plazmi (transferin, hemoglobin, albumin). V tretjo skupino pa štejemo sinergiste, vodotopne in v maščobah topne (lipofilne) neencimske antioksidante, ki povečujejo učinkovitost antioksidantov prve skupine; najdemo jih v plazmi, celicah in v celičnih membranah (vitamin C, glutation, sečna kislina, vitamin E, betakaroten) (Korošec, 2000).

2.6.1 Antioksidativni potencial AOP

Antioksidativni učinek sadja in zelenjave je predvsem posledica vsebnosti polifenolnih snovi, v manjši meri tudi vitaminov A, C (prispeva le 11 % celotnemu antioksidativnemu učinku) in E. Ugotovljen je bil tudi močan antioksidativen učinek nekaterih flavonoidov (flavonov, izoflavonov, flavononov, antocianinov, katehina in izokatehina) (Lee in sod., 2003b; Vidrih in Kač, 2000).

Antioksidativne lastnosti jabolk so močno odvisne od sadne sorte, kmetijske prakse, vremena, razmer skladiščenja in načina predelave (Kalinowska in sod., 2014). Nekatere aktivne fenolne spojine, kot so klorogenska kislina, floretini, epikatehini, kvercetini in procianidin B2, so bile opredeljene kot glavni antioksidanti v jabolku. Kvercetin (flavonol) dokazano največ prispeva k antioksidativnemu potencialu v jabolku (Lee in sod., 2003b).

2.6.2 Antioksidanti v rastlinah

Rastline so bogat vir naravnih antioksidantov. Za rastline najbolj nevarne ultravijolične žarke zaustavi rastlina sama že v zunanjih tkivih s pomočjo sekundarnih metabolitov (zlasti s flavonoidi in drugimi polifenolnimi spojinami). Poleg omenjene zaščite pred škodljivimi vplivi sončnih žarkov pa lahko sekundarni metaboliti v večji koncentraciji ščitijo rastlino tudi pred napadi virusov, bakterijskimi in gljivičnimi napadi ter napadi rastlinojedih živali (Kreft in sod., 2000).

Osnovni pogoj za dobro skladiščno sposobnost in primerno kakovost surovine za nadaljnjo predelavo je visoka vsebnost endogenih antioksidantov. Tudi v rastlinskih živilih najdemo celo paleto antioksidantov, katerih naloga je ohranjanje prehranske vrednosti, senzorične kakovosti izdelka, primerne videza, obstojnosti barve živila idr. (Hribar in Simčič, 2000). S primernimi tehnološkimi postopki lahko zmanjšamo negativne posledice predelave, v nekaterih primerih pa lahko prehransko vrednost živila celo povečamo. V rastlinskem substratu pri daljšem postopku toplotnega tretiranja ali pri višjih temperaturah pride do nastanka produktov Maillardove reakcije z večjo molsko maso. Ker te snovi delujejo kot antioksidanti, se živilu poveča skupni antioksidativni potencial (Nicolini in sod., 1999).

2.7 FENOLNE SPOJINE

Rastline sintetizirajo preko 5000 različnih fenolnih snovi, ki so nujne za rast in razmnoževanje rastlin. Fenolne spojine sodelujejo pri biosintezi celične stene, obarvanju cvetov, obrambi pred patogeni in številnih drugih procesih. Pomembne so pri dozorevanju

plodov, skladiščnih sposobnostih sadja in pri obrambi pred patogeni. Imajo tudi varovalni učinek pri poškodbah rastlinskega tkiva (Mikulič Petkovšek, 2015). Zlasti lupina jabolk vsebuje veliko fenolnih spojin, celo do šestkrat več kot meso jabolk (Wolfe in sod., 2003).

Fenolne spojine, ki se pojavljajo v jabolku, lahko razdelimo v več skupin (Kalinowska in sod., 2014):

- hidroksibenzojske kisline: *p*-hidroksibenzojska kislina, protokatehujska kislina, galna kislina, siringična kislina, gentisična kislina,
- hidroksicimetne kisline in njeni derivati: *p*-kumarna kislina, kavna kislina, ferulna kislina, klorogena kislina,
- flavonoli: kvercetin v glikoziliranih oblikah,
- dihidrohalkoni: floridzin in njegovi derivati,
- antocianidi: cianidini in njihovi glikozidi,
- monomerni flavanoli: epikatehin, katehin,
- oligomerni flavanoli: procianidini.

Sicer je v literaturi dokajšnja zmeda pri poimenovanju fenolnih spojin, nekateri priporočajo raje uporabo razdelitve po številu C-atomov v molekuli (Abram, 2000).

Preglednica 2: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram, 2000: 25)

Št. C atomov	Osnovni skelet	Skupina
6	C ₆	Fenoli
7	C ₆ C ₁	Fenolne kisline
8	C ₆ C ₂	Fenilacetne kisline
9	C ₆ C ₃	Hidroksicimetne kisline Fenilpropani Kumarini Izokumarini Kromoni
10	C ₆ C ₄	Naftokinoni
13	C ₆ C ₁ C ₆	Ksantoni
14	C ₆ C ₂ C ₆	Stilbeni Antrakinoni
15	C ₆ C ₃ C ₆	Flavonoidi
18	(C ₆ C ₃) ₂	Lignani Neolignani
30	(C ₆ C ₃ C ₆) ₂	Biflavonoidi
n	(C ₆ C ₃) _n	Lignini
	(C ₆) _n	Melanini
	(C ₆ C ₃ C ₆) _n	Kondenzirani tanini

Fenolne spojine so strukturno raznolika in pomembna skupina sekundarnih metabolitov rastlin (Abram in Simčič, 1997), ki jih najdemo v vakuolah, kloroplastih ali kromoplastih rastlinskih celic. Metabolite, ki se sintetizirajo v rastlini po poškodbi ali okužbi patogenov,

imenujemo fitoaleksini (Mikulič Petkovšek, 2015). To so spojine z zelo različnimi strukturami, kot so izoprenoidi, flavonoidi, stilbeni (Abram, 2000). Flavoni in flavanoli z močno absorpcijo UV žarkov zaščitijo ranljive dele celic (deoksiribonukleinska kislina, ribonukleinska kislina) pred škodljivo UV radiacijo. Flavoni so svetlo rumena, halkoni rumena, antocianini pa rdeča in modra rastlinska barvila (Mikulič Petkovšek, 2015).

Jabolka, bogatejša s fenolnimi spojinami, imajo običajno večji antioksidativni potencial (Kalinowska in sod., 2014). Nekatere fenolne spojine so učinkoviti antioksidanti, med njimi najpomembnejši flavonoidi, derivati cimetine kisline in kumarini (Mikulič Petkovšek, 2015).

Vsebnost fenolnih snovi je v zrelem sadju bistveno manjša kot v nezrelem sadju (izjema so antocianidini). Fenolne snovi vplivajo na okus in aromo sadja, predvsem velike vsebnosti katehinov in še posebej procianidinov dajejo sadju trpek in nekoliko grenek okus. Z encimsko oksidacijo fenolov pride do porjavenja mesa in delno tudi do spremembe okusa (Štampar in sod., 2014).

2.8 FLAVONOIDI

Do sedaj je znanih več kot 5000 različnih flavonoidov (Abram, 2000). Flavonoide uvrščamo v skupino polifenolov, ki spadajo med najbolj razširjene antioksidante v naši prehrani. Glavne skupine flavonoidov so: flavanoli (mono- in oligo-meri), antociani, kompleksna barvila, flavonoli, flavanoni, izoflavoni in flavoni (Vrhovšek, 2001).

V naravi so običajno glikolizirani, kar pomeni, da imajo vezane različne monosaharide (glukoza, galaktoza, arabinoza, ramnoza) ali pa tudi daljše verige na obroč. Nesladkorni del imenujemo aglikon, po katerem ločimo flavonoide na flavone, flavonole, katehine, flavanone, dihidroflavanole, flavan-3,4-diole, antocianidine, izoflavone, neoflavone, kalkone, dihidrokalkone in avrone (Abram, 2000).

Flavonoidi se nahajajo samo v živilih rastlinskega izvora (v zelenjavi, sadju in žitih) (Korošec, 2000). Sadje ponavadi vsebuje večje koncentracije flavonoidov kot zelenjava (Vrhovšek, 2001). V rastlinah se izrazijo flavonoidi kot rdeča, rumena in bela barvila cvetov, sadežev, lubja in korenin. Zaradi svojega grenkega okusa odganjajo parazite. Kot že omenjeno, lahko absorbirajo UV svetlobo, zato delujejo tudi kot zaščita rastlinam pred UV žarki. Zmožni so loviti proste radikale in so dobri agensi za vezavo bakrovih ionov, ki so nujni za začetek peroksidacije lipidov (Abram, 2000).

Glikozidi kvercetina so glavni flavonoidi v jabolkih in se nahajajo izključno v jabolčni lupini (Boyer in Liu, 2004). Kvercetin zavira proliferacijo kript debelega črevesa in zmanjšuje nevarnost divertikuloze in raka debelega črevesa (Korošec, 2000).

2.9 MINERALNA PREHRANA RASTLIN IN GNOJILA

Jablana je večletna rastlina in lahko raste ter rodi več deset let na istem mestu (Jazbec in sod., 1995; Sancin 1988). Prav zaradi tega naj bi bila tla zračna, zemlja rahla, vlažna in dobro založena s hranili (makro- in mikrohranili). Rastline pa lahko sprejemajo tudi druge koristne elemente, kot so klor, nikelj, natrij, silicij in kobalt (Štampar in sod., 2014). S

svojimi koreninami črpa iz zemlje v vodi raztopljene mineralne snovi, z nadzemnimi deli, predvsem listjem, pa sprejema iz zraka ogljikov dioksid, ki je skupaj s kisikom in vodo glavni sestavni del organskih snovi, saj sestavljajo 95-99 % rastline (Jazbec in sod., 1995).

Fizikalna in kemična analiza tal, ki jo naredimo vsakih dve do pet let, nam poda zelo koristen podatek o prehranjenosti jablan in založenosti tal. Jablane najbolj uspevajo v tleh, ki vsebujejo okoli 2 do 3 % organske snovi, 10 do 15 mg fosforja (P_2O_5) in 20 do 30 mg kalija (K_2O) na 100 g zračno suhe zemlje. Istočasno dajemo v kemično analizo mlade, nepoškodovane liste iz sredine mladik (foliarna analiza na dušik, kalij, fosfor, magnezij, kalcij) v začetku meseca avgusta (Sancin, 1988). Zelo pomembna je tudi analiza plodov prejšnjega leta, ki nam da pomemben podatek o prehranjenosti dreves. Znano je, da skupaj z jabolki iz nasada odnesemo tudi določeno količino hranil (Štampar in sod., 2014).

Občutljivost jablane na pomanjkanje hranil (Štampar in sod., 2014):

- zelo občutljiva na pomanjkanje fosforja, kalija, kalcija, bora in mangana,
- občutljiva za pomanjkanje dušika, magnezija, železa, cinka in bakra,
- manj občutljiva za pomanjkanje žvepla in molibdena.

Hranilo → gnojilo, gnojilo → hranilo

Sadno drevje črpa večino hranil iz zemlje, teh pa v zemlji ni vedno v neomejenih količinah, zato jih moramo dodajati v obliki gnojil (Jazbec in sod., 1995). Tla je potrebno globinsko pognojiti in prerahljati oz. prerigolati, da bi se korenine čimbolje razrastle in da bile v vodi raztopljene hranilne snovi čim lažje dostopne rastlinam. Pred rigolanjem je priporočljivo opraviti založno gnojenje z organskimi (hlevski gnoj, kompost, šota, podor ali zeleno gnojenje, ledina in zastirka) in z mineralnimi gnojili (dušikovimi, fosfornimi in kalijevimi gnojili), skladno s potrebami, ki jih narekuje pedološka ali kemična analiza tal. Z gnojenjem namreč povečamo založenost tal z organskimi in mineralnimi snovmi ter izboljšamo strukturo tal. Z rigolanjem nato vnašamo gnojila v globlje plasti tal. (Sancin, 1988). Katero gnojilo bomo izbrali, je odvisno od kislosti ali pH zemlje; na kislih tleh uporabimo bazična gnojila in obratno (Jazbec in sod., 1995).

Mineralna gnojila ali t.i. »umetna« gnojila so mineralne soli, ki vsebujejo enega ali več hranilnih elementov. Glede na sestavo jih delimo v enostavna in kompleksna gnojila. Enostavna mineralna gnojila vsebujejo enega glavnih elementov (dušik, fosfor ali kalij), po katerem gnojilo tudi poimenujemo, kompleksna gnojila pa vsebujejo dva ali več elementov v različnih razmerjih (Sancin, 1988).

Ker gnojimo jablane pred in med sajenjem na zalogo, v času vzgoje krošnje dodajamo tlem le manjše količine fosfornih in kalijevih gnojil. Zaradi slabe topnosti in razmeroma počasnega pronicanja v globino gnojimo s slednjimi v jeseni, ko jih tudi zadelamo čim globlje v tla (Sancin, 1988).

Ob prehodu v rodnost in v dobri rodnosti potrebujejo jablane največ kalija, kalcija in dušika, medtem ko je letna poraba fosforja manjša. Količina gnojil je pomembna, saj lahko rastlinam z neustreznim sorazmerjem dodanih gnojil porušimo prehransko fiziološko razmerje in jih s tem prizadanemo. Za jablano znaša razmerje posameznih hranil v

mešanici gnojila približno $N : P : K = 1 : 0,3 : 1,5$. Prednost dajemo tistim, ki vsebujejo poleg dušika, fosforja in kalija tudi magnezij in ostale mikroelemente (Sancin, 1988).

Preglednica 3: Vloga in delež (%) hranil v rastlini (Štampar in sod., 2014: 56)

kemični element	kemijski simbol	delež v odstotkih (%)	vloga v rastlini	kategorija
dušik	N	100	proteini, aminokisline	makroelement
fosfor	P	6	nukleinske kisline, ATP	
kalij	K	25	osmotik, ionsko premeščanje	
kalcij	Ca	12,5	gradnik celične stene	mikroelement
magnezij	Mg	8	del klorofila II	
žveplo	S	3	aminokisline	
železo	Fe	0,2	tvorba klorofila II	
baker	Cu	0,01	gradnik encimov	
mangan	Mn	0,1	aktivnost encimov	
cink	Zn	0,03	aktivnost encimov	
bor	B	0,2	gradnik celične stene	

2.9.1 Makroelementi

Glavnih hranil, ki jih imenujemo s tujko tudi makrohranila, potrebujejo rastline sorazmerno veliko in jih moramo večinoma dodajati z gnojili, saj jih navadno v tleh primanjkuje (Leskošek, 1993).

Zelo pomembno je, da uporabimo pravilno razmerje gnojil in ne le enostransko gnojenje z enim elementom, saj le-to prej škodi kot koristi. Nekateri biogeni elementi zavirajo sprejem drugih zaradi antagonizma (Šiško, 1983):

- presežek dušika (N) v tleh zavira sprejem fosforja (P) in kalija (K) ter nekaterih mikroelementov,
- pri pomanjkanju N v tleh se poveča sprejem P in K,
- prevelike doze K zavirajo sprejem magnezija (Mg) in kalcija (Ca),
- preveč Ca zavira dostop Mg in K in obratno

2.9.1.1 Dušik

V prvih letih po sajenju je najpomembnejše hranilo dušik. Zrak, ki obdaja Zemljo, vsebuje kar 80 % plinastega dušika (N_2), a ga kot takšnega rastline ne morejo uporabiti za svoje

potrebe (Leskošek, 1993). Rastline ga tako sprejemajo v obliki nitratnega iona (NO_3^-) v tleh, kjer je nitrifikacija otežena, pa v obliki amonijevega iona (NH_4^+) (Vodnik, 2012). Zaloge dušika črpa rastlina iz humusa (70-95 %), poleg njega pa so skladišča za dušik (NH_4) tudi minerali gline. Pomanjkanje dušika slabi rast, znižuje rodnost, poganjki so tanki in kratki, listi so redki, majhni, bledozeleni in sčasoma porumenijo ter predčasno odpadajo, cvetni brsti in cvetovi so redki. Pomanjkanje dušika prav tako zmanjšuje debelino plodov in kakovost (slabši okus in aroma). Previsoke količine dušika podaljšujejo čas dozorevanja plodov, plodovi se slabše obarvajo, rastline rastejo prebujno, les slabo dozoreva itd., plodovi pa se v hladilnicah tudi slabo shranjujejo (Jazbec in sod., 1995; Sancin, 1988).

Ker dušika skoraj povsod primanjkuje saj se hitro izgublja pod vplivom dežja in delovanja mikroorganizmov, gnojimo večkrat letno z dušikovimi gnojili (lahko topna), in sicer talno ali skozi listje, torej foliarno (Jazbec in sod., 1995). Dušikova gnojila pospešijo rast, povečujejo listno površino, pospešuje fotosintezo in z njo nastajanje listnega zelenila ali klorofila, vendar tudi nevarno podaljšujejo obdobje rasti - vegetacijo, zavirajo razvoj in diferenciacijo cvetnega brstja, jablana pa ostane bolj občutljiva za bolezni in nizke temperature (Leskošek, 1993; Sancin, 1988). Preveč dušika povzroči preveliko maso sadja in s tem slabšo trajnost (Šiško, 1983). Med dušikova gnojila prištevamo organska gnojila (hlevski gnoj, gnojevka itd.) in mineralna dušikova gnojila, kot so nitromonkal, sečnina, amonsulfat itd.) (Jazbec in sod., 1995).

2.9.1.2 Fosfor

Dokler nismo uporabljali mineralnih gnojil, je pri nas povsod v tleh primanjkovalo fosforja (Leskošek, 1993). Fosfor (P_2O_5) je element, ki ga potrebuje jablana manj kakor dušika in kalija (Jazbec in sod., 1995). Urejuje energetske izmenjave v vseh fizioloških procesih. Njegova prisotnost je nujna pri redukciji nitratov, ki jih vsrkajo korenine, in za naknadno sintezo aminokislin (Sancin, 1988). Vpliva na pravočasno dozorevanje lesa, sočasno pospešuje tudi cvetenje, oplojevanje in zorenje plodov (Jazbec in sod., 1995). Pomanjkanje fosforja močno vpliva na rast rastline. Odraža se predvsem v omejenem razvoju listov, ki so v manjšem številu in majhni in se ne razvijejo do normalne velikosti in debeline, poganjki pa ostanejo kratki in tanki. Pomanjkanje ne vpliva na sintezo klorofila, zato ostanejo listi temno zeleni. Pogostokrat se pojavi škrlatna barva, ker se poveča sinteza antocianov, nato listi predčasno odpadejo – senescenca (Štampar in sod., 2014; Vodnik, 2012).

Fosfor se iz gnojil najbolj izkorišča v zmerno kislih tleh. Ker so fosforna gnojila v zemlji zelo težko dostopna (zelo težko topna) in izredno počasi prodirajo v globlje plasti zemlje, jih spravimo čim globlje v zemljo, najboljše še pred sajenjem (Jazbec in sod., 1995).

2.9.1.3 Kalij

Na splošno velja, da potrebuje sadno drevje precej kalija (K_2O), a so zahteve pečkarjev nekoliko skromnejše (Jazbec in sod., 1995). Če ga je v tleh veliko, ga korenine vsrkajo več, kot je potrebno (Leskošek, 1993). Kalij regulira nabrekanje plazme, pospešuje sprejem vode in zavira transpiracijo, sodeluje pri nastajanju beljakovin in skladiščenju ogljikovih hidratov, uravnava rast korenin, povečuje odpornost proti boleznim, izboljšuje nastavek cvetja, ugodno vpliva na kakovost plodov, na debelino plodov, da sadju lepšo barvo

in tudi okus ter izboljšuje skladiščenje v hladilnicah (Jazbec in sod., 1995; Sancin, 1988; Šiško, 1983).

Pomanjkanje kalija se ne kaže takoj. V prvi fazi se zmanjša rast, šele kasneje se pojavijo kloroze in nekroze. Zaradi pomanjkanja K so rastline ovele, robovi listov potemnijo, zelena barva se spremeni v rjavordečo, nato se prično sušiti (nekroza) in vihati navzgor ter odmirati (Jazbec in sod., 1995; Leskošek, 1993; Šiško, 1983; Štampar in sod., 2014). Takšne rastline so pogosto občutljivejše na pozebo in na napade gliv (Štampar in sod., 2014). Če je kalija preveč, so posledice motnje v sprejemanju ter fiziološki dostopnosti Mg in Ca. Pretirana količina K v talni raztopini povzroča pomanjkanje Ca v plodovih jabolk in posledično nastanek motenj (fiziološke bolezni) med skladiščenjem (Leskošek, 1993).

Kalij je lažje topen in hitreje prodira v globlje talne plasti kot fosfor. Dodajamo ga v obliki kalijevih mineralnih gnojil, kot so kalijeva sol, kalijev sulfat, patentkalij itd. Priporočljivo je, da ga vnesemo v globino ob rigolanju ali kopanju jam pred sajenjem – založno gnojenje (Jazbec in sod., 1995).

2.9.1.4 Kalcij

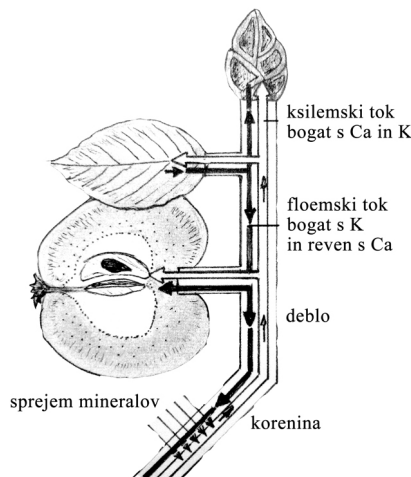
Kalcij (Ca) je makroelement, ki ga najdemo v listju, deblu in v koreninah sadnega drevja (Jazbec in sod., 1995). Je v ionski obliki, ki ima v celici zelo neenakomerno razporeditev; v citosolu je prostega Ca^{2+} zelo malo, veliko več ga je v vakuoli, endoplazmatskem retikulumu in v celični steni – kar 60 % (Štampar in sod., 2014; Vodnik, 2012). V celični steni se kalcij veže na pektinske kisline, proteine in hemicelulozo. Med zorenjem se pektini razkrajajo, zaradi česar se plodovi mehčajo; podoben učinek nastane pri napadu bolezni in škodljivcev (Štampar in sod., 2014).

Rastline sprejemajo kalcij kot ion Ca^{2+} prek koreninskega vršička, nato pa se le-ta s ksilemskim tokom premešča v nadzemni del rastline proti rastnemu vršičku. Sicer je za kalcij značilna slaba mobilnost v simplastu in floemu. Ob pomanjkanju kalcija se ta ne more premeščati iz starejših delov rastline v mlajše, tako se znaki pomanjkanja najprej pojavijo na najmlajših delih rastline (Štampar in sod., 2014). Pri jablanah se pojavi sušenje listnih robov (Jazbec in sod., 1995). Listi so sprva svetlo zeleni, pozneje dobijo rdečkasto rjave do vijoličaste pege med žilami, ki kasneje odmrejo (Šiško, 1983).

V naših kmetijskih tleh je praviloma zadosti kalcija za prehrano rastlin, kljub temu, da ga rastline potrebujejo kar precej (Leskošek, 1993), zato ni potrebno dodatno gnojiti s kalcijem, razen v primerih, ko so tla prekisla (Jazbec in sod., 1995). Kalcij je v tleh prisoten v obliki apnenca (kalcit ali kalcijev karbonat, CaCO_3) in dolomita $\text{CaCO}_3 \times \text{MgCO}_3$ (Štampar in sod., 2014). Poseben vpliv ima na reakcijo tal in na vrednost pH; apnenec počasi nevtralizira kisline v tleh, živo apno (kalcijev oksid – CaO) in hidratizirano apno (kalcijev hidroksid – Ca(OH)_2) pa hitreje (Leskošek, 1993).

Kalcij je pomemben za celične delitve in celično rast (Vodnik, 2012). Plodiči (tj. plodovi v prvi fazi razvoja) sprejemajo kalcij v prvih tednih razvoja. Med deljenjem celic je koncentracija kalcija zelo visoka, z večanjem celic pa se zmanjšuje, saj ne prihaja do dodatnega sprejemanja tega elementa. Pri močni rasti poganjkov (sinteza avksina v rastnem vršičku, tj. rastlinski hormon, ki pospešuje rast poganjkov idr.), razpoložljivega

kalcija, ki prihaja preko korenin, najprej primanjkuje v plodičih, saj poganjki zmagujejo v tekmi za kalcij. S starostjo plodičev se ti v glavnem oskrbujejo prek floema, po katerem je, kot že prej omenjeno, kalcij praktično nemobilen (Štampar in sod., 2014).



Slika 5: Shematični prikaz ksilemskega in floemskega toka po rastlini v zgodnjih stopnjah razvoja ploda, ko se ta pre-hranjuje v največji meri preko ksilema, pozneje preko floema. Floemski tok vsebuje malo kalcija, zato se v plodovih pogosto pojavi pomanjkanje (fiziološke motnje). Dodamo ga lahko foliarno (Fertina Ca) (Štampar in sod., 2014: 59)

Kalcij zavira sprejem vode in pospešuje transpiracijo, ravno obratno kot kalij (Šiško, 1983). Z dodajanjem kalcija obdržimo trdoto in kvaliteto plodov ter podaljšujemo skladiščenje (Sancin, 1988; Štampar in sod., 2014). Za dvig pH-vrednosti dodamo vsake dve do tri leta dve toni kalcita (apnena moka) z več kot 97 % CaCO_3 (Štampar in sod., 2014). Da bi preprečili pojav fizioloških bolezni jabolk (grenka pegavost, lenticelna pegavost, porjavenje mesa, jonatanova pegavost, steklavost plodov in večja občutljivost na *Gleosporium*) (Štampar in sod., 2014), še posebno v sušnem obdobju, je priporočljivo škropljenje s kalcijevim kloridom CaCl_2 , lahko tudi s fertisalom Ca (Jazbec in sod., 1995).

2.9.1.5 Magnezij

Poleg ostalih makrohranil je magnezij peto pomembno rastlinsko hranilo, saj predstavlja centralni atom v klorofilni molekuli (Leskošek, 1993; Vodnik, 2012). Največ ga je nakopičenega v zelenih delih rastline (vršički, listi, poganjki, brsti) ter manj v koreninah, skorji lesa in plodovih (Jazbec in sod., 1995; Štampar in sod., 2014). Do 25 % celotnega Mg je vezanega v klorofilu, od 5-10 % ga je v celični steni in preostali del v vakuolah (Štampar in sod., 2014). Precejšen del skupne količine magnezija sodeluje pri uravnavanju celičnega pH, razmerja med kationi in anioni ter uravnava turgor. Mg ima pomembno vlogo pri prenašanju fosforja po rastlini, s katerim pospešujeta oplodnjo in razvoj plodov (Jazbec in sod., 1995).

Ob povečani koncentraciji ionov neesencialnih potencialno toksičnih kovin ter drugih kationov, npr. kalijev (K^+), amonijev (NH_4^+) in manganov (Mn^{2+}), tudi vodikov H^+ , pride do izpodrivanja magnezijevih ionov iz koreninskega apoplasta, kar vodi v nezadosten sprejem in v pomanjkanje (Štampar in sod., 2014; Vodnik, 2012). Pomanjkanje magnezija

zmanjša fotosintezo, kar se kaže v blede zeleni (kloroza), rumenkastorjavi in nazadnje v temnorjavi barvi listja med žilami, pas ob listnih žilah in peclju pa ostane zelen (Jazbec in sod., 1995; Štampar in sod., 2014). Ker gre za dobro mobilen element, se pomanjkanje najprej opazi na spodnjih, starejših listih in šele nato na mlajših (Jazbec in sod., 1995; Vodnik, 2012). Več sladkorjev in škroba se nalaga v listih, zato je zmanjšana rast korenin. Znaki pomanjkanja se pojavijo nenadoma, drevo lahko v nekaj dneh spremeni barvo listja in ga tudi izgubi. Tako drevo se ne razvija normalno, plodovi so drobni, slabo obarvani in brezokusni. Tudi odpornost proti mrazu je zmanjšana (Štampar in sod., 2014).

Magnezij najdemo v tleh v obliki talne raztopine, večji del ga je vezanega na izmenljiv talni kompleks (Štampar in sod., 2014). Ob pomanjkanju magnezija uporabljamo magnezijeva gnojila, vendar pri nas tako gnojenje niti ni potrebno, saj so praktično vsa tla, zlasti njivska in travniška, po naravi dobro oskrbljena s tem elementom. Intenzivno gnojenje (intenzivna pridelava) bi povzročilo večji odvzem in deloma močnejše spiranje Mg. Pretirano gnojenje, zlasti s K, lahko posredno povzroči pomanjkanje Mg v rastlinah, kljub normalni oskrbljenosti tal z Mg (Leskošek, 1993).

2.9.2 Mikroelementi

Sledovna ali mikrohranila, imenovana tudi mikroelementi, so tista rastlinska hranila, ki jih, kot pove že samo ime, potrebujejo rastline le v »sledovih«. Ta hranila so bor (B), mangan (Mn), baker (Cu), cink (Zn), molibden (Mo) ter železo (Fe). Rastlinam jih dovedemo praviloma v obliki škropiva skozi list – foliarno gnojenje ali fertigacija. Tak način je izreden in z njim rešujemo pomanjkanje hranil le kratkoročno (v primeru hude suše idr.) (Štampar in sod., 2014; Leskošek, 1993).

2.9.2.1 Bor

Bor ima v rastlini pomembno strukturno funkcijo, sodeluje pri sintezi celične stene, odločilno vlogo ima pri oplodnji, tvorbi semen, uravnavanju vodnega režima v rastlini idr.. V tleh je večinoma vezan v mineralih in le v manjšem obsegu v obliki talne raztopine. Sprejem bora v rastlino je moten le v sušnih razmerah (Štampar in sod., 2014).

Znaki pomanjkanja se kažejo v motnji delitve celic in slabši rasti korenin. Pomanjkanje vpliva na trdnost celičnih sten, tvorbo lignina in ovira prerazporejanje avksinov (Štampar in sod., 2014; Vodnik, 2012). Vršički odmirajo, listne žile listov se obarvajo rdeče, listi so majhni in rozetasto razporejeni. Na plodovih nastanejo notranje in zunanje pege v mesu in na kožici, ki porjavijo, se posušijo in postanejo plutaste. Prevelike količine tega elementa povzročajo odmrtnost, nekroze na listih (Jazbec in sod., 1995; Štampar in sod., 2014).

Priporoča se foliarno gnojenje z boraksom ali fertisalom prek listov, kar izboljša oploditev in poveča ovesek, tudi če je bora dovolj (Jazbec in sod., 1995).

2.9.2.2 Železo

Kljub temu, da je v tleh zelo veliko železa (Fe), se večkrat pojavi pomanjkanje, kar se izraža v bledici in klorozi listov. Kloroza nastane, če se Fe veže na apno in ga rastline dobijo premalo. Lahko se zgodi tudi, da je v listju vezan v takšno obliko, da ga rastline

enostavno ne morejo uporabiti za določene funkcije (Leskošek, 1993). Fosfor v tleh veže železo v težko topne železove fosfate, ki so rastlini manj dostopni. Posledice pomanjkanja železa so poleg kloroze še slabša rast poganjkov in listov ter slabša rodnost in intenzivno rdeča obarvanost plodov. Železo sodeluje pri sintezi proteinov in nastajanju klorofila; več kot 80 % celotnega železa v rastlini je prav v kloroplastih listov (Jazbec in sod., 1995; Štampar in sod., 2014; Vodnik, 2012).

Klorozo zdravimo z injiciranjem železovih soli v deblo dreves ali z gnojenjem drevesnih kolobarjev z železovim gnojilom sekvestren, ki ga dodajamo na drevo (Jazbec in sod., 1995).

2.9.2.3 Mangan

Izvir iz različnih mineralov, ki so v tleh. Opravlja vlogo biokatalizatorja pri nastajanju klorofila v listju in hkrati pospešuje tvorbo vitaminov v plodovih (Jazbec in sod., 1995).

Za pomanjkanje mangana je značilna medžilna kloroza s pojavom nekrotičnih lis na mladih in starejših delih rastline, podobno kot pri pomanjkanju železa (Štampar in sod., 2014; Vodnik, 2012). Ti listi odpadejo le pri močnem pomanjkanju, kar pa ne vpliva na rast in rodnost drevesa. Občutnejše pomanjkanje se pokaže v slabši fotosintezi, zmanjšani rasti, bujnosti in tvorbi cvetov ter zmanjšanjem pridelku (Jazbec in sod., 1995; Štampar in sod., 2014).

Pomanjkanje mangana odpravimo s škropljenjem med rastjo z raztopino manganovega sulfata (Jazbec in sod., 1995).

2.9.2.4 Baker

Baker (Cu) je pomemben mikroelement in sestavni del encimov, vpliva na nastanek klorofila in sodeluje pri fotosintezi (Jazbec in sod., 1995).

Ob pomanjkanju bakra se na listih pojavljajo nekrotične (rjave) pege, najprej na konicah mlajših listov, ki se nato širijo po robovih proti bazi lista. Pozneje se listi posušijo in odpadejo. Lahko povzroči tudi odmiranje vršičkov (Jazbec in sod., 1995; Vodnik, 2012).

Pomanjkanje bakra preprečimo s škropljenjem dreves z raztopino bordojske brozge. Le v primerih, ko nasade namakamo, lahko gnojimo z bakrovim sulfatom (Jazbec in sod., 1995).

2.9.2.5 Cink

Cink (Zn) se obnaša v tleh podobno kod mangan in baker, vendar je v tleh bolj gibljiv in zato tudi bolj izpostavljen spiranju (Leskošek, 1993).

Pri pretiranem gnojenju s fosfati, ki vežejo Zn v tleh, se lahko pojavi pomanjkanje tega elementa v rastlinah. Najznačilnejši znaki pomanjkanja cinka so omejena rast, poganjki so kratki, brsti se ne razvijejo normalno, motena je tvorba cvetov, oploditev je slaba in plodovi iznakaženi. Listi so majhni, štrleči in rozetasto razporejeni, na listju se pojavijo klorotične pege (Jazbec in sod., 1995; Štampar in sod., 2014).

Pomanjkanje Zn odpravimo s škropljenjem z raztopino cinkovega sulfata (Jazbec in sod., 1995).

2.9.3 Foliarno ali listno gnojenje

Dolgoročno želimo, da bi bila tla primerno preskrbljena s hranili, organsko snovjo in primerne pH-vrednosti, kar zagotavljamo z običajnim gnojenjem, kratkoročno pa rešujemo pomanjkanje tudi z namakanjem ali fertigacijo (hranila + voda) in s foliarnim gnojenjem skozi liste. Tak način gnojenja s t.i. foliarno prehrano uporabimo kot dopolnilni ukrep, ko sprejem hranil skozi korenine ne zadošča (Sancin, 1988; Štampar in sod., 2014).

S foliarno prehrano premostimo tudi druge težave, kot so slabša dostopnost hranil v plitkih tleh z lahko sestavo ali teksturo, možno vezavo nekaterih elementov na delce v tleh, antagonizem elementov pri prehajanju v rastlino, pH in temperaturo tal, zgodnji jesenski mraz idr. (Štampar in sod., 2014). V praksi lahko gnojimo sadno drevje skozi list v primeru pomanjkanja mikroelementov, pri elementarnih nesrečah (toča, vihar), ko gre za mehanske poškodbe, v obdobju suše, če je sadno drevje na težkih tleh, ki jih nismo založno pognojili s fosforjevimi in kalijevimi gnojili in v primeru pomanjkanja dušika (Jazbec in sod., 1995).

Na osnovi rezultatov je bilo ugotovljeno, da so za sprejemanje hranilnih snovi najprimernejši mladi zeleni listi, medtem ko so drugi nadzemni deli rastline glede tega praktično nezanemljivi. Ugotovili so tudi, da je hitro dodajanje hranilnih snovi neposredno na poškodovane dele rastlin zelo pomembno in celo pospešuje aktivnost korenin in s tem sprejemanje dušika, fosforja in kalija preko korenin iz zemlje (Jazbec in sod., 1995). Listi najhitreje vsrkavajo mineralne snovi takoj po škropljenju (Sancin, 1988), skozi povrhnjico in listne reže (Štampar in sod., 2014).

Pred preveliko izgubo vode in raztopljenih snovi ščiti celice in tkiva kutikula, ki prekriva vse primarne nadzemne organe. Koncentracija tega voska na površini lista se manjša z njegovo rastjo, je obratno sorazmerna s temperaturami ob razvoju lista in se razlikuje med različnimi sadnimi vrstami. Kutikula tako predstavlja glavno oviro pri sprejemu hranil skozi liste (Štampar in sod., 2014).

Uspešnost foliarnega gnojenja je pogojena z različnimi dejavniki, od velikosti listne površine in življenjske dobe listov, do koncentracije hranil v raztopini, ki jih lahko damo rastlini brez učinka fitotoksičnosti (pojav se zmanjšuje s starostjo lista) idr. Pri neupoštevanju odmerkov namreč lahko pride do nastanka nekroz in ožigov, ki poškodujejo liste (Štampar in sod., 2014).

Najprimernejši čas za foliarno gnojenje je v zgodnjih jutranjih urah ali poznih popoldanskih oziroma v oblačnem vremenu, ko ni močnega sonca, ki bi eventualno lahko povzročil ožige na listih škropljene rastline (Jazbec in sod., 1995).

Dodajanje foliarne prehrane (Štampar in sod., 2014):

- ob cvetenju: Zn, B in N,
- za delitev celic: P,
- za trdnost celične stene: Ca,

- za večjo tvorbo ogljikovih hidratov: P in K,
- za zalogo v brstu in boljše cvetenje v naslednjem letu (na koncu sezone): N, B, Zn.

2.9.3.1 Foliarno gnojenje s sečnino – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

V obdobju suše, ko je sprejemanje hranilnih snovi preko korenin zaradi pomanjkanja vode v zemlji omejeno, je zelo uspešno foliarno dognojevanje, posebno z dušikovimi gnojili, kot je sečnina ali urea. Prav tako jo uporabimo v primeru pomanjkanja dušika (Jazbec in sod., 1995).

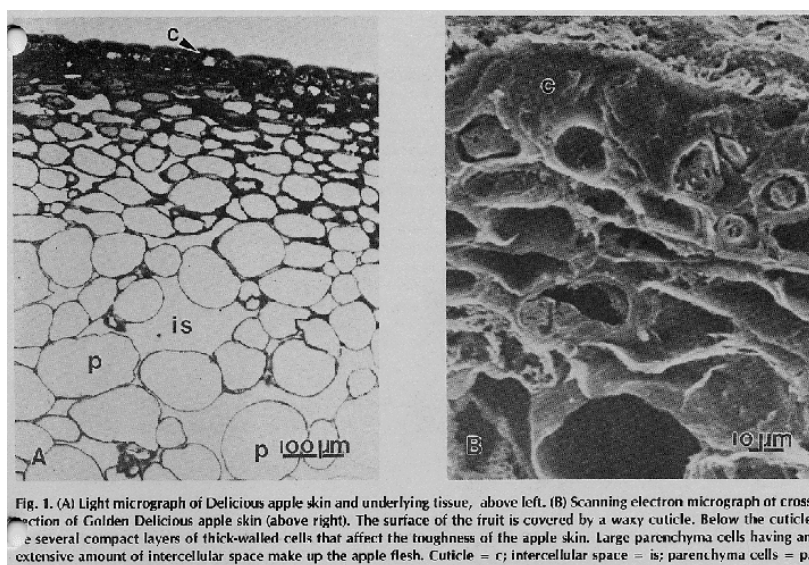
Sečnino pridobivajo iz amoniaka – NH_3 in ogljikovega dioksida CO_2 in vsebuje 46 % N (Leskošek, 1993). Zaradi svoje lahke topnosti je $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (t.i. »karbamid«) primerna za foliarno gnojenje skozi list (Jazbec in sod., 1995; Leskošek, 1993). Listje namreč vsrka sečnino takšno kot je, in jo uporabi za hrano, v nasprotju s koreninami, ki jo lahko uporabijo šele nato, ko drobnoživke v tleh predelajo sečninski dušik v amonij oziroma v nitrate. Urea, raztopljena v vodi, se lahko uporablja tudi za zalivanje ali namakanje (Leskošek, 1993).

Učinek gnojenja skozi list s sečnino se odraža v večji koncentraciji klorofila in dušika v listju. To vpliva na povečanje listne površine in debelino samega listja (Jazbec in sod., 1995).

2.9.4 Vnos kalcija v rastlino

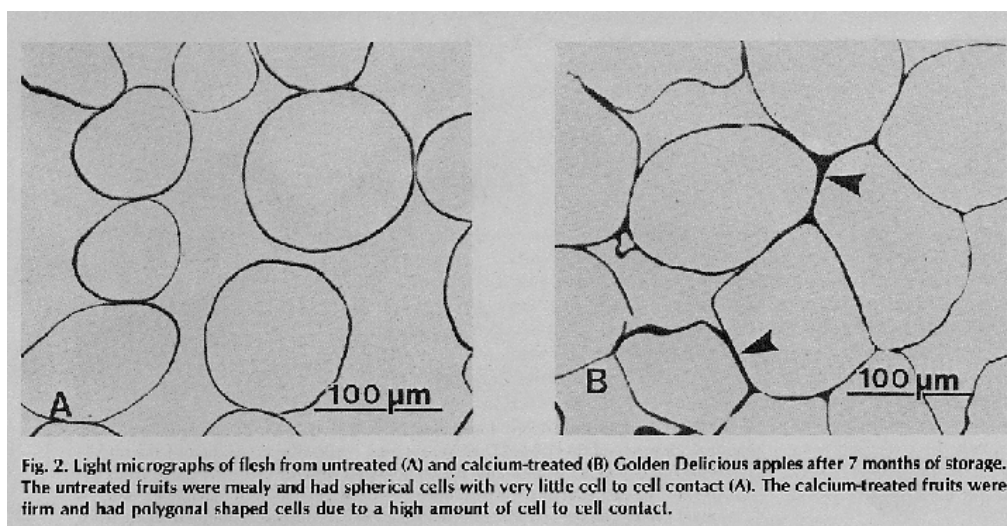
Do sedaj je bilo razvitih kar nekaj metod za povečanje vsebnosti kalcija v celičnih stenah sadnega tkiva. Te vključujejo toplotno obdelavo, potapljanje, vakuumsko infiltracijo, infiltracijo s tlakom, površinsko aktivne snovi ali premazna sredstva, foliarno gnojenje ali listno gnojenje, ali kombinacijo naštetih tehnik (Chardonnet in sod., 2003).

Za lažje razumevanje mehčanja mesa plodov med zorenjem in vpliv kalcija na spremembe v celični zgradbi plodov, so izvedli test za primerjavo celične strukture jabolk 'Zlati delišes' ob obiranju in 7 mesecev kasneje, ter jabolk tretiranih s kalcijem in nato shranjenih za 7 mesecev. Kot je razvidno iz spodnjih mikroskopskih posnetkov, se celice v koži visokokakovostnega plodu v času obiranja stikajo med sabo in v koži je le malo medceličnega prostora (Glenn in Poovaiah, 1987).



Slika 6: (A) Mikroskopska slika kože in osnovnega tkiva pod kožo jabolka sorte 'Zlati delišes' (levo zgoraj). (B) Rasterski elektronsko mikroskopski posnetek prereza kože jabolka sorte 'Zlati delišes'. Površina sadja je prekrita z voščeno kutikulo. Pod kutikulo se nahaja nekaj kompaktnih plasti debele celične stene, ki vpliva na čvrstost jabolčne kože. Velike celice parenhima, ki imajo obsežno količino medceličnega prostora, tvorijo meso jabolka. c = kutikula, is = medcelični prostor, p = celice parenhima (Glenn in Poovaiah, 1987)

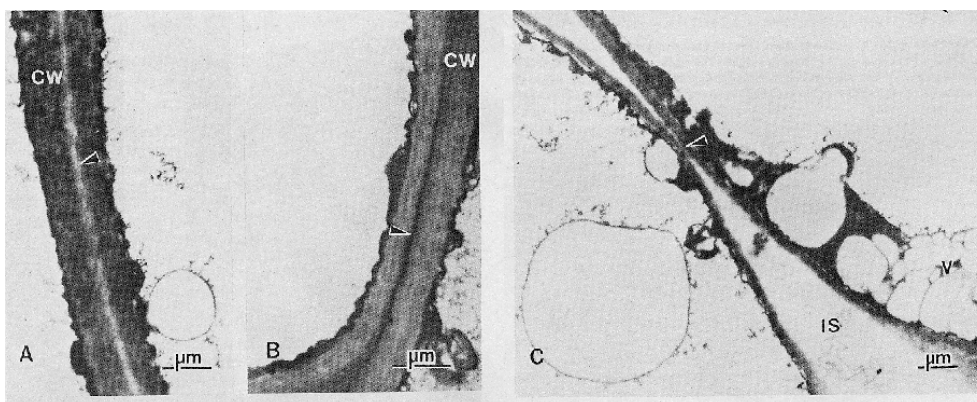
Po 7 mesecih skladiščenja je postalo takšno meso moknato, z zelo malo medceličnega stika in prišlo je do povečanja medceličnega prostora. S kalcijem tretirano sadje pa je po 7 mesecih skladiščenja ostalo čvrsto, z večjo količino medceličnega stika in ni prišlo do vidnega povečanja medceličnega prostora (Glenn in Poovaiah, 1987).



Slika 7: Mikroskopska slika s kalcijem netretiranega (A) in s kalcijem tretiranega mesa (B) jabolk sorte 'Zlati delišes' po 7 mesecih skladiščenja. Netretirano sadje je postalo moknato s sferičnimi celicami z zelo malo medceličnih kontaktov (A). S Ca tretirano sadje je bilo čvrsto in imelo mnogokotne oblike celic zaradi velike količine medceličnih kontaktov (Glenn in Poovaiah, 1987)

Pri plodovih, ki niso bili tretirani s Ca, je prišlo po 7 mesecih skladiščenja do obsežne razgradnje celične stene, zlasti v srednji lameli, kar je privedlo do separacije celične stene.

V nasprotju s tem pa je s kalcijem tretirano sadje pokazalo le manjše znake razgradnje (Glenn in Poovaiah, 1987).



Slika 8: Transmisijska elektronska mikrofografija celičnih sten netretiranih (A, C) in s kalcijem tretiranih (B) jabolk sorte 'Zlati delišes'. Opazen je razpad srednje lamelne regije v netretiranem sadju v primerjavi s kalcijem tretiranim sadjem (puščice). Celična stena s kalcijem tretiranega sadja zgleda dobro vzdrževana in ima dober medcelični stik (B). Oblikovanje mehurčkov, ki je pogosto pri staranju sadja, je bilo prisotno pri sadju, ki ni bilo tretirano s kalcijem, vendar ne v sadju tretiranem s kalcijem (Glenn in Poovaiah, 1987)

2.9.4.1 Foliarno gnojenje s kalcijem

Že leta 1914 smo dobili prvi znanstveni prispevek o oskrbovanju rastlin s hranilnimi snovmi prek listja, ki se je nanašal na foliarno gnojenje jablan, ki so zaradi škropljenja s kalijevim sulfatom imele bolj zelene liste in kvalitetnejše plodove. Koliko hranilnih snovi lahko rastlina sprejme prek listja, pa je bilo mogoče ugotoviti šele z izotopi (Jazbec in sod., 1985).

O preprečevanju pojava fizioloških bolezni (grenka pegavost idr.) in škropljenju so pisali že Jazbec in sod. (1985). Kot že omenjeno, so priporočali tudi škropljenje s CaCl_2 . Vsi večji svetovni proizvajalci jabolk uporabljajo listno ali foliarno gnojenje s kalcijem za povišanje vsebnosti Ca v sadju in zmanjšanje pojava grenke pegavosti na plodovih. Pri grenki pegavosti gre za fiziološko bolezen plodov, ki se lahko pojavi že v nasadu, najpogosteje pa med skladiščenjem. To je bolezen mlajših nasadov ali predebelih in prezgodaj obranih plodov. Preprečimo jo s pravilno prehrano in s škropljenjem dreves s kalcijevim listnim gnojilom. Ca lahko začnemo dodajati že po cvetenju, najpomembnejša pa so zadnja tri škropljenja pred obiranjem.

Učinkovitost posameznih gnojil glede na absorpcijo kalcija in na zmanjšanje grenke pegavosti je različna, kar so dokazovali v svoji raziskavi Lötze in sod. (2008). Izkazalo se je, da je učinkovitost različnih kalcijevih gnojil odvisna med drugim tudi od časa apliciranja škropiv (stopnje razvojne faze) in sestave samih škropiv. V raziskavi so bili uporabljeni kalcijev nitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), Calcimax in kalcijev acetat v treh različnih (zgodnji, vmesni in pozni) razvojnih fazah plodov. Vsebnost kalcija je bila višja pri apliciranju s $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ v pozni razvojni fazi ob obiranju kot pa pri apliciranju med zgodnjo in vmesno fazo. Škropljenje s kalcijevim acetatom med vsemi tremi fazami razvoja ni pokazalo nobenih sprememb v vsebnosti kalcija ali pri pojavu grenke pegavosti v plodovih.

Muršec in sod. (2004) so v svojem dvoletnem poskusu ugotavljali vpliv tal in različnih kalcijevih foliarnih gnojil na kakovost plodov jabolk sorte 'Jonagold'. V raziskavi so ugotovili nizko stopnjo korelacije med tlemi in plodovi glede mineralne sestave (Ca, Mg in K), dodani pripravki niso pokazali statistično značilnega učinka na samo vsebnost kalcija v plodovih, prav tako niso ugotovili statistično značilnega vpliva dodanih kalcijevih pripravkov na trdoto, maso in velikost plodov. Njihov vpliv se je izrazito pokazal šele pri razmerjih med Mg, K in Ca v plodovih, kjer so kontrolni plodovi kazali najslabše skladiščne sposobnosti. Nizko stopnjo korelacije so ugotovili tudi med posameznimi parametri kakovosti plodov (vsebnost Ca, Mg in K v plodovih, trdota plodov).

Mehčanje plodov jabolk je po navedbah povezano z izgubo kalcija iz srednje lamele. Zato je za ohranjanje čvrstosti sadja aplikacija kalcija pričakovana. V raziskavi so bili uporabljeni pred obiranjem nanosi kalcija s kalcijevimi škropivi. Ugotavljali so metabolizem celične stene. Nanašanje kalcija je izboljšalo adhezijo celic in ohranjanje celične srednje lamele. Takšno sadje je imelo višjo vsebnost ionsko vezanih pektinov in matričnih glikanov, kar vodi do višje stopnje čvrstosti plodov (Ortiz in sod., 2011).

Brown in sod. (1996) so raziskovali vpliv škropljenja s kalcijevim hidroksidom in v kombinaciji z bakrovim hidroksidom po cvetenju na kakovost sadja (češenj in jabolk). Škropiva so bila aplicirana na jablane v 8 tednih po cvetenju. Sam kalcijev hidroksid ni imel nobenega vpliva na izmerjene parametre. Kombinacija škropiv bakrove in kalcijeve mešanice pa je izboljšala čvrstost mesa v jabolkih sorte 'Zlati delišes'.

2.9.4.2 Potapljanje plodov v raztopino CaCl_2

Chardonnet in sod. (2003) so v svojih poskusih raziskovali vpliv prepajanja (infiltracija s tlakom) s kalcijem (CaCl_2) na kemične spremembe med skladiščenjem v kortikalnem tkivu in v celičnih stenah jabolk sorte 'Zlati delišes'. Rezultati so pokazali, da pride med skladiščenjem do povečanja skupnega in v celični steni vezanega kalcija v jabolčnem tkivu. Za največjo akumulacijo kalcija v tkivu in v celični steni sadja, skladiščenega od 4-6 mesecev, se je izkazala 2 % raztopina CaCl_2 . Vsebnost vezanega kalcija v celičnih stenah jabolk tretiranih z 2 % CaCl_2 je bila kar 3,5-krat večja po 6 mesecih skladiščenja, kot po dveh tednih skladiščenja, vsebnost kalcija vezanega v kortikalnem tkivu pa 65 % večja po 4 mesecih skladiščenja, kot po 2 tednih skladiščenja. S kalcijem prepojeni plodovi so imeli višjo raven skupnega kalija, natrija in v celični steni vezanega magnezija, in manjšo izgubo sladkorjev arabinoze in galaktoze po 6 mesecih skladiščenja v primerjavi s plodovi, ki niso bili tretirani s CaCl_2 . Posledično je bila tudi zmanjšana razgradnja celične stene med shranjevanjem pri sadju, tretiranem z 2 % CaCl_2 .

Vpliv kalcijevega klorida so raziskovali tudi Jan in sod. (2013), in sicer njegov vpliv na fizikalne lastnosti in na mehko bakterijsko gnilobo plodov treh različnih jabolčnih kultivarjev. Sadeži so bili za 12 minut potopljeni v raztopino kalcijevega klorida (0 % in 9 %) in skladiščeni 150 dni pri temp. 5 ± 1 °C in relativni vlažnosti 60-70 %. Apliciranje z raztopino CaCl_2 ni le izboljšalo kakovosti plodov jabolk, ampak hkrati tudi zmanjšalo pojavnost mehke gnilobe, zato je uporaba CaCl_2 zelo priporočljiva za doseganje boljših skladiščnih sposobnosti jabolk.

2.9.4.3 Premaz s karboksimetilcelulozo (CMC)

Karboksimetilceluloza je aditiv, ki ima široko uporabnost. V agroživilski industriji se uporablja za izboljšanje vlažnosti, kot zgoščevalec ali stabilizator emulzij (Blanco, 2010). Uživamo jo v raznih jedeh in pijačah, brez da bi se zavedali, saj je nevtralnega okusa. Je časovno stabilen zaščitni koloid, ki dobro tvori filme. Na trgu se ponuja v obliki praškov, granulotov in viskoznih raztopin (Nemanič, 2011).

Gre za natrijevo sol karboksimetil estra celuloze ali CMC, ki je v vodi topen celulozni derivat. Na površini jabolka ustvari polprepustni film/plašč za kisik, ogljikov dioksid (reducira transmisijo plinov), vlago in gibanje topljenca (Lee in sod., 2003a). CMC tako poveča vsebnost CO₂ in zmanjša koncentracijo O₂, podobno kot pri shranjevanju v skladišču s kontrolirano atmosfero (Sinha, 2007). Torej, upočasnjuje celično dihanje, zmanjša izhlapevanje vode in stopnjo oksidacije ter s tem podaljša življenjsko dobo plodu. Raziskave so pokazale, da aditiv CMC izboljša tudi senzorične lastnosti jabolka (Lee in sod., 2003a).

Kalcijev propionat je kalcijeva sol propionske kisline, ki se prav tako uporablja v živilski industriji (npr. v pekovskih izdelkih). Ta kemikalija bi bila lahko potencialno dober vir kalcija. Kalcijev propionat je bil uspešno testiran kot fungicid na breskvah in na jabolkih kot zaščita in kurativa proti okužbi s plesnijo vrste *Botrytis cinerea* (Blanco, 2010).

2.10 SKLADIŠČENJE JABOLK

Kakovost jabolk ni odvisna le od oskrbe nasada. Pomembno je tudi pravočasno in pravilno obiranje in shranjevanje jabolk. Kljub temu, da sodi jabolko med manj občutljivo sadje pri shranjevanju, moramo upoštevati razlike med kultivarji ter uravnavati primerno temperaturo, sestavo zraka in relativno vlago. Prizadevanje za boljše ohranjanje in preprečevanje izgub je gospodarskega pomena, kakor tudi s prehranskega vidika (Gvozdenović, 1989).

Sadje, ki ga skladiščimo dalj časa, obiramo v času fiziološke zrelosti, saj se proces dihanja in z njim povezane spremembe v plodu ne ustavijo in sadje zori v skladišču dalje. Biti mora zdravo, brez znamenj fizioloških obolenj (Gvozdenović, 1989; Štampar in sod., 2014). Jabolka v hladilnicah lahko skladiščimo do dvanajst mesecev. Takoj po obiranju jih moramo odpeljati v hladilnico, v komore, ki ne prepuščajo plinov, in v čim krajšem času vzpostaviti/zagotoviti primerne razmere (vlaga, temp., delež CO₂ in O₂) (Štampar in sod., 2014). Namreč, prepočasno zniževanje temperature, zvečanje količine CO₂ in zmanjšanje O₂ v hladilnicah s kontrolirano atmosfero lahko močno zmanjša učinke shranjevanja (Gvozdenović, 1989).

Pri jabolkih se pri temperaturah višjih od 20 °C pojavlja klimakterijski maksimum dihanja, pod 4 °C pa se dihanje upočasnjuje (Gvozdenović, 1989). Z uravnavanjem pogojev skladiščenja in z upočasnitvijo pojava klimakterijskega maksimuma oz. z zmanjševanjem intenzivnosti dihanja močno podaljšamo življenjsko dobo uskladiščenih plodov. To dosežemo najbolj učinkovito z znižanjem temperature in s povečanjem količine CO₂ ter zmanjšanjem količine kisika v skladišču (Suwa Stanojević, 1995).

Med skladiščenjem nastanejo na plodovih izrazite spremembe. Spremeni se osnovna barva kože iz zelene v rumeno. Trdota mesa in odpornost tkiva, ki sta neposredno odvisna od čvrstosti celičnih membran in od kemične oblike pektina, se spreminjata med dozorevanjem in staranjem plodov. Del netopnega pektina se spremeni v topnega, kar povzroča mehčanje tkiva in pojavijo se vidni znaki staranja plodov. Zaradi transpiracije in dihanja pride tudi do izgube teže in sprememb v kemijski sestavi (hitro zmanjševanje skupnih kislin). Plodovi so vedno bolj izpostavljeni pojavu fizioloških in mikrobioloških bolezni. Tudi v notranjosti plodov pride do izredno velikih sprememb: izguba značilne svežine, poslabšanje okusa, izguba aromatičnosti in pojav moknatosti. Zmanjša se vsebnost vitaminov in energijska vrednost plodov. Pri najbolj izrazitih starostnih pojavih se pojavi porjavenje, predvsem na koži in ob žilnih snopih (Hribar, 1989).

Hormonalno ravnotežje, razgradnja beljakovin in ribonukleinske kisline, razgradnja klorofila in spremembe v prepustnosti celičnih membran so v korelaciji. Z razgradnjo beljakovin se zmanjšuje prepustnost membrane, to pa pospešuje dihanje in vodi do klimakterijskega maksimuma. Nato se dihanje neprenehoma zmanjšuje, vse do končne faze staranja (Beevers, 1976).

Med zorenjem plodov se zaradi intenzivnejšega dihanja sprošča več hlapnih snovi, med njimi najbolj pomemben t.i. zorični plin etilen C_2H_4 , eden izmed prvih odkritih rastlinskih hormonov. Etilen je nenasičeni ogljikovodik (Vodnik, 2012), ki nastaja pri nepopolni oksidaciji sladkorjev in pospešuje zorenje plodov, še več pa ga nastaja pri povišani temperaturi in zaradi sprememb v metabolizmu rastlin. Da bi upočasnili zorenje jabolk med skladiščenjem, odstranjujemo etilen iz atmosfere s pomočjo posebnih naprav (Suwa Stanojević, 1995).

2.10.1 Skladiščenje v normalni atmosferi (NA)

Za daljše shranjevanje jabolk v hladilnicah je priporočljiva temperatura od 0-5 °C, odvisno od sorte, območja idr. Sorte, ki niso občutljive za nizke temperature, shranjujemo pri 0 °C, občutljive pa pri 2-4 °C. Na plodovih sort, ki so občutljive za nizke temperature (predvsem tropsko sadje), lahko pride do pojava fizioloških obolenj, ki jih povzročijo motnje v procesu izmenjave snovi (Gvozdenović, 1989).

Relativna vlažnost zraka v običajnih hladilnicah z NA (ang. Normal Atmosphere), v katerih shranjujemo jabolka, se giblje okoli 90-95 %. Prevelika zračna vlažnost lahko privede do pojava fizioloških in glivičnih obolenj (Gvozdenović, 1989).

V hladilnicah z NA se koncentracija etilena regulira s stalnim dovajanjem svežega zraka v ustreznih količinah. Pri shranjevanju v NA je lahko koncentracija etilena tudi do 100-krat večja kot pri shranjevanju v CA pri jabolkih iste sorte (Gvozdenović, 1989).

2.10.2 Skladiščenje v spremenjeni – kontrolirani atmosferi (CA)

Pri dolgotrajnem skladiščenju sadja se že vrsto let uporablja kontrolirana atmosfera (ang. Controlled Atmosphere) s konstantno sestavo atmosfere, ki je običajno prilagojena vrsti in sorti sadja. Skladišča, v katerih uravnavamo sestavo zraka, imenujemo skladišča oz. CA hladilnice. Izhodišča za sestavo kontrolirane atmosfere predstavljajo rezultat večletnih

izkušanj (Viršček Marn in Stopar, 1998; Hribar in sod., 2008). Skladiščenje v takšni atmosferi je tehnološko najboljše, manj je gnitja sadja, manjše so izgube teže, dosežemo boljšo kakovost in daljše shranjevanje sadja (Suwa Stanojević, 1995). Vendar se lahko v kontrolirani atmosferi pojavijo poškodbe v notranjosti plodu in tudi kožice zaradi visokih vsebnosti CO₂ in/ali nizke vsebnosti O₂ (Gvozdenović, 1989).

V hladilnicah s kontrolirano atmosfero moramo preprečiti nekontroliran vdor svežega zraka. Še preden celice plinotesno zapremo, moramo ohladiti sadje na temperaturo, nižjo za 0,5 °C od tiste, pri kateri ga bomo shranjevali. Zelo pomembno je, da v celicah s kontrolirano atmosfero poleg temperature hitro zmanjšamo tudi količino kisika (Gvozdenović, 1989). To dosežemo tako, da prek generatorja v komoro dovajamo dušik, ki v enem dnevu izpodrine kisik in njegovo količino zmanjša na približno 4 % (Štampar in sod., 2014). Normalno je v ozračju 21 % O₂ in 0,03 % CO₂ (Gvozdenović, 1989). Sestavo zraka v CA najpogosteje uravnavamo tako, da povečamo količino CO₂ na 0,8-3 % in zmanjšamo količino kisika na 1-2 % (Štampar in sod., 2014; Sinha, 2007). Relativno vlažnost vzdržujemo pri 92-95 % (Sinha, 2007). Na tak način upočasnimo metabolične procese zorenja in kvarjenja (Gvozdenović, 1989).

Za nemoteno delovanje celic s CA moramo postaviti v celice tudi pralnik plina, ki odstranjuje odvečne količine CO₂ in etilena (Suwa Stanojević, 1995). Princip temelji na vezanju CO₂ na neko snov, bodisi na močno bazo, ki kemično veže CO₂, ali fizikalno po principu adsorpcije (aktivno oglje) (Šiško, 1983). Znano je tudi, da velika vsebnost O₂ pospešuje in krepi učinek etilena, visoke koncentracije CO₂ pa učinkujejo antagonistično, saj upočasnjujejo procese zorenja (Gvozdenović, 1989).

Ker v hladilnici ni svetlobe, ne pride do sprememb v vsebnosti antocianov (Gvozdenović, 1989).

2.10.2.1 Skladiščenje v atmosferi z ultra nizko vsebnostjo kisika (ULO)

Glavna prednost skladišč s kontrolirano atmosfero ULO je upočasnitev zorenja in staranja izdelka, ki se shranjuje. Optimalne pogoje, ki zagotavljajo kakovost in dolgoročno shranjevanje sadja – celo do naslednje sezone, dosežemo s pravilno izbiro hladilnih sistemov in opreme za doseganje atmosfere z majhno vsebnostjo kisika in ogljikovega dioksida. Nizka vsebnost kisika (ULO) se povečini uporablja pri skladiščenju jabolk in hrušk v kontrolirani atmosferi (Hribar in sod., 2008).

Zmanjšan delež kisika tako vpliva na zmanjšano izločanje endogenega etilena in CO₂. Pod stresnimi pogoji (nizek O₂ in visok CO₂) lahko pride do poškodb tkiva sadja, kar se kaže kot porjavenje v sredini ali na površini plodov. Premile razmere skladiščenja pa pomenijo krajšo življenjsko dobo plodov. Vsebnost CO₂ je pri skladiščenju v ULO znatno nižja od vsebnosti v normalni CA (Hribar in sod., 2008).

Zaradi nizke vsebnosti O₂ in visoko vsebnostjo CO₂ lahko pride do pojava anaerobnega metabolizma v plodovih in posledično pride do akumulacije acetaldehida in etanola v plodovih in atmosferi. Slednja povzročata v plodovih priokus, sta za celice toksična in v visokih koncentracijah predstavljata visoko tveganje za nastanek fizioloških obolenj. Acetaldehid, prekursor etanola, je tako pomemben dejavnik pri spremljanju odziva rastlin

na pomanjkanje kisika in predstavlja merilo za ugotavljanje nezaželenih anoksičnih (ni prostega kisika) razmer v skladiščenih jabolkih (Hribar in sod., 2008).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Jabolka

V okviru eksperimentalnega dela smo uporabili 101 vzorec jabolk sort 'Aroma' in 'Discovery' iz dveh eksperimentov v različnih pogojih. Obe sorti sta bili konvencionalno pridelani. Poleg običajnega gnojenja so bile jablane dodatno foliarno gnojene z dušikom v obliki uree, kalcijem in s kombinacijo obeh. Odmerek dušika, kalcija oziroma kombinacija obeh je znašala 3 kg oziroma 2,5 kg/ha za enkratno aplikacijo; foliarno gnojenje je bilo izvedeno šestkrat. Na enoto površine (ha) je bilo skupno apliciranega 18 kg dušika v obliki uree, 15 kg kalcija v obliki CaCl_2 ter kombinirano kalcija in dušika 18 kg N + 15 kg CaCl_2 . Za primerjavo (kontrola) smo uporabili plodove jablan brez foliarnega gnojenja.

Za prvi eksperiment so bili vzorci plodov obeh sort jabolk 'Aroma' in 'Discovery' analizirani takoj po obiranju (čas 0) in po dveh mesecih skladiščenja pri različnih pogojih (jabolka sorte 'Aroma' pri 1 °C v ULO, jabolka sorte 'Discovery' pri 1 °C v NA) ter ustrezno zamrznjeni skupaj z 2 % metafosforno kislino (stabilizator) za kasnejše analize.

V drugem eksperimentu smo za pripravo vzorcev jabolk uporabili le plodove sorte 'Aroma'. Jabolka so bila ob obiranju dodatno razdeljena v tri skupine, in sicer z visokim ($> 0,81$), srednjim ($0,66 - 0,80$) in nizkim ($< 0,65$) indeksom I_{AD} , izmerjenim takoj po obiranju. Skladiščenje plodov je potekalo približno 3 mesece v dveh različnih atmosferah (pri 1 °C v NA in ULO – 2 % O_2 in 2 % CO_2). Polovica vzorcev jabolk je bila analizirana po treh mesecih, preostalo polovico pa smo pustili zoreti dodatnih 12 dni pri temperaturi 20 °C v NA.

3.1.2 Reagenti

Pri delu smo uporabili analitsko čiste reagente podjetij Europa Scientific, Merck in Sigma. Kemikalije, uporabljene pri posameznih eksperimentih, so navedene v opisih pri posamezni eksperimentalni metodi.

3.2 METODE DELA

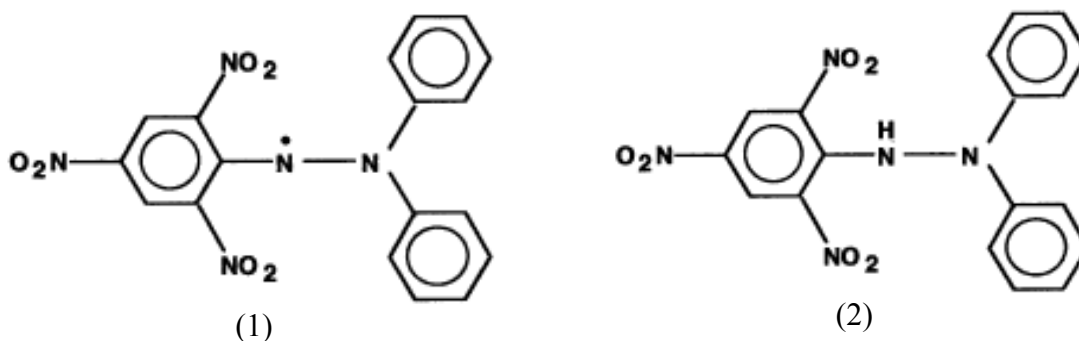
3.2.1 Priprava vzorcev za analizo

Plodovi obeh sort (plod brez peščiča) so bili zmleti in zamrznjeni v 2 % metafosforni kislini (MFK), v razmerju 10 g jabolk v 20 mL 2 % MFK. Pred začetkom našega dela smo vsak vzorec odmrznili, centrifugirali 6 minut pri 4000 obratov/min., uporabili le supernatant, in sicer po 2 mL v vsako ependorfko (4 paralelke) in zopet centrifugirali 5 minut pri 16.000 obratov/min. V tako pripravljenih vzorcih smo določali kemijske parametre (flavonoide, skupne fenole, AOP in AOP_{EA}).

3.2.2 Določanje antioksidativnega potenciala s prostim radikalom DPPH[•] (AOP)

Opis metode

Prvi zametki metode s prostim radikalom DPPH[•] segajo v leto 1958, ko jo je med svojim delom na Stanford University razvil Marsden Blois (Molyneux, 2004). Je ena najstarejših indirektnih metod za določanje antioksidativne učinkovitosti. Gre za kolorimetrično (spektrofotometrično) določanje vsebnosti prostega DPPH[•] radikala. DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) je označen kot stabilen prosti radikal, z absorpcijskim maksimumom pri 517 nm in ima sposobnost delokacije prostega elektrona okoli celotne molekule. Delokacija je tudi odgovorna za intenzivnost vijolične barve radikala. Ko pride do reakcije med stabilnim prostim radikalom DPPH[•] in donorji vodika (antioksidantom), se tvori reducirana oblika svetlo rumeno obarvanega DPPH₂. Absorbanco merimo pri valovni dolžini 517 nm, reakcijski čas metode pa naj bi bil okoli 30 minut. DPPH₂ pri valovni dolžini 517 nm ne absorbira, zato se absorbanca zniža. Zmanjševanje absorbance je torej proporcionalno vsebnosti antioksidantov v vzorcu.



Slika 9: Molekula DPPH[•] radikala (1) in reducirana oblika DPPH₂ (2) (Molyneux, 2004: 212)

Rezultate lahko podamo z izračunom razmerja med številom molov DPPH[•], ki zreagira, s številom molov določenega antioksidanta. V praksi pa se zaradi kompleksnosti in nepoznavanja dejanske sestave in molarnosti antioksidantov, podaja antioksidativno učinkovitost vzorca kot razmerje med številom molov DPPH[•], ki reagirajo z antioksidanti v 1 g suhe snovi (Molyneux, 2004).

Reagenti

- DPPH[•], (Sigma, Nemčija)
- metanol (Merck, Nemčija),
- destilirana voda (dH₂O).

Aparatura in pribor

- centrifuga,
- ependorfke,
- merilne bučke (100 mL),
- ultrazvočna kopel,
- analitska tehtnica,

- avtomatska pipeta,
- plastični tipsi,
- plastične kivete
- stoparica,
- UV-VIS spektrofotometer.

Izvedba analize

- Raztopino DPPH[•] radikala pripravimo svežo vsak dan sproti, saj je le-ta precej nestabilna. V 100 mL bučko zatehtamo 4 mg DPPH[•] in dodamo 20 mL metanola. Za nekaj minut jo damo zaprto v ultrazvočno kopel, da se reagenti popolnoma raztopijo. Na spektrofotometru pomerimo absorbanco pri valovni dolžini 517 nm in dodajamo metanol toliko časa, da dosežemo absorbanco raztopine 1,05.
- Pripravljene zamrznjene vzorce (ekstrakt jabolk v metafosforni kislini) v ependorfkah odmrznemo. Pripravimo 3 paralelke za vsak vzorec. Vsako kiveto dopolnimo s 60 µL pripravljenega vzorca, dodamo 1,5 mL raztopine DPPH[•], zmešamo in počakamo 15 minut ter izmerimo absorbanco pri 517 nm valovne dolžine.
- Pripraviti moramo tudi slepi vzorec (SP) za vsak vzorec posebej, tako da v kiveto zmešamo 60 µL vzorca in 1,5 mL metanola. Počakamo 15 minut ter izmerimo absorbanco pri 517 nm valovne dolžine.
- Pripravimo referenčni vzorec (RF): v kiveti zmešamo 60 µL metanola in 1,5 mL raztopine DPPH[•]. Počakamo 15 minut ter izmerimo absorbanco pri 517 nm valovne dolžine.

Izračun

$$\Delta A = A_{RF} - A_{VZ} + A_{SP} \quad \dots (3)$$

$$n \text{ (mol)} = \Delta A / \varepsilon \cdot (V_{RZ} \cdot l) \quad \dots (4)$$

$$l = 0,4 \text{ cm}$$

$$\varepsilon = 12000 \text{ L/mol} \cdot \text{cm}$$

$$V_{RZ} = V_{VZ} (60 \text{ µL}) + V_{DPPH} (1,5 \text{ mL}) = 1,56 \text{ mL} = 0,00156 \text{ L}$$

$$AOP \text{ (mmol/L)} = n_{AOP} \cdot 1 \cdot 10^6 \cdot 10^3 / 60 \quad \dots (5)$$

$$AOP \text{ (mmol/100 g)} = AOP \text{ (mmol/L)} \cdot V_{EKS} \cdot 100 / m_{jab} \quad \dots (6)$$

$$V_{EKS} = 0,03 \text{ L}$$

$$m_{jab} = 10,0 \text{ g}$$

ΔA ustreza razliki absorbance med referenčno raztopino (metanol in DPPH[•]) in raztopino vzorca (DPPH[•] in vzorec), kateri prištejemo slepo probo (vzorec in metanol), ε je molarni absorpcijski koeficient DPPH[•] pri valovni dolžini 517 nm, V_{RZ} je volumen reakcijske

zmesi, l predstavlja dolžino poti svetlobe skozi vzorec, V_{EKS} je volumen ekstrakta, uporabljen pri analizi (0,03 L), m_{jab} pa masa jabolka. V literaturi je vrednost ϵ v metanolu (ali etanolu) pri valovni dolžini 517 nm navedena med 11600 in 12500 L/mol·cm (Molyneux, 2004).

Na osnovi meritve absorbance vzorca, slepe probe in referenčne vrednosti iz enačbe (3) izračunamo ΔA . S pomočjo Beer-Lambertovega zakona izračunamo množino porabljenega reagenta DPPH (4) in po formuli z enačbo (5) in (6) izračunamo vrednost AOP v mmol_{DPPH}/100 g (Miculinić Trošt, 2016).

3.2.3 Določanje antioksidativnega potenciala v etil acetatu topne frakcije (AOP_{EA})

Reagenti

- radikal DPPH[•] (C₁₈H₁₂N₅O₆),
- etil acetat (C₄H₈O₂),
- destilirana voda (dH₂O).

Aparatura in pribor

- steklene epruvete s zamaškom za merjenje maščobnih kislin,
- UV kivete (1,5 mL),
- Pasteurjeve steklene pipete,
- gumijasti nastavki za pipete,
- avtomatske pipete,
- tipsi (plastični in stekleni),
- merilne bučke (100 mL),
- čaša (100 mL),
- latex rokavice,
- analitska tehtnica,
- digestorij,
- centrifuga,
- stresalnik,
- štoparica,
- UV-VIS spektrofotometer.

Izvedba analize

- Centrifugirane vzorce zmlete v metafosforni kislini (iz ependorfk) dalje pripravimo tako, da v vsako stekleno epruveto s pokrovom dodamo po 3 mL vzorca in 3 mL etil acetata (v razmerju 1:1). Nato pol minute stresamo na stresalniku. Sledi centrifugiranje pet minut pri 3000 obratov/min. Te vzorce uporabimo za pripravo slepe probe in vzorca.
- Priprava raztopine DPPH: V 100 mL bučko zatehtamo 4 mg DPPH[•] in dodamo 20 mL etil acetata. Na spektrofotometru pomerimo absorbanco pri valovni dolžini 517 nm in dodajamo etil acetat toliko časa, da dosežemo absorbanco raztopine približno 1.

- Referenčno raztopino (RF) pripravimo tako, da zmešamo 0,5 mL etil acetata in 1,5 mL raztopine DPPH.
- Za merjenje absorbance samega vzorca zmešamo 0,5 mL vzorca in 1,5 mL raztopine DPPH.
- Slepo probo (SP) pripravimo tako, da zmešamo 0,5 mL vzorca in 1,5 mL etil acetata.
- Absorbanco merimo pri valovni dolžini 517 nm po 30 minutah.

Izračun

$$V_{\text{RZ}} = V_{\text{VZ}} (0,5 \text{ mL}) + V_{\text{DPPH}} (1,5 \text{ mL}) = 2 \text{ mL} = 0,002 \text{ L}$$

$$\text{AOP}_{\text{EA}} (\text{mmol/L}) = n_{\text{AOP}} \cdot 1 \cdot 10^6 \cdot 10^3 / 500 \quad \dots (7)$$

Na osnovi meritve absorbance vzorca, slepe probe in referenčnega vzorca iz enačbe (3) izračunamo ΔA . S pomočjo Beer-Lambertovega zakona izračunamo množino porabljenega reagenta DPPH (4) in po formuli z enačbo (7) in nato (6) izračunamo vrednost AOP_{EA} v $\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ (Mahne Opatič, 2014).

3.2.4 Določanje flavonoidov

Opis metode

Metoda, ki smo jo uporabili za določanje vsebnosti flavonoidov, je povzeta po Lin in Tang (2007). Temelji na osnovi tvorbe kompleksa med aluminijevim kloridom (AlCl_3) in flavonoidi. Raztopina se pri reakciji obarva v svetlo modro (rumeno-zeleno) barvo in ima absorpcijski maksimum pri 415 nm. Aluminijev klorid je sposoben tvoriti stabilen kompleks s C-4 keto skupino, ali pa s C-3 in C-5 hidroksilno skupino, medtem ko tvori labilen kompleks s C-3 in s C-4 hidroksilno skupino.

Reagenti

- 10 % raztopina aluminijevega klorida (AlCl_3),
- 1 M kalijev acetat (CH_3COOK),
- 95 % alkohol (etanol),
- destilirana voda (dH_2O),
- kvercetin.

Aparatura in pribor

- ependorfke (2 mL),
- kivete (1,5 mL, PS),
- avtomatske pipete,
- steklene epruvete z zamaškom za merjenje maščobnih kislin,
- čaše (25 mL, 100 mL),
- merilne bučke (10 mL, 100 mL),
- plastični tipsi,
- mešalnik,

- analitska tehnika,
- štoparica,
- UV-VIS spektrofotometer.

Izvedba analize

- Pri določanju flavonoidov najprej pripravimo potrebne kemikalije. 10 % raztopino aluminijevega klorida (AlCl_3) in 1 M kalijev acetat (CH_3COOK) razredčimo z destilirano vodo do ustrezne koncentracije.
- Za pripravo standardnih raztopin za umeritveno krivuljo uporabimo standard kvercetin, ki ga ustrezno razredčimo z dodajanjem metanola do oznake 100 mL (preglednica 4).
- Za slepo probo uporabimo destilirano vodo (Lin in Tang, 2007).
- Za meritve vzorcev uporabimo epruvete za merjenje maščobnih kislin. V njih zamešamo 250 μL vzorca oziroma raztopine za umeritveno krivuljo, 750 μL 95 % etanola, 50 μL 10 % AlCl_3 , 50 μL 1 M CH_3COOK in 1,4 mL dH_2O , stresemo v mešalniku in počakamo 40 minut. Nato prelijemo v 2 mL ependorfke in centrifugiramo 5 minut pri 13.200 obratov/min. Supernatant prelijemo v 1,5 mL kivete in pomerimo absorbanco proti destilirani vodi pri valovni dolžini 415 nm (Lin in Tang, 2007).

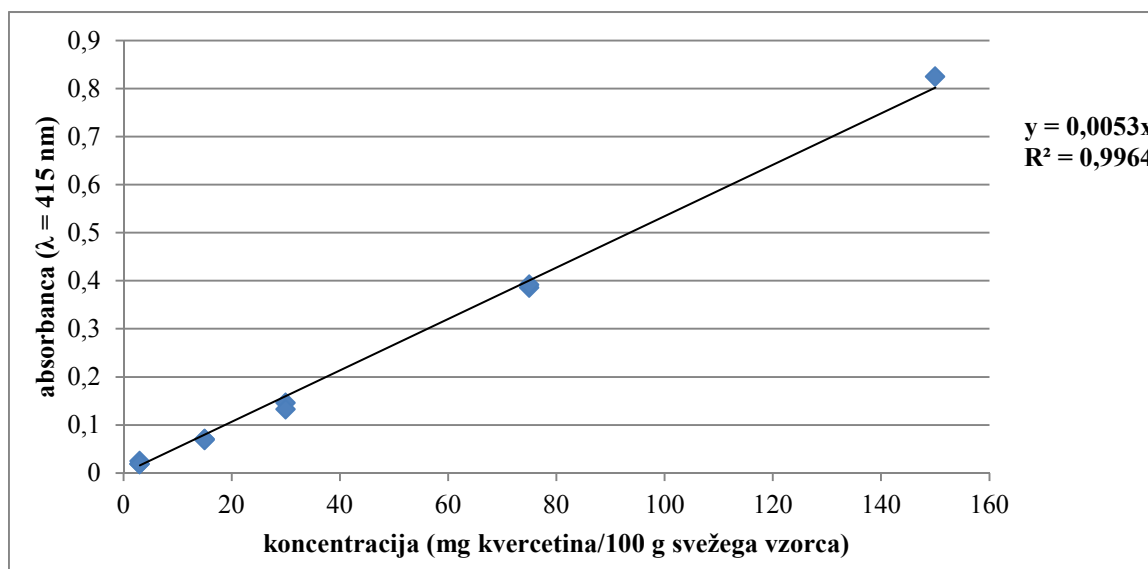
Preglednica 4: Standardne raztopine kvercetina za umeritveno krivuljo pri določevanju flavonoidov

Kvercetin (mg)	Raztopina kvercetina v metanolu (mL)
0,3	100
1,5	100
3	100
7,5	100
15	100

Koncentracijo flavonoidov v jabolkih določimo iz umeritvene krivulje glede na standard (določena znana koncentracija kvercetina v metanolu).

Preglednica 5: Podatki za umeritveno krivuljo za določanje flavonoidov

c (mg/L)	A ₁	A ₂	A ₃
3	0,025	0,019	0,019
15	0,07	0,071	0,069
30	0,146	0,131	0,133
75	0,362	0,386	0,392
150	0,736	0,825	0,848



Slika 10: Umeritvena krivulja za določanje flavonoidov

Rezultat koncentracije flavonoidov izrazimo kot miligram kvercetina na 100 g vzorca.

3.2.5 Določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin

Opis metode

Gre za spektrofotometrično metodo, ki je povzeta po Singletonu in Rossiju (1965). Fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo UV spektra in vidnega spektra. Zato lahko odčitano vrednost absorbance pri primerni valovni dolžini uporabimo za oceno koncentracije skupnih fenolov.

Za določanje koncentracije skupnih fenolnih spojin dodamo v vzorec Folin-Ciocalteujev (F.C.) reagent, ki v alkalni raztopini (dodatek natrijevega karbonata) oksidira fenolne snovi. Reagent Folin-Ciocalteu je vodna raztopina natrijevega volframata(VI), natrijevega molibdata(VI) in litijevega sulfata(VI); slednji prepreči obarjanje F.C. reagenta. Dodatek natrijevega karbonata je potreben za alkalnost reakcijske zmesi. Redukcija volframata(VI) in molibdata(VI) poteče le v prisotnosti fenolatnega aniona. Raztopina, ki vsebuje reducirani obliki volframata(VI) in/ali molibdata(VI), je modro obarvana, medtem ko je raztopina nereducirane oblike rumene barve. Absorbanco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm. Kot standardno referenčno spojino za določanje skupnih fenolnih spojin uporabimo galno kislino.

Reagenti

- Folin-Ciocalteujev reagent (F.C.),
- 20 % raztopina natrijevega karbonata (Na_2CO_3),
- osnovna raztopina galne kisline,
- 2x deionizirana voda.

Aparatura in pribor

- merilne bučke (10 mL, 100 mL),
- čaše,
- erlenmajerica z zamaškom (500 mL),
- steklena pipeta,
- avtomatska pipeta,
- plastični tipsi,
- kapalka,
- kivete,
- analitska tehtnica,
- ultrazvočna (UZ) kopel,
- štoparica,
- UV-VIS spektrofotometer.

Izvedba analize

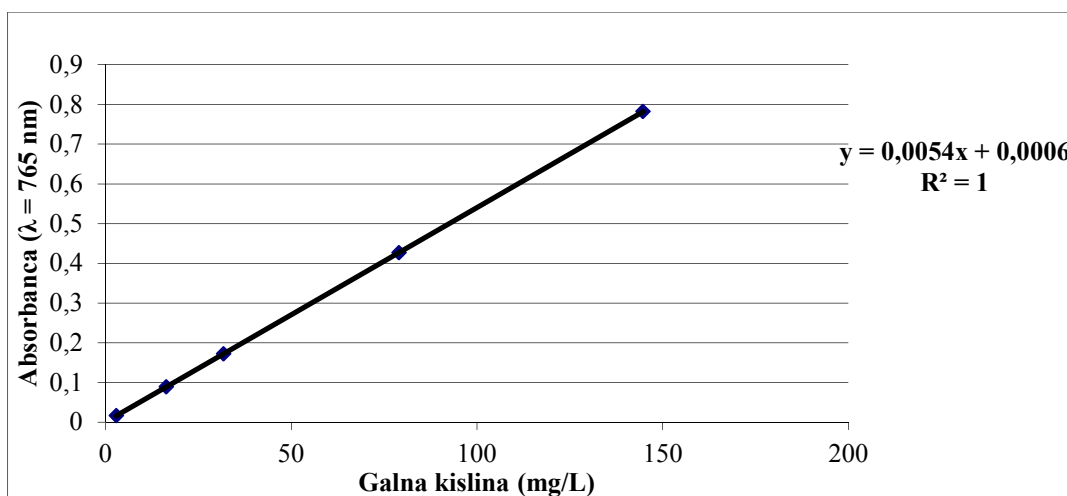
- Priprava reagentov: F.C., komercialni reagent tik pred uporabo razredčimo v 500 mL erlenmajerici z zamaškom po navodilih proizvajalca, in sicer za 90 vzorcev potrebujemo 12,6 mL F.C. in 216 mL 2x deionizirane vode. Osnovno raztopino galne kisline pripravimo tako, da v 100 mL bučko zatehtamo točno 30 mg galne kisline in do oznake dopolnimo z 2x deionizirano vodo. 20 % raztopino natrijevega karbonata pripravimo tako, da zatehtamo 20 g Na_2CO_3 v 100 mL bučko in do oznake dopolnimo z 2x deionizirano vodo. Ker se Na_2CO_3 težko raztaplja, bučko postavimo v UZ kopel.
- Priprava umeritvene krivulje: Iz osnovne raztopine galne kisline pripravimo z ustreznim razredčevanjem različne koncentracije standardnih raztopin galne kisline. V 10 mL bučke zatehtamo po 5 različnih volumnov s pripadajočimi koncentracijami standardnih raztopin galne kisline (preglednica 6) in dopolnimo do oznake z 2x deionizirano vodo. Iz vsake 10 mililitrske bučke nato odpipetiramo 200 μL v kiveto, dodamo 2,54 mL raztopine F.C. in 420 μL Na_2CO_3 . Počakamo 1 uro in nato v vsako od petih kivet dodamo še 910 μL 2x deionizirane vode in merimo absorbanco pri 765 nm (Knap, 2014). Umeritveno krivuljo narišemo iz absorbanc in pripadajočih koncentracij galne kisline (preglednica 7).
- Absorbanco vzorcev merimo pri 765 nm tako, da v kiveto dodamo vnaprej pripravljene reagente, in sicer 2,54 mL raztopine F.C. reagenta, 420 μL Na_2CO_3 in 200 μL razredčenega vzorca (50 μL vzorca in 150 μL 2x deionizirane vode). Po preteku ene ure v kivete dodamo še 910 μL 2x deionizirane vode in izmerimo absorbanco.
- Pripravimo dva slepa vzorca. Slepí vzorec pripravimo enako kot vzorce, le da 200 μL vzorca nadomestimo z 200 μL 2x deionizirane vode. Za merjenje potrebujemo dve, kajti ena kiveta s slepim vzorcem ostane ves čas merjenja v spektrofotometru, medtem ko se ostale kivete z vzorci in kivete za umeritveno krivuljo menjajo.

Preglednica 6: Standardne raztopine galne kisline za pripravo umeritvene krivulje pri določanju skupnih fenolov

Volumen osnovne raztopine galne kisline (mL)	Končna koncentracija galne kisline v standardni raztopini (mg/L)
0,1	3
0,5	15
1	30
2,5	75
5	150

Preglednica 7: Podatki za umeritveno krivuljo za določanje skupnih fenolov

Koncentracija galne kisline v standardni raztopini (mg/L)	A
3	0,016
15	0,089
30	0,172
75	0,427
150	0,782



Slika 11: Umeritvena krivulja za določanje skupnih fenolov

Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin v vzorcu odčitamo iz umeritvene krivulje in rezultat izrazimo kot mg galne kisline na 100 gramov svežega vzorca ($\text{mg}_{\text{GK}}/100 \text{ g}$).

3.2.6 Statistična obdelava podatkov

V statistiki je pomembno ugotoviti, okrog katere srednje vrednosti varirajo vrednosti numeričnih statističnih spremenljivk. Od srednjih vrednosti najpogosteje uporabljamo aritmetično sredino ali **povprečje**. Predstavlja nekakšno težišče podatkov, saj je vsota odklonov posameznih vrednosti spremenljivke navzgor enaka vsoti odklonov navzdol in je zato vsota vseh odklonov od aritmetične sredine vedno enaka nič (Adamič, 1989).

Iz vsote kvadratov odklonov od aritmetične sredine je izpeljana **varianca**, ki je pomembna mera za variabilnost podatkov. Varianca je povprečje kvadratov odklonov posameznih vrednosti od aritmetične sredine. Je zelo pomembna za statistično analizo, a kot opisni parameter nima pravega smisla in se je ne da grafično predstaviti. Zato kot opisni parameter variacije uporabljamo bolj kvadratni koren variance, ki ga imenujemo tudi standardna deviacija ali standardni odklon (povprečni odmik od povprečne vrednosti) (Adamič, 1989).

Statistično značilnost rezultatov nakažemo s stopnjo značilnosti (signifikanca). Običajno to storimo tako, da v besedilu označimo v oklepaju tveganje, s katerim trditev postavljamo, npr. ($p < 0,05$). V biostatistiki izberemo najpogostejše vrednosti 0,05, 0,01 ali 0,001 kot zgornje meje tveganja, pri katerih zavračamo ničelno domnevo oz. ničelno hipotezo. Glede na te meje govorimo tako o 5 %, 1 % in 0,1 % stopnji značilnosti rezultatov. Ničelna hipoteza je hipoteza, ki nasprotuje naši osnovni hipotezi. Osnovna hipoteza je sprejeta, ko s statističnimi orodji zavrnilo ničelno hipotezo (Adamič, 1989).

Za statistično analizo povezanosti dveh spremenljivk smo uporabili metodo **korelacije**. Korelacijo ali medsebojno povezanost spremenljivk smo ocenili s koeficientom korelacije po Pearsonu. Koeficient korelacije je merilo za stopnjo povezanosti. Pove samo, kako velika je korelacija, nikakor pa ne pove, ali je povezanost značilna ali ne. Korelacija se razlikuje glede na smer povezanosti in zato govorimo o pozitivni ali o negativni korelaciji. Pozitivna je, ko vrednost ene spremenljivke narašča z vrednostjo druge, negativna pa, ko vrednost ene spremenljivke pada, če vrednost druge spremenljivke narašča. Lahko je večja ali manjša. Koeficient korelacije ima lahko vse vrednosti med -1 in $+1$. Če gre za maksimalno negativno korelacijo, je vrednost -1 , če gre za maksimalno pozitivno korelacijo, pa dobimo $+1$. Koeficient korelacije je enak nič, kadar med obema spremenljivkama ni nobene povezanosti. Vrednosti izven omenjenih kažejo na napako pri računanju (manjše od -1 ali večje kot $+1$). Značilnost koeficienta korelacije izračunamo s testom t , kjer preskušamo ničelno domnevo (Adamič, 1989).

Preglednica 8: Mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk (Seljak, 1996)

Korelacijski koeficient (r)	Povezanost
od 0,00 do $\pm 0,20$	povezanosti ni
nad $\pm 0,20$ do $\pm 0,40$	šibka
nad $\pm 0,40$ do $\pm 0,70$	zmerna
nad $\pm 0,70$ do $\pm 1,00$	močna

Podatke smo tabelarično uredili v programu Microsoft Excel XP. Tako urejene podatke smo statistično obdelali z metodo analize variance (ANOVA) pri 95 % stopnji zaupanja v programu IBM SPSS Inc. Statistično značilne razlike med obravnavanji smo ugotavljali s pomočjo testa mnogoterih primerjav (Duncanov preizkus) z upoštevanim 5 % tveganjem. Rezultati meritev so prikazani v preglednicah kot povprečne vrednosti s $\pm$ standardnim odklonom. Statistično značilne razlike smo označili s črko p. Obravnavanja, označena s $p < 0,05$ in $p < 0,001$, se statistično značilno razlikujejo.

4 REZULTATI

Praktični del diplomske naloge je obsegal določanje skupnega antioksidativnega potenciala AOP, flavonoidov, skupnih fenolnih spojin in AOP_{EA} .

4.1 REZULTATI ANALIZ VZORCEV PRVEGA EKSPERIMENTA

V prvem eksperimentu smo analizirali 24 vzorcev jabolk sorte 'Aroma' in 24 vzorcev jabolk sorte Discovery, foliarno gnojenih z virom dušika (urea) in kalcijevim kloridom ter skladiščena v ULO in NA. Kontrolni vzorci jabolk niso bili dodatno foliarno gnojeni. Na podlagi rezultatov meritev smo ovrednotili vsebnost izbranih parametrov v vzorcih jabolk glede na različne dejavnike: sorto, vrsto foliarnega gnojenja, skladiščenje in ponovitve vzorcev.

4.1.1 Vpliv sorte

Rezultati analize so pokazali statistično značilen vpliv sorte na vrednost AOP, skupne fenolne spojine in AOP_{EA} . Sorta ni statistično značilno vplivala na vsebnost flavonoidov, kot je razvidno iz preglednice 9.

Značilno večjo vrednost AOP imajo jabolka sorte 'Discovery' ($1,558 \pm 0,151$ mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca). Vrednost AOP jabolk sorte 'Aroma' v povprečju znaša $1,309 \pm 0,206$ mmol_{DPPH}/100 g.

Večjo vsebnost flavonoidov smo določili pri jabolkih sorte 'Aroma' ($1,213 \pm 0,525$ mg kvercetina/100 g svežega vzorca) in manjšo pri jabolkih sorte 'Discovery' ($1,130 \pm 0,532$ mg kvercetina/100 g svežega vzorca), vendar razlike niso statistično značilne.

Vsebnost skupnih fenolov je značilno večja pri jabolkih sorte 'Discovery' ($62,8 \pm 12,3$ mg_{GK}/100 g svežega vzorca) kot pri jabolkih sorte 'Aroma' ($46,5 \pm 12,5$ mg_{GK}/100 g svežega vzorca).

Značilno večjo vrednost AOP_{EA} imajo jabolka sorte 'Discovery' ($0,254 \pm 0,015$ mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca). Vrednost AOP_{EA} jabolk sorte 'Aroma' je nekoliko manjša in znaša v povprečju $0,241 \pm 0,021$ mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca.

Preglednica 9: Vpliv sorte jabolk - povprečje in standardni odklon AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Sorta	Št. vzorcev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP_{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
Aroma	24	$1,309 \pm 0,206$	$1,213 \pm 0,525$	$46,5 \pm 12,5$	$0,241 \pm 0,021$
Discovery	24	$1,558 \pm 0,151$	$1,130 \pm 0,532$	$62,8 \pm 12,3$	$0,254 \pm 0,015$
p		< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,001

p – signifikanca; če je $p < 0,05$, se sorti v parametru med seboj statistično značilno razlikujeta

4.1.2 Vpliv foliarnega gnojenja

V preglednici 10 so predstavljene povprečne vrednosti merjenih parametrov v vzorcih plodov jabolk obeh sort tretiranih s Ca, N in kombinacijo Ca-N, in kontrolnih vzorcev, ki niso bili dodatno foliarno gnojeni.

Rezultati analize so pokazali, da na vrednost antioksidativnega potenciala statistično značilno vpliva foliarno gnojenje. Večje vrednosti AOP smo ugotovili v vzorcih jabolk foliarno gnojenih z dušikom (1,505 mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), manjše pa v jabolkih tretiranih s kalcijem (1,315 mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca).

Vsebnost flavonoidov je večja pri kontrolnih vzorcih jabolk, ki niso bila dodatno foliarno gnojena (1,339 kvercetina/100 g svežega vzorca). Glede na foliarno gnojenje pa so imela jabolka tretirana s Ca večjo vsebnost flavonoidov (1,175 mg kvercetina/100 g svežega vzorca) kot jabolka tretirana s kombinacijo Ca-N (1,139 mg kvercetina/100 g svežega vzorca) in N (1,034 mg kvercetina/100 g svežega vzorca). Slednja so imela v povprečju manjšo vsebnost flavonoidov, vendar razlike niso statistično značilne.

Rezultati so pokazali, da foliarno gnojenje ne vpliva na vsebnost skupnih fenolnih spojin. Večje vsebnosti skupnih fenolnih spojin so bile v jabolkih tretiranih z dušikom (57,9 mg_{GK}/100 g), manjše pa pri kontrolnih vzorcih jabolk, ki niso bila foliarno gnojena (51,3 mg_{GK}/100 g).

Iz preglednice 10 je razvidno, da so bile večje vrednosti AOP_{EA} pri jabolkih tretiranih s Ca (0,250 mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), manjše vrednosti AOP_{EA} pa smo ugotovili v vzorcih, ki so bili foliarno gnojeni s kombinacijo Ca-N (0,243 mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca). Razlike niso statistično značilne.

Preglednica 10: Vpliv foliarnega gnojenja - povprečje AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Tretma	Št. vzorcev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
K	12	1,412 ^{a,b}	1,339	51,3	0,248
Ca	12	1,315 ^a	1,175	51,6	0,250
N	12	1,505 ^b	1,034	57,9	0,249
Ca-N	12	1,492 ^b	1,139	57,5	0,243
p		< 0,001	> 0,05	> 0,05	> 0,05

K – kontrolni vzorec (kontrola), Ca – kalcij, N – dušik, Ca-N – kalcij in dušik
p – signifikanca; ^{a,b} vrednosti z različno nadpisano črko v stolpcu se med seboj statistično značilno razlikujejo (p < 0,05)

4.1.3 Interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja

Rezultati analize so pokazali, da interakcija med sortama in tretmajem statistično značilno vpliva na vrednost AOP, vsebnost flavonoidov in AOP_{EA}, na vsebnost skupnih fenolnih spojin pa ne vpliva (preglednica 11).

Statistično značilno večjo vrednost AOP smo ugotovili pri vzorcih jabolk sorte 'Discovery',

ki so bila foliarno gnojena z dušikom (1,599 mmol_{DPPH}/100 g). Jabolka sorte 'Aroma', foliarno gnojena s Ca, so imela značilno manjši AOP (1,133 mmol_{DPPH}/100 g).

Na osnovi rezultatov smo ugotovili statistično značilno večjo vsebnost flavonoidov pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Aroma', ki niso bila dodatno foliarno gnojena (1,448 mg kvercetina/100 g), sledijo jim jabolka sorte 'Aroma', foliarno gnojena s kalcijem (1,391 mg kvercetina/100 g). Jabolka sorte 'Aroma', ki so bila foliarno gnojena z dušikom, imajo značilno manjšo vsebnost flavonoidov (0,816 mg kvercetina/100 g).

Pri analizi vsebnosti skupnih fenolov smo ugotovili, da interakcija med obravnavanima dejavnikoma ni bila statistično značilna. Rezultati so pokazali, da je vsebnost skupnih fenolov v jabolkih večja pri jabolkih sorte 'Discovery', foliarno gnojenih z dušikom (65,4 mg_{GK}/100 g), manjša pa pri jabolkih sorte 'Aroma', foliarno gnojenih s kalcijem (40,9 mg_{GK}/100 g), vendar razlike niso statistično značilne.

Rezultati analize so pokazali, da na vrednost AOP_{EA} statistično značilno vpliva interakcija sorte in foliarnega gnojenja. Iz preglednice 11 je razvidno, da imajo kontrolni vzorci jabolk sorte 'Discovery' značilno večje vrednosti AOP_{EA} (0,262 mmol_{DPPH}/100 g), značilno manjše pa kontrolni vzorci jabolk sorte 'Aroma' (0,235 mmol_{DPPH}/100 g). Kontrolni vzorci jabolk obeh sort niso bili foliarno gnojeni. Jabolka sorte 'Discovery', ki so bila foliarno gnojena z N (0,260 mmol_{DPPH}/100 g), so imela v primerjavi z jabolki, foliarno gnojenimi s Ca oz. kombinacijo Ca-N, večje vrednosti AOP_{EA}. Jabolka sorte 'Aroma', ki so bila foliarno gnojena s Ca (0,249 mmol_{DPPH}/100 g), so imela v primerjavi z jabolki, foliarno gnojenimi s kombinacijo Ca-N ali z N, večje vrednosti AOP_{EA}.

Preglednica 11: Interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja - povprečje AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Sorta	Tretma	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
Aroma	K	1,239	1,448	41,5	0,235
	Ca	1,133	1,391	40,9	0,249
	N	1,412	0,816	50,4	0,237
	Ca-N	1,452	1,194	53,1	0,245
Discovery	K	1,585	1,229	61,1	0,262
	Ca	1,507	0,945	62,9	0,251
	N	1,599	1,252	65,4	0,260
	Ca-N	1,531	1,083	61,9	0,241
p (sorta x tretma)		< 0,001	< 0,05	> 0,05	< 0,001

K – kontrolni vzorec (kontrola), Ca – kalcij, N – dušik, Ca-N – kalcij in dušik
p – signifikanca; če je p < 0,05, se vrednosti v stolpcu med seboj statistično značilno razlikujejo glede na interakcijo vpliva sorte in tretmaja

4.1.4 Vpliv skladiščenja

Skladiščenje samo, ne glede na sorto jabolk, je statistično značilno vplivalo le na AOP_{EA} (preglednica 12).

Rezultati analize vrednosti skupnega antioksidativnega potenciala so pokazali večjo

vrednost antioksidativnega potenciala pri jabolkih, ki niso bila skladiščena oz. so bila analizirana takoj po obiranju ($0,1442 \pm 0,233 \text{ mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$) in manjšo pri jabolkih po dveh mesecih skladiščenja ($1,425 \pm 0,205 \text{ mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$), ne glede na sorto ali vrsto atmosfere, vendar omenjena razlika ni statistično značilna.

Iz preglednice 12 je razvidno, da imajo večjo vsebnost flavonoidov jabolka po dveh mesecih skladiščenja, ne glede na sorto in vrsto atmosfere ($1,177 \pm 0,556 \text{ mg}$ kvercetina/100 g) kot jabolka, ki niso bila skladiščena, vendar razlika ni statistično značilna.

Večja vsebnost skupnih fenolnih spojin je v jabolkih po dveh mesecih skladiščenja, ne glede na sorto in vrsto atmosfere ($54,9 \pm 17,0 \text{ mg}_{\text{GK}}/100 \text{ g}$), manjša pa pri jabolkih, ki so bila analizirana takoj po obiranju ($54,4 \pm 12,4 \text{ mg}_{\text{GK}}/100 \text{ g}$). Razlika ni statistično značilna.

Statistično značilno večja vrednost AOP_{EA} je bila v primeru vzorcev jabolk, ki niso bila skladiščena oz. so bila analizirana takoj po obiranju ($0,252 \pm 0,015 \text{ mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$), značilno manjša pa pri jabolkih po dveh mesecih skladiščenja ($0,243 \pm 0,021 \text{ mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$).

Preglednica 12: Vpliv skladiščenja v prvem eksperimentu - povprečje in standardni odklon AOP ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$ svežega vzorca)

Skladiščenje	Št. vzorcev	AOP ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli ($\text{mg}_{\text{GK}}/100 \text{ g}$)	AOP_{EA} ($\text{mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$)
0	24	$1,442 \pm 0,233$	$1,167 \pm 0,502$	$54,4 \pm 12,4$	$0,252 \pm 0,015$
1	24	$1,425 \pm 0,205$	$1,177 \pm 0,556$	$54,9 \pm 17,0$	$0,243 \pm 0,021$
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05

0 – čas 0 (ob obiranju), 1 – po 2 mesecih skladiščenja

p – signifikanca; če je $p < 0,05$, se vrednosti v stolpcu med seboj statistično značilno razlikujejo glede na vpliv skladiščenja

4.1.5 Interakcija vpliva sorte in skladiščenja

Interakcija sorte in skladiščenja je statistično značilno vplivala le na vsebnost skupnih fenolnih spojin v jabolkih (preglednica 13).

Večjo vrednost AOP smo ugotovili pri jabolkih sorte 'Discovery', ki niso bila skladiščena ($1,565 \pm 0,183 \text{ mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$), manjšo pa pri jabolkih sorte 'Aroma' po dveh mesecih skladiščenja v ULO ($1,300 \pm 0,202 \text{ mmol}_{\text{DPPH}}/100 \text{ g}$). Razlike niso statistično značilne.

Vsebnost flavonoidov je bila večja pri jabolkih sorte 'Aroma', ki niso bila skladiščena ($1,221 \pm 0,468 \text{ mg}$ kvercetina/100 g) in manjša pri jabolkih sorte 'Discovery', ki prav tako niso bila skladiščena ($1,112 \pm 0,535 \text{ mg}$ kvercetina/100 g), a razlike niso statistično značilne.

Sorta in skladiščenje statistično značilno vplivata na vsebnost skupnih fenolov v jabolkih. Značilno večja vsebnost skupnih fenolov je v primeru jabolk sorte 'Discovery' po dveh mesecih skladiščenja v NA ($65,4 \pm 14,8 \text{ mg}_{\text{GK}}/100 \text{ g}$). Vsebnost skupnih fenolnih spojin

jabolk sorte 'Discovery', ki niso bila skladiščena, je nekoliko manjša in znaša $60,3 \pm 8,6$ mg_{GK}/100 g svežega vzorca. Vsebnost skupnih fenolov pri jabolkih sorte 'Aroma' je manjša v primerjavi z jabolki sorte 'Discovery'. Značilno manjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin imajo jabolka sorte 'Aroma' po dveh mesecih skladiščenja v ULO ($44,5 \pm 12,0$ mg_{GK}/100 g).

Iz preglednice 13 je razvidno, da imajo večjo vrednost AOP_{EA} jabolka sorte 'Discovery', ki niso bila skladiščena ($0,257 \pm 0,015$ mmol_{DPPH}/100 g), kot jabolka po dveh mesecih skladiščenja v NA ($0,249 \pm 0,013$ mmol_{DPPH}/100 g). Manjše vrednosti AOP_{EA} smo določili v jabolkih sorte 'Aroma' po dveh mesecih skladiščenja v ULO ($0,236 \pm 0,026$ mmol_{DPPH}/100 g). Razlike niso statistično značilne.

Preglednica 13: Interakcija vpliva sorte in skladiščenja - povprečje in standardni odklon AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Sorta	Skladiščenje	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
Aroma	0	$1,318 \pm 0,213$	$1,221 \pm 0,468$	$48,5 \pm 12,9$	$0,247 \pm 0,014$
	1	$1,300 \pm 0,202$	$1,204 \pm 0,583$	$44,5 \pm 12,0$	$0,236 \pm 0,026$
Discovery	0	$1,565 \pm 0,183$	$1,112 \pm 0,535$	$60,3 \pm 8,6$	$0,257 \pm 0,015$
	1	$1,547 \pm 0,112$	$1,149 \pm 0,535$	$65,4 \pm 14,8$	$0,249 \pm 0,013$
p (sorta x skladiščenje)		> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05

0 – čas 0 (ob obiranju), 1 – po 2 mesecih skladiščenja

p – signifikanca; če je $p < 0,05$, se vrednosti v stolpcu med seboj statistično značilno razlikujejo glede na interakcijo vpliva sorte in skladiščenja

4.1.6 Vpliv ponovitve vzorcev

Ponovitve nimajo statistično značilnega vpliva na merjene parametre (preglednica 14).

Preglednica 14: Vpliv ponovitve - povprečje AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Ponovitev	Št. vzorcev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
1	16	1,442	1,121	55,6	0,249
2	16	1,426	1,189	54,4	0,251
3	16	1,432	1,206	54,0	0,243
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

p – signifikanca; če je $p < 0,05$, se vrednosti v stolpcu med seboj statistično značilno razlikujejo

4.1.7 Interakcija vpliva sorte in ponovitve vzorcev

Iz preglednice 15 je razvidno, da interakcija sorte in ponovitve vzorcev statistično značilno vpliva le na vrednost AOP_{EA} v jabolkih.

Značilna večja vrednost AOP_{EA} je pri prvi ponovitvi vzorcev jabolk sorte 'Discovery' (0,256 mmol_{DPPH}/100 g), značilno manjša vrednost AOP_{EA} pa pri tretji ponovitvi vzorcev jabolk sorte 'Aroma' (0,231 mmol_{DPPH}/100 g).

Na vrednost AOP, vsebnost flavonoidov in skupnih fenolov interakcija sorte in ponovitve vzorcev ne vpliva.

Preglednica 15: Interakcija vpliva sorte in ponovitve - povprečje AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Sorta	Ponovitev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP_{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
Aroma	1	1,307	1,084	48,4	0,242
	2	1,322	1,365	48,2	0,251
	3	1,297	1,189	42,8	0,231
Discovery	1	1,576	1,158	62,7	0,256
	2	1,529	1,013	60,6	0,250
	3	1,562	1,223	65,2	0,254
p (sorta x ponovitev)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05

p – signifikanca; če je $p < 0,05$, se vrednosti v stolpcu med seboj statistično značilno razlikujejo glede na interakcijo vpliva sorte in ponovitve vzorcev

4.2 REZULTATI ANALIZ DRUGEGA EKSPERIMENTA

V drugem eksperimentu smo analizirali le jabolka sorte 'Aroma', skladiščena pod različnimi pogoji. Kontrolni vzorci prvega eksperimenta so bili uporabljeni kot izhodiščna točka za analizo rezultatov drugega eksperimenta. Na podlagi rezultatov meritev smo ovrednotili vsebnost merjenih parametrov v 53 vzorcih jabolk glede na različne dejavnike: indeks I_{AD} , čas in pogoje skladiščenja ter čas tri mesečnega skladiščenja.

4.2.1 Vpliv vrednosti indeksa I_{AD}

Vrednost indeksa I_{AD} jabolk sorte 'Aroma' statistično značilno vpliva na vrednost AOP, in AOP_{EA} ter na vsebnost skupnih fenolov (preglednica 16).

Iz preglednice 16 je razvidno, da imajo jabolka sorte 'Aroma', katerih indeks I_{AD} je manjši od 0,65, značilno večjo vrednost AOP (1,381 mmol_{DPPH}/100 g), skupina jabolk, katerih indeks I_{AD} je večji od 0,81, pa značilno manjšo vrednost AOP (1,163 mmol_{DPPH}/100 g).

Kontrolni vzorci jabolk prvega eksperimenta imajo večjo vsebnost flavonoidov (1,448 mg kvercetina/100 g) v primerjavi z jabolki sorte 'Aroma' v drugem eksperimentu. Manjšo vsebnost flavonoidov smo določili pri jabolkih z indeksom I_{AD} med 0,66-0,80 (1,246 mg kvercetina/100 g), vendar razlike niso statistično značilne.

Statistično značilno večje vsebnosti skupnih fenolov smo ugotovili pri jabolkih sorte 'Aroma' z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65 (50,1 mg_{GK}/100 g). V primerjavi z njimi so imeli kontrolni vzorci značilno manjše vsebnosti skupnih fenolov (41,5 mg_{GK}/100 g).

Pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65 smo določili značilno večje vrednosti AOP_{EA} (0,264 mmol_{DPPH}/100 g). V primerjavi z njimi so imeli kontrolni vzorci značilno manjše vrednosti AOP_{EA} (0,235 mmol_{DPPH}/100 g).

Preglednica 16: Vpliv vrednosti indeksa I_{AD} - povprečje AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Indeks I_{AD}	Št. vzorcev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP_{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
K	6	1,239 ^a	1,448	41,5 ^a	0,235 ^a
< 0,65	16	1,381 ^b	1,425	50,1 ^b	0,264 ^c
0,66-0,80	16	1,356 ^b	1,246	45,1 ^{a,b}	0,253 ^{b,c}
> 0,81	15	1,163 ^a	1,307	42,9 ^a	0,243 ^{a,b}
p		< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,001

Indeks I_{AD} : K - kontrolni vzorec (kontrola)

p – signifikanca; ^{a,b,c} vrednosti z različno nadpisano črko v stolpcu se med seboj statistično značilno razlikujejo (p < 0,05)

4.2.2 Vpliv pogojev skladiščenja

Rezultati so pokazali, da imajo pogoji skladiščenja statistično značilen vpliv le na vrednost AOP_{EA} v jabolkih (preglednica 17).

Tendenco večje vrednosti AOP smo zabeležili pri jabolkih sorte 'Aroma', ki je bila skladiščena tri mesece pri 1 °C v NA (1,330 mmol_{DPPH}/100 g), manjše pa pri jabolkih, ki niso bila skladiščena (1,264 mmol_{DPPH}/100 g).

Tendenco večje vsebnosti flavonoidov smo zabeležili pri jabolkih, ki niso bila skladiščena (vzorci analizirani takoj po obiranju) (1,487 mg kvercetina/100 g), manjše pa pri jabolkih, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v ULO oz. jabolka, skladiščena 3 mesece pri 1 °C v ULO in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (1,283 mg kvercetina/100 g), vendar razlike niso statistično značilne.

Trend večje vsebnosti skupnih fenolov je izražen pri jabolkih sorte 'Aroma', ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v ULO (47,8 mg_{GK}/100 g), ne glede na to, ali so bila skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA ali ne. Trend manjše vsebnosti skupnih fenolov pa je izražen pri jabolkih sorte 'Aroma', ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (40,6 mg galne kisline/100 g svežega vzorca). Razlike niso statistično značilne.

Iz preglednice 17 je razvidno, da smo statistično značilno večjo vrednost AOP_{EA} določili pri jabolkih, ki so bila skladiščena tri mesece pri 1 °C v NA (0,267 mmol_{DPPH}/100 g), značilno manjšo vrednost AOP_{EA} pa pri jabolkih, ki so bila po treh mesecih skladiščenja skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA, ter pri vzorcih jabolk, ki niso bila skladiščena (0,242 mmol_{DPPH}/100 g).

Preglednica 17: Vpliv pogojev skladiščenja v drugem eksperimentu - povprečje AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Pogoji sklad.	Št. vzorcev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
0	3	1,264	1,487	42,2	0,242 ^a
1	26	1,292	1,283	47,8	0,249 ^a
2	12	1,330	1,401	46,5	0,267 ^b
3	12	1,278	1,367	40,6	0,242 ^a
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,001

0 – ob obiranju, 1 – trimesečno skladiščenje v ULO pri 1 °C / trimesečno skladiščenje v ULO pri 1 °C in nato še 12 dni v NA pri 20 °C, 2 – trimesečno skladiščenje v NA pri 1 °C, 3 – trimesečno skladiščenje v NA in nato še 12 dni v NA pri 20 °C

p – signifikanca; ^{a,b} vrednosti z različno nadpisano črko v stolpcu se med seboj statistično značilno razlikujejo (p < 0,05)

4.2.3 Interakcija vpliva vrednosti indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja

Interakcija indeksa I_{AD} in temperature skladiščenja statistično značilno vpliva na vsebnost flavonoidov in skupnih fenolov, kot je razvidno iz preglednice 18.

Tendenco večje vrednosti AOP smo zabeležili pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C v NA skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (1,416 ± 0,134 mmol_{DPPH}/100 g). Tendenco manjše vrednosti AOP pa smo zabeležili pri jabolkih z indeksom I_{AD} večjim od 0,81, ki so bila prav tako skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (1,119 ± 0,153 mmol_{DPPH}/100 g).

Interakcija vpliva vrednosti indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja je imela statistično značilen vpliv na vsebnost flavonoidov. Iz preglednice 18 je razvidno, da imajo jabolka z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C v NA skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA, značilno večjo vsebnost flavonoidov (1,825 ± 0,806 mg kvercetina/100 g). Značilno manjšo vsebnost flavonoidov pa smo določili pri jabolkih z indeksom I_{AD} med 0,66-0,80, ki so bila skladiščena tri mesece pri 1 °C v NA in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (0,734 ± 0,196 mg kvercetina/100 g).

Jabolka, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA, z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, so imela statistično značilno večjo vsebnost skupnih fenolov (57,9 ± 8,2 mg_{GK}/100 g). Značilno manjšo vsebnost skupnih fenolov smo določili pri jabolkih z indeksom I_{AD} med 0,66-0,80, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C v NA skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (36,5 ± 5,3 mg_{GK}/100 g).

Trend večje vrednosti AOP_{EA} je izražen pri jabolkih z indeksom med 0,66-0,80, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA (0,275 ± 0,021 mmol_{DPPH}/100 g). Manjši AOP_{EA} smo določili pri kontrolnih vzorcih jabolk, skladiščenih 2 meseca v ULO atmosferi (0,227 ± 0,021 mmol_{DPPH}/100 g), vendar razlike niso statistično značilne.

Preglednica 18: Interakcija vpliva vrednosti indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja - povprečje in standardni odklon AOP ($\text{mmol}_{DPPH}/100$ g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} ($\text{mmol}_{DPPH}/100$ g svežega vzorca)

Indeks I_{AD}	Pogoji sklad.	Št. vzorcev	AOP ($\text{mmol}_{DPPH}/100$ g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli ($\text{mg}_{GK}/100$ g)	AOP_{EA} ($\text{mmol}_{DPPH}/100$ g)
K	0	3	$1,264 \pm 0,098$	$1,487 \pm 0,343$	$42,2 \pm 13,6$	$0,242 \pm 0,008$
	1	3	$1,213 \pm 0,080$	$1,410 \pm 0,610$	$40,8 \pm 3,1$	$0,227 \pm 0,021$
< 0,65	1	8	$1,351 \pm 0,362$	$1,232 \pm 0,795$	$49,0 \pm 8,5$	$0,264 \pm 0,025$
	2	4	$1,407 \pm 0,344$	$1,410 \pm 0,548$	$57,9 \pm 8,2$	$0,269 \pm 0,015$
	3	4	$1,416 \pm 0,134$	$1,825 \pm 0,806$	$44,4 \pm 11,0$	$0,257 \pm 0,028$
0,66-0,80	1	7	$1,387 \pm 0,116$	$1,390 \pm 0,473$	$54,9 \pm 10,0$	$0,244 \pm 0,039$
	2	5	$1,374 \pm 0,159$	$1,456 \pm 0,429$	$38,7 \pm 12,6$	$0,275 \pm 0,021$
	3	4	$1,300 \pm 0,200$	$0,734 \pm 0,196$	$36,5 \pm 5,3$	$0,239 \pm 0,039$
> 0,81	1	8	$1,189 \pm 0,151$	$1,194 \pm 0,452$	$43,3 \pm 10,8$	$0,246 \pm 0,017$
	2	3	$1,154 \pm 0,149$	$1,296 \pm 0,344$	$44,2 \pm 12,7$	$0,250 \pm 0,008$
	3	4	$1,119 \pm 0,153$	$1,544 \pm 0,766$	$41,0 \pm 6,3$	$0,230 \pm 0,029$
p (I_{AD} x pogoji sklad.)			> 0,05	< 0,001	< 0,001	> 0,05

Indeks I_{AD} : K - kontrolni vzorec (kontrola)

Pogoji skladiščenja: 0 – ob obiranju, 1 – trimesečno skladiščenje v ULO pri 1 °C / trimesečno skladiščenje v ULO pri 1 °C in nato še 12 dni v NA pri 20 °C, 2 – trimesečno skladiščenje v NA pri 1 °C, 3 – trimesečno skladiščenje v NA pri 1 °C in nato še 12 dni v NA pri 20 °C

p – signifikanca; če je $p < 0,05$, se vrednosti v stolpcu med seboj statistično značilno razlikujejo glede na interakcijo vpliva indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja

4.2.4 Vpliv časa in pogojev skladiščenja

Rezultati analize so pokazali, da čas in pogoji skladiščenja značilno vplivajo na vrednost AOP_{EA} , na ostale merjene parametre v jabolkih sorte 'Aroma' ne vplivajo (preglednica 19).

Opazen je trend večje vrednosti AOP pri jabolkih, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C v ULO ali NA skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA ($1,316 \text{ mmol}_{DPPH}/100$ g). Manjšo vrednost AOP smo določili pri jabolkih, ki niso bila skladiščena ($1,264 \text{ mmol}_{DPPH}/100$ g). Razlike niso statistično značilne.

Tendenco večje vsebnosti flavonoidov smo zabeležili pri jabolkih, ki niso bila skladiščena (čas 0) ($1,487 \text{ mg kvercetina}/100$ g) in tendenco manjše vsebnosti pri jabolkih, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C v ULO/NA skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA ($1,297 \text{ mg kvercetina}/100$ g). Omenjene razlike niso statistično značilne.

Rezultati nakazujejo trend večje vsebnosti skupnih fenolov v jabolkih, ki so bila skladiščena tri mesece pri 1 °C ne glede na atmosfero (46,4 mg_{GK}/100 g) in trend manjše vsebnosti pri jabolkih, ki niso bila skladiščena (42,2 mg_{GK}/100 g).

Statistično značilno večjo vrednost AOP_{EA} so imela jabolka, skladiščena tri mesece pri 1 °C ne glede na atmosfero (0,261 mmol_{DPPH}/100 g). Jabolka, ki so bila skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA in jabolka, ki niso bila skladiščena, so imela značilno manjšo vrednost AOP_{EA} (0,242 mmol_{DPPH}/100 g).

Preglednica 19: Vpliv časa in pogojev skladiščenja - povprečje AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Vpliv časa in pogojev skladiščenja	Št. vzorcev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
0	3	1,264	1,487	42,2	0,242 ^a
1	27	1,282	1,361	46,4	0,261 ^b
2	23	1,316	1,297	45,0	0,242 ^a
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,001

Vpliv časa in pogojev skladiščenja: 0 – čas 0 (ob obiranju), 1 – po trimesečnem skladiščenju v ULO/NA pri 1 °C, 2 – po trimesečnem skladiščenju v ULO/NA pri 1 °C in nato še 12 dni v NA pri 20 °C

p – signifikanca; ^{a,b} vrednosti z različno nadpisano črko se med seboj statistično značilno razlikujejo (p < 0,05)

4.2.5 Interakcija vpliva časa in pogojev skladiščenja ter vrednosti indeksa I_{AD}

Na podlagi pridobljenih podatkov o vsebnosti proučevanih parametrov v vzorcih jabolk sorte 'Aroma' smo ugotovili, da medsebojni vpliv časa in pogojev skladiščenja ter vrednosti indeksa I_{AD} statistično značilno vpliva le na vsebnost flavonoidov v jabolkih (preglednica 20).

Pri analizi vrednosti AOP v jabolkih sorte 'Aroma' smo določili večjo vrednost skupnega AOP pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C v ULO/NA skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (1,446 ± 0,281 mmol_{DPPH}/100 g). Trend manjše vrednosti AOP je izražen pri jabolkih z indeksom I_{AD} večjim od 0,81, ki so bila skladiščena tri mesece pri 1 °C ne glede na vrsto atmosfere (1,159 ± 0,164 mmol_{DPPH}/100 g), vendar razlike niso statistično značilne.

Statistično značilno večjo vsebnost flavonoidov smo določili v jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila po treh mesecih skladiščenja skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (1,506 ± 0,943 mg kvercetina/100 g). Značilno manjšo vsebnost flavonoidov pa smo zabeležili v jabolkih z indeksom I_{AD} med 0,66-0,80, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C v ULO/NA skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA (0,975 ± 0,336 mg kvercetina/100 g).

Kot je razvidno iz prikazanih rezultatov v preglednici 20, je trend večje vsebnosti skupnih fenolov izražen pri jabolkih z ocenjenim indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v ULO/NA (52,1 ± 10,2 mg_{GK}/100 g), in trend manjše vsebnosti skupnih fenolov pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Aroma', ki so bila

skladiščena dva meseca pri 1 °C v ULO ($40,8 \pm 3,1$ mg_{GK}/100 g), vendar razlike niso statistično značilne.

Rezultati prikazujejo tendenco večje vrednosti AOP_{EA} pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v ULO ali NA ($0,276 \pm 0,016$ mmol_{DPPH}/100 g). Kontrolnim vzorcem jabolk sorte 'Aroma', ki so bila skladiščena dva meseca pri 1 °C v ULO, smo določili v povprečju manjše vrednosti AOP_{EA} ($0,227 \pm 0,021$ mmol_{DPPH}/100 g). Razlike niso statistično značilne.

Preglednica 20: Interakcija vpliva časa in pogojev skladiščenja ter vrednosti indeksa I_{AD} - povprečje in standardni odklon AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Čas in pogoji sklad.	Indeks I _{AD}	Št. vzorcev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
0	K	3	$1,264 \pm 0,100$	$1,487 \pm 0,343$	$42,2 \pm 13,6$	$0,242 \pm 0,008$
1	K	3	$1,213 \pm 0,080$	$1,410 \pm 0,610$	$40,8 \pm 3,1$	$0,227 \pm 0,021$
	< 0,65	8	$1,316 \pm 0,032$	$1,344 \pm 0,554$	$52,1 \pm 10,2$	$0,276 \pm 0,016$
	0,66-0,80	9	$1,380 \pm 0,140$	$1,460 \pm 0,510$	$45,8 \pm 15,6$	$0,264 \pm 0,037$
	> 0,81	7	$1,159 \pm 0,164$	$1,236 \pm 0,385$	$43,0 \pm 12,7$	$0,252 \pm 0,008$
2	< 0,65	8	$1,446 \pm 0,281$	$1,506 \pm 0,943$	$48,0 \pm 10,0$	$0,251 \pm 0,023$
	0,66-0,80	7	$1,337 \pm 0,173$	$0,975 \pm 0,336$	$44,1 \pm 10,1$	$0,239 \pm 0,033$
	> 0,81	8	$1,166 \pm 0,141$	$1,370 \pm 0,657$	$42,8 \pm 7,5$	$0,235 \pm 0,024$
p (čas in pogoji sklad. x I _{AD})			> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05

Indeks I_{AD}: K - kontrolni vzorec (kontrola)

Čas in pogoji skladiščenja: 0 – čas 0 (ob obiranju), 1 – po trimesečnem skladiščenju v ULO/NA pri 1 °C, 2 – po trimesečnem skladiščenju v ULO/NA pri 1 °C in nato še 12 dni v NA pri 20 °C

p – signifikanca; če je (p < 0,05), se skupine med seboj statistično značilno razlikujejo glede na interakcijo vpliva časa in pogojev skladiščenja ter indeksa I_{AD}

4.2.6 Vpliv pogojev trimesečnega skladiščenja

S pogoji trimesečnega skladiščenja smo razdelili jabolka v tri različne skupine, in sicer v skupino 0, v katero sodijo kontrolni vzorci jabolk sorte 'Aroma', ki niso bila skladiščena (čas 0, ob obiranju), v skupino 1, kamor sodijo jabolka skladiščena 3 mesece pri 1 °C v ULO in jabolka, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v ULO in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA, v skupino 4 pa tista jabolka, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA in jabolka, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA.

Rezultati so pokazali, da pogoji trimesečnega skladiščenja nimajo statistično značilnega vpliva na merjene parametre.

Trend večje vrednosti AOP je izražen pri jabolkih, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA, ne glede na to, ali so bila skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA ali ne ($1,304$ mmol_{DPPH}/100 g), trend manjše vrednosti AOP pa pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Aroma', ki niso bila skladiščena ($1,264$).

Rezultati prikazujejo tendenco večje vsebnosti flavonoidov pri jabolkih, ki niso bila skladiščena ($1,487$ mg kvercetina/100 g), v primerjavi z jabolki, ki so bila skladiščena.

Manjšo vsebnost flavonoidov smo določili v jabolkih, ki so bila skladiščena v ULO atmosferi, ne glede na to, ali so bila skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA ali ne (1,283 mg kvercetina/100 g), vendar razlike niso statistično značilne.

Trend večje vsebnosti skupnih fenolov je izražen pri jabolkih, ki so bila skladiščena pri 1 °C v ULO atmosferi, ne glede na to, ali so bila skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA ali ne (47,8 mg_{GK}/100 g), in trend manjše vsebnosti skupnih fenolov pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Aroma', ki niso bila skladiščena (42,2 mg_{GK}/100 g). Razlike niso statistično značilne.

Trimesečno skladiščenje ni statistično značilno vplivalo na vrednosti AOP_{EA}. Večjo vrednost AOP_{EA} smo določili v jabolkih, ki so bila skladiščena v NA, ne glede na to, ali so bila skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA ali ne (0,255 mmol_{DPPH}/100 g). Kontrolni vzorci jabolk sorte 'Aroma', ki niso bili skladiščeni, so imeli v primerjavi z ostalimi v povprečju manjše vrednosti AOP_{EA} (0,242 mmol_{DPPH}/100 g).

Preglednica 21: Vpliv pogojev trimesečnega skladiščenja - povprečje AOP (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca), flavonoidov (mg kvercetina/100 g svežega vzorca), skupnih fenolov (mg galne kisline/100 g svežega vzorca) in AOP_{EA} (mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca)

Pogoji 3m. sklad.	Št. vzorcev	AOP (mmol _{DPPH} /100 g)	Flavonoidi (mg kverc./100 g)	Skupni fenoli (mg _{GK} /100 g)	AOP _{EA} (mmol _{DPPH} /100 g)
0	3	1,264	1,487	42,2	0,242
1	26	1,292	1,283	47,8	0,249
4	24	1,304	1,384	43,6	0,255
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Pogoji trimesečnega skladiščenja: 0 – ob obiranju, 1 - 3 mesece pri 1 °C v ULO oz. 3 mesece v ULO in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA, 4 – 3 mesece pri 1 °C v NA oz. 3 mesece pri 1 °C v NA in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA

p – signifikanca; ^{a,b} vrednosti z različno nadpisano črko v stolpcu se med seboj statistično značilno razlikujejo (p < 0,05)

4.3 KORELACIJE

Korelacijo ali medsebojno povezanost spremenljivk smo ocenili s koeficientom korelacije po Pearsonu.

4.3.1 Korelacije v prvem eksperimentu

V prvem eksperimentu smo ocenili korelacije spremenljivk glede na obe sorti in posamično.

4.3.1.1 Korelacije pri sorti 'Aroma' in 'Discovery'

Šibke pozitivne korelacije smo ugotovili med AOP in AOP_{EA} (0,248), AOP_{EA} in skupnimi fenoli (0,279) in AOP in gnojenjem (0,215). Med AOP in skupnimi fenoli smo ugotovili zmerno pozitivno korelacijo (0,529). Korelacije so pomembne pri stopnji značilnosti p < 0,001.

Preglednica 22: Povezanost spremenljivk prvega eksperimenta pri obeh sortah, izražena s korelacijskim koeficientom

Šibka		Zmerna	
Povezanost spremenljivk	Koeficient	Povezanost spremenljivk	Koeficient
AOP in AOP _{EA}	0,248**	AOP in skupni fenoli	0,529**
AOP _{EA} in skupni fenoli	0,279**		
AOP in foliarno gnojenje	0,215**		

**Korelacija je statistično značilna ($p < 0,001$)

4.3.1.2 Korelacije pri sorti 'Aroma'

Šibki pozitivni korelaciji smo ugotovili med AOP_{EA} in flavonoidi (0,363) ter med skupnimi fenoli in gnojenjem (0,400). Med AOP in skupnimi fenoli (0,505), ter med AOP in gnojenjem (0,501) smo ugotovili zmerno pozitivno korelacijo. Korelacije so pomembne pri stopnji značilnosti $p < 0,001$.

Preglednica 23: Povezanost spremenljivk prvega eksperimenta pri sorti 'Aroma', izražena s korelacijskim koeficientom

Šibka		Zmerna	
Povezanost spremenljivk	Koeficient	Povezanost spremenljivk	Koeficient
AOP _{EA} in flavonoidi	0,363**	AOP in skupni fenoli	0,505**
skupni fenoli in foliarno gnojenje	0,400**	AOP in foliarno gnojenje	0,501**

**Korelacija je statistično značilna ($p < 0,001$)

4.3.1.3 Korelacije pri sorti 'Discovery'

Povezanost spremenljivk flavonoidov in skupnih fenolov je šibka in pozitivna (0,267*; korelacija je pomembna pri stopnji značilnosti $p < 0,05$).

4.3.2 Korelacije v drugem eksperimentu

Šibko pozitivno povezavo smo ugotovili med AOP in skupnimi fenoli (0,396), ter med pogoji trimesečnega skladiščenja in časom in pogoji skladiščenja (0,266). Zmerno pozitivno povezavo smo zabeležili med pogoji skladiščenja ter časom in pogoji skladiščenja (0,520). Močno povezavo smo ugotovili le med pogoji skladiščenja ter pogoji trimesečnega skladiščenja (0,919). Korelacije so pomembne pri stopnji značilnosti $p < 0,001$.

Preglednica 24: Povezanost spremenljivk drugega eksperimenta, izražena s korelacijskim koeficientom

Šibka		Zmerna		Močna	
Povezanost spremenljivk	Koeficient	Povezanost spremenljivk	Koeficient	Povezanost spremenljivk	Koeficient
AOP in skupni fenoli	0,396**	pogoji skladiščenja in čas in pogoji skladiščenja	0,520**	pogoji skladiščenja in pogoji trimesečnega skladiščenja	0,919**
pogoji trimesečnega skladiščenja in čas in pogoji skladiščenja	0,266**				

**Korelacija je statistično značilna ($p < 0,001$)

5 RAZPRAVA

Daljše skladiščenje in ohranjanje kvalitete jabolk zahteva, da so plodovi optimalno preskrbljeni z vsemi makro in mikroelementi, ki so tudi v pravem medsebojnem razmerju. Obrani morajo biti v optimalnem času, zato je pravilna napoved faze zorenja plodov ob obiranju pomembna za kasnejšo uporabo/skladiščenje sadja po obiranju. Čas obiranja določen s spremljanjem sprememb zrelostnih parametrov, kot so trdota, škrobni indeks in skupna vsebnost topnih suhih snovi (Nyasordzi in sod., 2013). Tehnologija obiranja in shranjevanja sadja mora biti tako prilagojena temu, da imajo tudi plodovi po skladiščenju še dovolj zalog hranil, da ohranijo kakovost do prodaje (Gvozdenović, 1989).

Izmed mineralov se za trdoto plodov pripisuje pomembno vlogo kalciju, ki dokazano vpliva na večjo trdoto plodov v sadovnjaku kot tudi kasneje v skladišču. Kalcij je najverjetneje eden najpomembnejših mineralov, ki ima poleg ugodnega vpliva na trdoto tudi pozitiven vpliv na sintezo nekaterih estrov in preprečuje pojav nekaterih fizioloških motenj. Za izredno pomembnega se je izkazal pri jabolkih, kjer je bilo dokazano, da zmanjša motnje v presnovi plodov. Kalcij v zadostnih količinah pomaga ohranjati trdoto plodov in zmanjšuje pojavnost fizioloških motenj, kot so steklavost, grenka pegavost in notranje porjavenje. Največja težava je doseči zadostno količino kalcija v sadju, da dosežemo želene učinke. Samo gnojenje tal s kalcijem za povečanje vsebnosti kalcija v sadju se je pogosto izkazalo za manj uspešno. Metode neposrednega nanosa kalcija pred obiranjem v obliki pršil, s potapljanjem po obiranju, vakuumsko in tlačno infiltracijo, so se izkazale za najbolj učinkovit način povečanja vsebnosti kalcija v plodovih. Čeprav lahko s kalcijevimi škropivi pred obiranjem povečamo vsebnost kalcija v plodovih, je neposredna obdelava sadja po obiranju v raztopini kalcijevega klorida učinkovitejša. Tlačna infiltracija z raztopino CaCl_2 naj bi bila učinkovitejša od vakuumске infiltracije, slednja pa dosega boljše rezultate kot metoda s potapljanjem. Vendar so tako metode, izvedene pred obiranjem, kot tudi metode, izvedene po obiranju, naletale na težave, kot je neustrezen vnos kalcija, bodisi premalo kalcija (ni vidnih pozitivnih učinkov) bodisi preveč kalcija (pojav poškodb plodov). Zato je razvoj komercialno spremenljive metode, ki bi uspešno povečala vsebnost kalcija v sadju, večni izziv. Za preprečitev izgub, povzročenih zaradi prenizke koncentracije kalcija v plodovih, je tako najboljša kombinacija metod nanosov kalcija v sadovnjakih pred obiranjem z različnimi tehnikami apliciranja kalcija po obiranju (Conway in sod., 2002).

Trdota plodov je eden najpomembnejših pokazateljev kakovosti jabolk po obiranju. Med skladiščenjem jabolk se trdota sčasoma zmanjšuje kot del procesov zorenja. Z uporabo kontrolirane atmosfere (CA), poleg nizke temperature, ohranjamo boljšo trdoto plodov, saj nizka vsebnost kisika in povišana vsebnost ogljikovega dioksida direktno ali indirektno regulirata aktivnost encimov, vključenih v različne oksidativne reakcije, povezane z izgubo trdote plodov, vključno z dihanjem in sintezo etilena. Posledično se sintetizira manj proteinov oz. encimov mehčanja, ki razgrajujejo pektin (Gwanpua in sod., 2012). Jabolka uvrščamo med klimakterijske vrste sadja, z značilno hitro rastjo proizvodnje etilena in intenziteto dihanja do maksimuma, kateremu sledi le še zniževanje intenzitete dihanja vse do propada plodu (Nyasordzi in sod., 2013).

Johnston in sod. (2010) v svoji študiji navajajo, da CA ohranja trdoto plodov s podaljševanjem začetne faze mehčanja in podaljševanjem faze pospešenega mehčanja

plodov. Učinkovitost CA je bila manjša pri sadju, ki je bilo predhodno shranjeno v normalni atmosferi (NA) in neučinkovita, ko je bila faza pospešenega mehčanja že inicirana. Prišli so do zaključka, da je za podaljšanje življenjske dobe jabolk na trgu potrebno postaviti jabolka v CA, ko so še v fazi začetnega mehčanja plodov.

Na vprašanja, ali foliarno gnojenje s kalcijem in spremenjena atmosfera med skladiščenjem jabolk vplivata na AOP, AOP_{EA} , vsebnost flavonoidov in skupnih fenolov, smo poskušali odgovoriti v naši raziskavi. Naš namen je bil ovrednotiti vsebnosti analiziranih parametrov in oceniti medsebojni vpliv ter ugotoviti, ali na razlike značilno vpliva tudi posamezna sorta jabolk.

V okviru eksperimentalnega dela smo uporabili vzorce jabolk sort 'Aroma' in 'Discovery' v dveh eksperimentih pod različnimi pogoji. Obe sorti sta bili konvencionalno pridelani. Poleg običajnega gnojenja so bile jablane dodatno foliarno gnojene z ureo kot virom dušika, raztopino $CaCl_2$ kot virom kalcija in s kombinacijo obeh. V prvi eksperiment sta bili vključeni obe sorti jabolk. Vzorci jabolk sorte 'Discovery' so bili odvzeti ob obiranju in po 2 mesecih skladiščenja pri 1 °C v NA, vzorci jabolk sorte 'Aroma' pa so bili odvzeti ob obiranju in po 2 mesecih skladiščenja pri 1 °C v ULO. V drugem eksperimentu smo analizirali le jabolka sorte 'Aroma'. Vzorci so bili razdeljeni v tri skupine glede na intenzivnost zelene barve izmerjene z indeksom I_{AD} in skladiščeni 3 mesece v NA in ULO (1 °C). Polovica vzorcev je bila odvzeta takoj po 3 mesecih skladiščenja, druga polovica pa je bila dodatno skladiščena še 12 dni pri 20 °C v NA.

V prvem eksperimentu smo analizirali 24 vzorcev jabolk sorte 'Aroma' in 24 vzorcev jabolk sorte 'Discovery'. V drugem eksperimentu smo analizirali 53 vzorcev jabolk sorte 'Aroma'. Kontrolni vzorci (brez dodatnega gnojenja) prvega eksperimenta so bili uporabljeni kot izhodiščna točka za analizo rezultatov drugega eksperimenta.

5.1 VREDNOST ANTIOKSIDATIVNEGA POTENCIALA

Antioksidativno učinkovitost (AOP) vzorcev smo določili z metodo DPPH, ki je najpogostejše v uporabi za določanje AOP različnih živil, tudi za sadje in zelenjavo. Absorbanco AOP smo merili pri valovni dolžini 517 nm po 15 minutah.

5.1.1 AOP v prvem eksperimentu

Učinkovitost antioksidantov je odvisna od različnih kemijskih lastnosti in je lahko specifična za sorto (Koleva in sod., 2002; Usenik in sod., 2008). Kalinowska in sod. (2014) so v svoji študiji opisali, da so antioksidativne lastnosti jabolk močno odvisne od sadne vrste. Tudi Simčič in sod. (2001) navajajo, da je vsebnost askorbinske kisline (vitamin C) kot antioksidanta pogojena z različnimi faktorji, kot so vrsta, sorta, del rastline, stopnja zrelosti itd. Rezultati našega poskusa tako potrjujejo navedbe avtorjev glede vpliva sorte, saj smo dokazali, da sorta statistično značilno vpliva na vrednosti antioksidativnega potenciala v jabolkih. Izmed 24 analiziranih vzorcev jabolk sorte 'Aroma' in 24 vzorcev jabolk sorte 'Discovery' je bila izmerjena povprečna vrednost AOP največja pri jabolkih sorte 'Discovery' ($1,558 \pm 0,151 \text{ mmol}_{DPPH}/100 \text{ g}$ svežega vzorca).

Uspešnost foliarnega gnojenja je odvisna od različnih faktorjev, od velikosti listne površine in starosti listov, do koncentracije hranil v raztopini gnojila idr. (Štampar in sod., 2014). Učinkovitost kalcijevih gnojil je torej odvisna od sestave samih škropiv, od časa apliciranja škropiv (razvojne faze) idr. (Lötze in sod., 2008). Gvozdenović (1989) navaja, da se kalcij nabira v plodovih predvsem v prvih tednih razvoja, v času, ko nastaja struktura celičnih sten v tkivih plodov. Kasneje pa se količina kalcija z rastjo celic zmanjšuje. Tako ga je v manjših plodovih dovolj, v velikih pa ga primanjkuje, zato pride do pojava fiziološke motnje grenkih peg. Vendar pa so tako Lanauskas in sod. (2006) kot tudi Brown in sod. (1996) ugotovili, da gnojenje s kalcijem tik pred obiranjem nima posebnega učinka na vsebnost kalcija in grenko pegavost. Kalcijeva gnojila v njihovi študiji niso vplivala na izgubo teže plodov, na vsebnost topnih trdnih snovi in na trdoto plodov. Naši rezultati pa so pokazali, da foliarno gnojenje statistično značilno vpliva le na vrednosti AOP, in sicer pri jabolkih, foliarno gnojenih s kalcijem smo določili značilno manjše vrednosti AOP, v primerjavi z jabolki, foliarno gnojenimi z dušikom. Ugotovili smo tudi značilen vpliv interakcije sorte in foliarnega gnojenja na AOP, kjer so imela jabolka sorte 'Discovery', ki so bila dodatno foliarno gnojena z dušikom, večji AOP. Glede na navedbe številnih avtorjev je vpliv mineralnih gnojil na kakovost plodov v primerjavi z vplivom, ki ga ima etilen, nizke temperature in spremenjene konc. O₂ in CO₂ med skladiščenjem, majhen. Izjema so specifične fiziološke bolezni, kot je grenka pegavost, kjer igra kalcij odločilno vlogo. Paziti je potrebno tudi pri količini uporabe dušikovih gnojil, saj preveč dušika povzroči premočno vegetativno rast, debelejšje plodove in s tem slabšo trajnost (Jazbec in sod., 1995).

Simčič in sod. (2001) v svoji študiji navajajo, da je vsebnost askorbinske kisline (vitamin C) kot antioksidanta močno odvisna od klime, osvetlitve, metod obiranja, skladiščenja, načina predelave itd. Po navedbah Kalinowska in sod. (2014) so antioksidativne lastnosti jabolk močno odvisne od pogojev skladiščenja. Lee in Kader (2000) opisujeta padec vsebnosti vitamina C kot najbolj pogost pojav v fazi transporta in skladiščenja. Na njegovo obstojnost vplivajo temperatura, vlažnost, svetloba in pa tudi mehanske poškodbe. Miller in Heilman (1952) sta zapisala, da ima sadje, ki ga skladiščimo krajši čas, v splošnem več vitamina C kot dlje časa skladiščeno sadje. Najpomembnejši faktor je temperatura, zato je pomembno, da jo tudi ustrezno reguliramo. Pridelek mora biti neprekinjeno hlajen, saj z zakasnitvijo ohlajanja lahko pride do izgub vitamina C. Leja in sod. (2003) opisujejo značilen vpliv dolgotrajnega skladiščenja pri nizki temperaturi in tudi dodatnega kratkotrajnega skladiščenja pri višjih temperaturah na antioksidativni potencial v lupini jabolk, ne glede na vrsto atmosfere (zrak ali CA). Tako po dolgotrajnem skladiščenju (120 dni) pri 1 °C, kot tudi po dodatnih 7 dnevih skladiščenja sadja pri 16 °C, so ugotovili znatno povečanje vsebnosti skupnega antioksidativnega potenciala in aktivnosti lovljenja prostih radikalov (ang. Radical Scavenging Activity – RSA), ne glede na pogoje skladiščenja. Vendar pa v našem poskusu nismo opazili značilnega vpliva skladiščenja na vrednosti AOP. Rezultati analize so pokazali le tendenco večje vrednosti AOP pri jabolkih, ki niso bila skladiščena, ne glede na sorto. Prav tako nismo ugotovili značilnega vpliva interakcije sorte in skladiščenja na vrednosti AOP. Opazili smo le trend večje vrednosti AOP pri jabolkih sorte 'Discovery', ki niso bila skladiščena. Manjše vrednosti AOP smo določili pri jabolkih sorte 'Aroma' po dveh mesecih skladiščenja.

Antioksidativni potencial je v zmerni korelaciji z vsebnostjo skupnih fenolov. Z naraščanjem vsebnosti skupnih fenolov narašča tudi vrednost AOP. Naši rezultati tako potrjujejo navedbe številnih avtorjev glede antioksidativnega učinka fenolov. Jabolka, bogatejša s fenolnimi spojinami, imajo običajno večji antioksidativni potencial (Kalinowska in sod., 2014). Nekatere fenolne spojine so učinkoviti antioksidanti (Mikulič Petkovšek, 2015; Gülcin, 2012) in jih prištevamo k močnejšim antioksidantom, v primerjavi z vitamini (Koleva in sod., 2002; Usenik in sod., 2008). Fenole uvrščamo med polarne spojine (Dhingra in sod., 2014). Skupina fenolnih spojin vključuje monofenole z enim benzenovim obročem, hidroksicimetne kisline, flavonoide in njihove glikozide, ki vključujejo katehine, proantocianidine, antociane in flavonole (Gülcin, 2012). Najkompleksnejši in slabo definirani so tanini z visoko molekulsko maso, redno prisotni v sadju. V zgoraj omenjenih skupinah je na tisoče aktivnih snovi, ki vsaka na svoj način prispeva k skupnemu antioksidativnemu potencialu (Hribar in Simčič, 2000).

V živilih rastlinskega izvora obstajajo številne spojine, ki prispevajo na različne načine svoj delež k antioksidativni učinkovitosti oz. skupnemu antioksidativnemu delovanju (Hribar in Simčič, 2000). Med najpomembnejše antioksidante štejemo askorbinsko kislino, fenolne spojine in karotenoide (Gülcin, 2012). Rodriguez Amaya (2010) v svoji študiji navaja tako pozitiven vpliv karotenoidov na antioksidativni potencial živil, kot tudi zanemarljiv učinek karotenoidov oz. nižji od učinka fenolnih spojin in vitamina C. V naši analizi smo med AOP in AOP_{EA} opazili, da gre za šibko pozitivno korelacijo med parametroma, torej z naraščanjem ene vrednosti narašča tudi druga.

5.1.2 AOP v drugem eksperimentu

Primerno zrelost in čas obiranja lahko ocenimo tudi s spremljanjem spremembe barve kože plodov in z vsebnostjo klorofila v koži jabolk. Nyasordzi in sod. (2013) navajajo, da se omenjena parametra spreminjata v času zorenja, tj. v procesu, ki vključuje fizične, presnovne in biokemijske spremembe, ki jih običajno usklajuje etilen, ko so plodovi še na drevesu ali po obiranju. Zorenje se kaže z izginevanjem zelene barve, mehčanjem sadnega tkiva in doseganjem značilnega vonja in okusa. Z indeksom I_{AD} (indeks razlike absorbanc pri 670 nm in 720 nm) nedestruktivno določamo vsebnost klorofila v koži plodov koščičastega sadja, ki je koristen pokazatelj zrelosti plodov (Nyasordzi in sod., 2013). Količina klorofila je odvisna od sorte, prehrane, bujnosti, rodnosti (Gvozdenović, 1989), na njegovo izgradnjo vpliva poleg osvetlitve tudi temperatura, makroelement dušik, mikroelementi železo, magnezij ter voda (Štampar in sod., 2014). V našem poskusu smo določili, da imajo jabolka sorte 'Aroma', katerih indeks I_{AD} je manjši od 0,65, statistično značilno večjo vrednost AOP, manjši AOP pa imajo jabolka, katerih indeks I_{AD} je večji od 0,81.

Tako v prvem kot tudi v drugem eksperimentu naše raziskave smo ugotovili pričakovano pozitivno korelacijo med antioksidativnim potencialom in vsebnostjo skupnih fenolov, kar potrjujejo navedbe številnih avtorjev (Gülcin, 2012; Kalinowska in sod., 2014; Mikulič Petkovšek in sod., 2015).

5.2 VREDNOST AOP V ETIL ACETATU TOPNE FRAKCIJE

V raziskavi smo merili tudi antioksidativno učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov (AOP_{EA}). Absorbanco pri analizi AOP_{EA} smo merili pri valovni dolžini 517 nm po 30 minutah.

5.2.1 AOP_{EA} v prvem eksperimentu

Kot že navedeno, je AOP_{EA} v pozitivni korelaciji z AOP. Z naraščanjem vrednosti AOP_{EA} narašča vrednost AOP.

AOP_{EA} je v korelaciji tudi s skupnimi fenoli. Večji AOP_{EA} pomeni več prisotnih fenolov z več aromatskimi obroči, manj hidroksilnimi (-OH) skupinami ali deglikoziliranih fenolov v topilu etil acetat (Knap in sod., 2014). Prav tako je AOP_{EA} v šibki korelaciji s flavonoidi.

V raziskavi smo ugotovili statistično značilen vpliv sorte na vrednosti AOP_{EA} . Večje vrednosti AOP_{EA} smo opazili pri jabolkih sorte 'Discovery'. Vrednosti se gibljejo v območju med 0,241 do 0,254 mmol_{DPPH}/100 g svežega vzorca.

V našem poskusu nismo ugotovili vpliva foliarnega gnojenja na vrednost AOP_{EA} . Rezultati so pokazali le tendenco večje vrednosti AOP_{EA} pri plodovih foliarno gnojenih s Ca. So pa rezultati pokazali, da na vrednost AOP_{EA} statistično značilno vpliva interakcija sorte in foliarnega gnojenja. Značilno večjo vrednost AOP_{EA} smo ugotovili pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Discovery', ki niso bila foliarno gnojena. Sledijo jim jabolka 'Discovery', foliarno gnojena z dušikom.

Za razliko od antioksidativnega potenciala, so rezultati pokazali, da skladiščenje značilno vpliva na vrednost AOP_{EA} (ne glede na sorto), in sicer večjo vrednost AOP_{EA} smo ocenili pri jabolkih, ki niso bila skladiščena. Vendar pa interakcija sorte in skladiščenja ni značilno vplivala na AOP_{EA} . Rezultati analize so pokazali le tendenco večje vrednosti AOP_{EA} pri neskladiščenih jabolkih sorte 'Discovery'.

5.2.2 AOP_{EA} v drugem eksperimentu

V naši raziskavi smo ugotovili vpliv vrednosti indeksa I_{AD} na vrednost AOP_{EA} . Značilno večje vrednosti AOP_{EA} smo določili pri jabolkih sorte 'Aroma' z indeksom manjšim od 0,65. Nižja vsebnost klorofila in tako višja vsebnost karotenoidov pomeni večji AOP_{EA} .

Na vrednost AOP_{EA} so značilno vplivali pogoji skladiščenja. V naši raziskavi smo zabeležili večji AOP_{EA} pri jabolkih po 3 mesecih skladiščenja pri 1 °C v NA.

Interakcija indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja ni značilno vplivala na vrednosti AOP_{EA} . Rezultati so pokazali le tendenco večjega AOP_{EA} pri jabolkih z indeksom I_{AD} med 0,66-0,80, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA.

Rezultati opravljenega poskusa so pokazali, da čas in pogoji skladiščenja statistično značilno vplivajo na AOP_{EA} . Značilno večje vrednosti AOP_{EA} smo določili pri jabolkih, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C (ne glede na atmosfero).

Interakcija časa in pogojev skladiščenja ter vrednosti indeksa I_{AD} ni značilno vplivala na AOP_{EA} . Rezultati so pokazali le tendenco večjega AOP_{EA} pri jabolkih z indeksom manjšim od 0,65, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C ne glede na atmosfero.

Če povzamemo, imajo trend večje vrednosti AOP_{EA} v drugem eksperimentu jabolka z ocenjenim indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA.

5.3 VSEBNOST FLAVONOIDOV

5.3.1 Flavonoidi v prvem eksperimentu

Rezultati analize vsebnosti flavonoidov so pokazali, da na njihovo vsebnost značilno vpliva le interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja. Največjo vsebnost smo zabeležili pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Aroma' (brez dodatnega foliarnega gnojenja), sledijo jim jabolka sorte 'Aroma', foliarno gnojena s kalcijem. Pri jabolkih sorte 'Discovery' smo določili največjo vsebnost flavonoidov pri foliarnem gnojenju z dušikom. Vrednosti vsebnosti flavonoidov se gibljejo v območju med 0,816 in 1,448 mg kvercetina/100 g vzorca.

Kot že navedeno, je AOP_{EA} v korelaciji z vsebnostjo flavonoidov pri sorti 'Aroma'. Naši rezultati potrjujejo navedbe številnih avtorjev glede antioksidativnega učinka flavonoidov (Lee in sod., 2003, 2003b; Mikulič Petkovšek, 2015; Vidrih in Kač, 2000).

Rezultati naše raziskave so potrdili korelacijo med vsebnostmi flavonoidov in skupnih fenolov le pri jabolkih sorte 'Discovery'. Flavonoide uvrščamo med najpomembnejše fenolne spojine (Mikulič Petkovšek, 2015). V literaturi se vsebnost ter delež flavonoidov napram skupnim fenolom precej razlikujejo. Avtorji Javdani in sod. (2013) poročajo o vsebnosti skupnih fenolov v različnih sortah jabolk v območju od 250 do 400 mg galne kisline/100 g ter vsebnosti flavonoidov v območju od 5 do 80 mg katehina/100 g. Avtorji Boyer in Liu (2004) so v jabolkih določili vsebnost skupnih fenolov v območju 120 – 220 mg galne kisline/100 g ter vsebnost flavonoidov v območju od 55 do 110 mg katehina /100 g. Spektrofotometrijske metode dajo rezultat, ki je zelo odvisen od matriksa (sorte, pedoklimatskih pogojev). Naši rezultati vsebnosti flavonoidov se ujemajo z rezultati, ki so jih dobili Javdani in sod. (2013), prav tako smo dobili tudi podoben delež flavonoidov glede na skupne fenole.

5.3.2 Flavonoidi v drugem eksperimentu

Pri določevanju vsebnosti flavonoidov v jabolkih sorte 'Aroma' po 3 mesecih skladiščenja smo ugotovili, da interakcija vrednosti indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja statistično značilno vplivajo na vsebnost flavonoidov. Jabolkom z ocenjenim indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C v NA skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA, smo izmerili večje vsebnosti flavonoidov.

Prav tako značilno vpliva na vsebnost flavonoidov interakcija vpliva časa in pogojev skladiščenja ter vrednosti indeksa I_{AD} . Jabolka z ocenjenim indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila po treh mesecih skladiščenja pri 1 °C (ne glede na vrsto atmosfere) skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA, imajo večjo vsebnost flavonoidov.

Če povzamemo, imajo jabolka z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA, večjo vsebnost flavonoidov.

Z naraščanjem vsebnosti flavonoidov narašča tudi vrednost AOP (Lee in sod., 2003, 2003b; Mikulič Petkovšek, 2015; Vidrih in Kač, 2000). Leja in sod. (2003) so ugotovili znatno povečanje vsebnosti skupnega antioksidativnega potenciala in aktivnosti lovljenja prostih radikalov (ang. Radical Scavenging Activity – RSA), ne glede na pogoje skladiščenja oz. vrsto atmosfere (zrak ali CA), tako po dolgotrajnem skladiščenju (120 dni) pri 1 °C, kot tudi po dodatnih 7 dnevih skladiščenja sadja pri 16 °C.

5.4 VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN

5.4.1 Skupne fenolne spojine v prvem eksperimentu

Nekatere aktivne fenolne spojine so bile opredeljene kot glavni antioksidanti v jabolku. Kvercetin celo dokazano največ prispeva k antioksidativnemu potencialu v jabolku (Lee in sod., 2003b). Učinkovitost antioksidantov je po navedbah večih avtorjev specifična za sorto (Koleva in sod., 2002; Usenik in sod., 2008; Kalinowska in sod., 2014).

Razpon vsebnosti skupnih fenolov je odvisen od sorte in pedoklimatskih pogojev. Tsao in sod. (2003) poročajo o vsebnosti skupnih fenolov v razponu od 78 do 200 mg/100 g. Naši rezultati so primerljivi z rezultati Panzella in sod. (2013) in Lee in sod. (2003b). Avtorji Mikulič Petkovšek in sod. (2010), Matthes in Schmitz-Eiberger (2008) ter Veberič in sod. (2005) pa so določili nižje vrednosti. Z rezultati naše analize smo potrdili statistično značilen vpliv sorte na vsebnost skupnih fenolov. Značilno večjo vsebnost skupnih fenolov smo zabeležili pri vzorcih jabolk sorte 'Discovery'. Vrednosti vsebnosti skupnih fenolnih spojin se gibljejo v območju med 46,5 in 62,8 mg_{GK}/100 g svežega vzorca.

Ugotovili smo, da foliarno gnojenje ter interakcija sorte in foliarnega gnojenja niso značilno vplivali na vsebnost skupnih fenolnih spojin v plodovih. Opazili smo le trend večje vsebnosti v jabolkih sorte 'Discovery', ki so bila foliarno gnojena z dušikom.

Kot navaja Mikulič Petkovšek (2015), so fenolne spojine pomembne pri dozorevanju plodov in skladiščnih sposobnostih sadja. Vendar v naši študiji nismo potrdili samega vpliva skladiščenja na vsebnost skupnih fenolnih spojin. Smo pa ugotovili, da na vsebnost skupnih fenolnih spojin značilno vpliva interakcija sorte in skladiščenja. Značilno večjo vsebnost smo določili pri jabolkih sorte 'Discovery', po dveh mesecih skladiščenja pri 1 °C v NA.

Kot že navedeno, smo pri jabolkih sorte 'Discovery' ocenili, da je vsebnost flavonoidov v pozitivni korelaciji z vsebnostjo skupnih fenolnih spojin.

5.4.2 Skupne fenolne spojine v drugem eksperimentu

Kot že navedeno, je AOP v korelaciji s skupnimi fenoli. Rezultati potrjujejo navedbe mnogih avtorjev (Gülcin, 2012; Kalinowska in sod., 2014; Mikulič Petkovšek in sod., 2015).

Največje vsebnosti skupnih fenolov smo ugotovili pri jabolkih sorte 'Aroma' z ocenjenim indeksom I_{AD} manjšim od 0,65. Ugotovili smo, da se indeks I_{AD} značilno odraža v vsebnosti skupnih fenolov.

Rezultati naše analize so pokazali, da pogoji skladiščenja ne vplivajo na vsebnost fenolnih spojin. Na vsebnost skupnih fenolnih spojin statistično značilno vpliva interakcija vrednosti indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja. Večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA. Sledijo jim jabolka z indeksom I_{AD} med 0,66-0,80, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v ULO in/ali dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA.

Leja in sod. (2003) opisujejo značilen vpliv dolgotrajnega skladiščenja pri nizki temperaturi in/ali dodatnega kratkotrajnega skladiščenja pri sobni temperaturi tudi na vsebnost fenolov ne glede na vrsto atmosfere (zrak ali CA). Tako po dolgotrajnem skladiščenju (120 dni) pri 1 °C, kot tudi po dodatnih 7 dnevih skladiščenja sadja pri 16 °C, so ugotovili znatno povečanje vsebnosti skupnih fenolov, ne glede na pogoje skladiščenja.

Pri analizi vsebnosti fenolnih spojin glede na čas in pogoje skladiščenja smo opazili le tendenco večje vsebnosti pri vzorcih jabolk, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C (ne glede na atmosfero), v primerjavi z jabolki, ki so bila skladiščena dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA in jabolki, ki niso bila skladiščena.

Rezultati raziskave so pokazali, da interakcija časa in pogojev skladiščenja ter vrednosti indeksa I_{AD} nimajo značilnega vpliva na vsebnost skupnih fenolov. Opazili smo le trend večje vsebnosti skupnih fenolov v jabolkih z manjšim indeksom I_{AD} , ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C, ne glede na vrsto atmosfere.

5.5 OSTALE KORELACIJE

V prvem delu raziskave smo poleg ostalih navedenih korelacij določili korelacije med AOP in foliarnim gnojenjem pri obeh sortah in pa skupnimi fenoli in foliarnim gnojenjem pri sorti 'Aroma'. Gre za šibke korelacije, pomembne pri stopnji značilnosti $p < 0,05$.

V drugem delu eksperimenta smo zabeležili šibke korelacije med časom in pogoji skladiščenja ter pogoji trimesečnega skladiščenja. Med pogoji skladiščenja ter časom in pogoji skladiščenja smo zabeležili zmerno korelacijo. Edino močno korelacijo smo zabeležili med pogoji skladiščenja in pogoji trimesečnega skladiščenja. Korelacije so statistično značilne ($p < 0,001$).

6 SKLEPI

Iz rezultatov analiz za ugotavljanje vpliva spremenjene atmosfere in gnojenja s kalcijem na fizikalnokemijske lastnosti plodov jabolk lahko povzamemo naslednje sklepe:

Prvi eksperiment

- Sorta vpliva na vrednost AOP, vsebnost skupnih fenolnih spojin in AOP_{EA} (večje pri jabolkih sorte 'Discovery').
- Foliarno gnojenje vpliva le na AOP (večji pri tretmaju z N).
- Interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja vpliva na AOP (večji pri jabolkih sorte 'Discovery', foliarno gnojeno z N), vsebnost flavonoidov (večja pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Aroma', sledijo jim jabolka sorte 'Aroma', foliarno gnojena s Ca) in vrednost AOP_{EA} (večja pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Discovery', sledijo jim jabolka sorte 'Discovery', foliarno gnojena z N).
- Skladiščenje vpliva le na AOP_{EA} (večji pri neskladiščenih jabolkih).
- Interakcija vpliva sorte in skladiščenja vpliva le na vsebnost skupnih fenolnih spojin (večja pri jabolkih sorte 'Discovery', skladiščenih 2 meseca pri 1 °C v NA, manjša pri jabolkih sorte 'Aroma', skladiščenih 2 meseca pri 1 °C v ULO).

Drugi eksperiment

- Vrednost indeksa I_{AD} vpliva na AOP, AOP_{EA} in vsebnost skupnih fenolnih spojin (večje pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65).
- Pogoji skladiščenja vplivajo na AOP_{EA} (večji pri jabolkih, skladiščenih 3 mesece pri 1 °C v NA).
- Interakcija vrednosti indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja vpliva na vsebnost flavonoidov (večja pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, skladiščenih 3 mesece pri 1 °C v NA in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA) in skupnih fenolnih spojin (večja pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, skladiščenih 3 mesece pri 1 °C v NA).
- Čas in pogoji skladiščenja vplivajo le na AOP_{EA} (večji pri jabolkih, skladiščenih 3 mesece v ULO/NA).
- Interakcija časa in pogojev skladiščenja ter indeksa I_{AD} vpliva le na vsebnost flavonoidov (večja pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, skladiščenih dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA).

7 POVZETEK

V raziskavi smo proučevali vpliv spremenjene atmosfere in gnojenja s kalcijem na vsebnosti merjenih parametrov v jabolkih sorte 'Aroma' in 'Discovery'. Obe sorti sta bili konvencionalno pridelani in poleg običajnega (talnega) gnojenja dodatno foliarno gnojene z dušikom v obliki uree, kalcijem v obliki CaCl_2 in kombinacijo obeh. V prvem eksperimentu smo analizirali obe sorti. Vzorci so bili analizirani takoj po obiranju in po dveh mesecih skladiščenja pri 1 °C (jabolka sorte 'Aroma' v ULO, jabolka sorte 'Discovery' pa v NA). V drugem eksperimentu smo analizirali le jabolka sorte 'Aroma' po 3 mesecih skladiščenja pri 1 °C v NA in ULO. Jabolka so bila razdeljena po skupinah glede na indeks I_{AD} ($< 0,65$, $0,66-0,80$ in $> 0,81$). Po treh mesecih je bila polovica jabolk za vzorce analizirana takoj, preostalo polovico pa smo skladiščili dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA. Kontrolni vzorci prvega eksperimenta so bili uporabljeni kot izhodiščna točka za analizo rezultatov drugega eksperimenta.

Vrednosti AOP, AOP_{EA} , vsebnosti flavonoidov in skupnih fenolov smo določevali spektrofotometrično pri različnih valovnih dolžinah po določenem času.

Prvi eksperiment

Pri analizi rezultatov vrednosti antioksidativnega potenciala v jabolkih sorte 'Aroma' in 'Discovery' smo ugotovili, da tako sorta in foliarno gnojenje kot tudi interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja statistično značilno vplivajo na AOP. Večji AOP smo določili pri jabolkih sorte 'Discovery', ki so bila foliarno gnojena z dušikom.

Pri analizi rezultatov AOP_{EA} v jabolkih sorte 'Aroma' in 'Discovery' smo ugotovili, da sorta, interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja ter skladiščenje (ne glede na sorto) statistično značilno vplivajo na večji AOP_{EA} v plodovih. Večji AOP_{EA} smo določili pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Discovery', ki niso bila foliarno gnojena, sledijo jim jabolka sorte 'Discovery', ki so bila foliarno gnojena z dušikom in niso bila skladiščena.

Pri analizi rezultatov vsebnosti flavonoidov v jabolkih sorte 'Aroma' in 'Discovery' smo ugotovili, da sorta in foliarno gnojenje (ne glede na sorto) ni značilno vplivalo na vsebnost flavonoidov v plodovih. Vendar pa smo ugotovili, da interakcija vpliva sorte in foliarnega gnojenja statistično značilno vpliva na večjo vsebnost flavonoidov. Večjo vsebnost smo določili pri kontrolnih vzorcih jabolk sorte 'Aroma', ki niso bili foliarno gnojene, sledijo jim jabolka sorte 'Aroma', foliarno gnojena s kalcijem. Skladiščenje prav tako ni statistično značilno vplivalo na vsebnost flavonoidov.

Pri analizi vsebnosti skupnih fenolnih spojin v jabolkih sorte 'Aroma' in 'Discovery' smo ugotovili, da skladiščenje (ne glede na sorto) nima statistično značilnega vpliva na vsebnost skupnih fenolov. Vendar pa smo ugotovili, da tako sorta, kot tudi interakcija vpliva sorte in skladiščenja statistično značilno vplivajo na vsebnost skupnih fenolnih spojin v plodovih. Večjo vsebnost skupnih fenolov smo določili pri jabolkih sorte 'Discovery', skladiščena 2 meseca pri 1 °C v NA. Foliaro gnojenje ni značilno vplivalo na vsebnosti skupnih fenolov. Opazili smo le tendenco večje vsebnosti skupnih fenolov pri jabolkih sorte 'Discovery', foliarno gnojenih z dušikom.

Drugi eksperiment

Analiza rezultatov vrednosti antioksidativnega potenciala je pokazala, da vrednost indeksa I_{AD} statistično značilno vpliva na večjo vrednost AOP v plodovih jabolk sorte 'Aroma'. Večjo vrednost smo ugotovili pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65.

Vrednost indeksa I_{AD} , pogoji skladiščenja ter čas in pogoji skladiščenja statistično značilno vplivajo na večji AOP_{EA} v plodovih jabolk sorte 'Aroma'. Večji AOP_{EA} smo določili pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, skladiščenih 3 mesece pri 1 °C v NA.

Analiza rezultatov vsebnosti flavonoidov je pokazala, da interakcija vpliva indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja, interakcija indeksa I_{AD} ter časa in pogojev skladiščenja statistično značilno vplivajo na večjo vsebnost flavonoidov v plodovih jabolk sorte 'Aroma'. Večjo vsebnost flavonoidov smo določili pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, skladiščenih 3 mesece pri 1 °C v NA in dodatnih 12 dni pri 20 °C v NA.

Vrednost indeksa I_{AD} , ter interakcija indeksa I_{AD} in pogojev skladiščenja statistično značilno vplivajo na večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin v plodovih jabolk sorte 'Aroma'. Večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin smo ugotovili pri jabolkih z indeksom I_{AD} manjšim od 0,65, ki so bila skladiščena 3 mesece pri 1 °C v NA.

Povzetek obeh eksperimentov

Če povzamemo iz prvega in drugega eksperimenta, je foliarno gnojenje z dušikom vplivalo na večji antioksidativni potencial, v primerjavi s foliarnim gnojenjem s kalcijem ali kombinacijo kalcija in dušika. Statistično značilnega vpliva foliarnega gnojenja na flavonoide, skupne fenole in AOP_{EA} nismo ugotovili. Večjo vsebnost skupnih fenolov so imela jabolka sorte 'Discovery', medtem ko se vrednosti AOP, vsebnosti flavonoidov in AOP_{EA} med sortama niso znatno razlikovale. Skladiščenje jabolk sort 'Aroma' in 'Discovery' ni značilno vplivalo na merjene parametre, opazili smo le tendenco večje vrednosti AOP jabolk, ki niso bila skladiščena. Med merjenimi parametri smo ugotovili pozitivne korelacije med AOP, AOP_{EA} in skupnimi fenoli. Indeks I_{AD} se ni izkazal za zanesljivega pri določanju zrelosti plodov. Zaradi variabilnosti vzorcev bi bilo potrebno za točnejše vrednosti in zanesljivejše rezultate analizirati večje število vzorcev, saj vzorci niso reprezentativni.

8 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32
- Abram V., Simčič M., 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmaceutski vestnik, 48: 573-589
- Adamič F., Bernot D., Cegnar F., Črnko J., Grum A., Hlišč T., Honzak D., Lekšan M., Maček J., Modic D., Oblak M., Smole J., Strgar A. 1975. Naše sadje. Ljubljana, Kmečki glas: 4-152
- Adamič Š. 1989. Temelji biostatistike. 2. dop. izd. Ljubljana, Medicinska fakulteta, Inštitut za biomedicinsko informatiko: 195 str.
- Ball G. F. M. 1998. Bioavailability and analysis of vitamins in foods. London, Chapman and Hall: 517-560
- Batič M., Raspor P. 2000. Kvasna biomasa kot vir antioksidativnih snovi. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67-75
- Beevers L. 1976. Plant biochemistry. 3rd ed. Warner J. (ed.). New York, Academic Press New York: 771-794
- Blanco A., Fernández V., Val J. 2010. Improving the performance of calcium-containing spray formulations to limit the incidence of bitter pit in apple (*Malus x domestica* Borkh.). Scientia Horticulturae, 127: 23-28
- Boyer J., Liu R. H. 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. Nutrition Journal, 3, 5: 1-15
- Brown G. S., Kitchener A. E., McGlasson W. B., Barnes S. 1996. The effects of copper and calcium foliar sprays on cherry and apple fruit quality. Scientia Horticulturae 67: 219-227
- Chardonnet C. O., Charron C. S., Sams C. E., Conway W. S. 2003. Chemical changes in the cortical tissue and cell walls of calcium-infiltrated 'Golden Delicious' apples during storage. Postharvest Biology and Technology, 28: 97-111
- Conway W. S., Sams C. E., Hickey K. D. 2002. Pre- and postharvest calcium treatment of apple fruit and its effect on quality. Acta Horticulturae, 594: 413-419
- Dhingra N., Sharma R., Kar A. 2014. Towards further understanding on the antioxidative activities of *Prunus persica* fruit: A comparative study with four different fractions. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 132: 582-587

- Farneti B., Gutierrez M. S., Novak B., Busatto N., Ravaglia D., Spinelli F., Costa G. 2015. Use of the index of absorbance difference (I_{AD}) as tool for tailoring post-harvest 1-MCP application to control apple superficial scald. *Scientia Horticulturae*, 190: 110-116
- Glenn G. M., Poovaiah B W. 1987. Role of calcium in delaying softening of apples and cherries. *Post Harvest Pomology Newsletter*, 5, 1: 10-19
<http://postharvest.tfrec.wsu.edu/pages/N5I1B> (avgust, 2016)
- Godec B. 2006. Jablanove sorte travniških sadovnjakov. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 57 str.
- Godec B., Mavec R., Dreu S. 2013. Sadno drevje v vrtu. Ljubljana, Kmečki glas: 151 str.
- Goodwin T. W., Mercer E. I. 1984. *Plant phenolics*. Oxford, Oxford Academic Press: 528-566. Cit. po: Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32
- Gülcin I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86: 345-391
- Gvozdenović D. 1989. Od obiranja sadja do prodaje. Ljubljana, Kmečki glas: 291 str.
- Gwuanpua S. G., Verlinden B. E., Hertog M. L. A. T. M., Bulens I., Van de Poel B., Van Impe J., Nicolai B. M., Geeraerd A. H. 2012. Kinetic modeling of firmness breakdown in 'Braeburn' apples stored under different controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 67: 68-74
- Hagen S. F., Borge G. I. A., Bengtsson G. B., Bilger W., Berge A., Haffner K., Solhaug K. A. 2007. Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 1: 1-10
- Hribar J. 1989. Spremembe kemičnih in mehanskih lastnosti jabolk sorte jonagold pri različnih pogojih skladiščenja. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, VTO za živilsko tehnologijo: 93 str.
- Hribar J., Simčič M. 2000. Antioksidanti v sadju in vrtninah. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 151-157
- Hribar J., Vidrih R., Zlatič E. 2008. Stanje in trendi pri skladiščenju jabolk. V: *Zbornik referatov 2. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo*, Krško, 31. januar – 2. februar 2008. Hudina M. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 421-427
- Jan I., Rab A., Sajid M. 2013. Influence of calcium choloride on physical characteristics and soft rot incidence on fruit of apple cultivars. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23, 5: 1353-1359

- Jakopič J. 2011. Antociani, kvercetini in druge fenolne spojine pri jablani (*Malus domestica* Borkh.) sorte 'fuji' med dozorevanjem. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 44 str.
- Javdani Z., Ghasemnezhad M., Najari H. H., Bakshi D. 2013. The comparison of phenolic compounds content and antioxidant capacity of some selected iranian apple genotypes for processing technology. *South Western Journal of Horticulture*, 4, 1: 43-55
- Jazbec M., Vrabl S., Juvanc J., Babnik M., Koron D. 1995. Sadni vrt. Ljubljana, Kmečki glas: 375 str.
- Jazbec M., Vrabl S., Juvanc J., Honzak D. 1985. V sadnem vrtu. Ljubljana, Kmečki glas: 389 str.
- Johnston J. W., Hewett E. W., Hertog M. L. A. T. M. 2010. Characterisation of 'Royal Gala' and 'Cox's Orange Pippin' apple (*Malus domestica*) softening during controlled atmosphere storage. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34, 1: 73:83
- Kalinowska M., Bielawska A., Lewandowska Siwkiewicz H., Priebe W., Lewandowski W. 2014. Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiology and Biochemistry*, 84: 169-188
- Knap M. 2014. Metode za ugotavljanje pristnosti ekološko pridelanih živil. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 142 str.
- Knap M., Ogrinc N., Potočnik K., Vidrih R. 2014. Antioxidant activity in selected Slovenian organic and conventional crops. *Acta Agriculturae Slovenica*, 103, 2: 281-289
- Koleva, II, van Beek T. A., Linssen J. P. H., de Groot A. Evstatieva L. N. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, 13: 8-17
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21
- Kranz B. 2002. Sadje za zdravje in prehrano. 2. natis. Ljubljana, Prešernova družba: 136-136
- Kreft I., Škrabanja V., Bonafaccia G. 2000. Temelji prehranskih in biotskih vplivov antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 33-37

- Kroon P., Williamson G. 2005. Polyphenols: dietary components with established benefits to health? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 8: 1239-1240
- Lanauskas J., Kvikliene N. 2006. Effect of calcium foliar application on some fruit quality characteristics of 'Sinap orlovskij' apple. *Lithuanian Institute of Horticulture*, 4, 1: 31-36
- Lee J. Y., Park H. J., Lee C. Y., Choi W. Y. 2003a. Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *LWT – Food Science and Technology*, 36, 3: 323–329
- Lee K. W., Kim Y. J., Kim D. O., Lee H. J., Lee C. Y. 2003b. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 6516-6520
- Lee S. K., Kader A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 3: 207-220
- Leja M., Mareczek A., Ben J. 2003. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. *Food Chemistry*, 80: 303-307
- Leskošek M. 1993. Gnojenje. Ljubljana, Kmečki glas: 197 str.
- Lin J.Y., Tang C.Y. 2007. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*, 101: 140-147
- Lötze E., Joubert J., Theron K. I. 2008. Evaluating pre-harvest foliar calcium applications to increase fruit calcium and reduce bitter pit in 'Golden Delicious' apples. *Scientia Horticulturae*, 116, 3: 299-304
- Mahne Opatić A. 2014. Vpliv modificirane atmosfere na skladiščne sposobnosti sliv (*Prunus domestica*). Magistersko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 69 str.
- Matthes A., Schmitz-Eiberger M. 2009. Polyphenol content and antioxidant capacity of apple fruit: effect of cultivar and storage conditions. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 82: 152-157
- Merzlyak M. N., Solovchenko A. E., Gitelson A. A. 2003. Reflectance spectral features and non-destructive estimation of chlorophyll, carotenoid and anthocyanin content in apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 2: 197-211
- Miculinić Trošt M. 2016. Vpliv gnojenja in dodatne osvetlitve med rastjo užitnega tolščaka (*Portulaca sativa* L.) na vsebnost bioaktivnih komponent. Magistersko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 71 str.

- Mikulič Petkovšek M. 2015. Bioaktivne snovi v sadju in zelenjavi: laboratorijske vaje za študente 2. letnika Hortikulture MSc. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 44 str.
- Mikulič Petkovšek M., Slatnar A., Štampar F., Veberič R. 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *Journal of Science and Food Agriculture*, 90: 2366-2378
- Miller E. V., Heilman A. S. 1952. Ascorbic acid and physiological breakdown in the fruits of the pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). *Science*, 116, 3019: 505-506
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 2: 211-219
- Muršec M., Štampar F., Lobnik F. 2004. Vpliv tal in foliarnega gnojenja s kalcijem na kakovost plodov jablane (*Malus domestica* Borkh.) 'Jonagold'. *Acta Agriculturae Slovenica*, 83, 2: 353-363
- Nemanič J. 2011. Vinarstvo: gradivo za 2. letnik. Ljubljana, Zavod IRC, Višješolski strokovni program Upravljanje podeželja in krajine: 243-244
http://www.impletum.zavod-irc.si/docs/Skriti_dokumenti/Vinarstvo-Nemanic.pdf
(avgust, 2016)
- Nicoli M. C., Anese M., Parpinel M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 3: 94-100
- NordGen/Pometet. 2013. The Pometum apple key: Aroma. Frederiksberg, University of Copenhagen, Department of Plant and Environmental Sciences: 1 str.
<http://www.nordgen.org/nak/index.php?view=show&id=5003&PHPSESSID=35647o8h3cc92qk6mmgugteu67&chglang=ENG> (avgust, 2016)
- Nyasordzi J., Friedman H., Schmilovitch Z., Ignat T., Weksler A., Rot I., Lurie S. 2013. Utilizing the I_{AD} index to determine internal quality attributes of apples at harvest and after storage. *Postharvest Biology and Technology*, 77: 80-86
- Ortiz A., Graell J., Lara I. 2011. Preharvest calcium applications inhibit some cell wall-modifying enzyme activities and delay cell wall disassembly at commercial harvest of 'Fuji Kiku-8' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 62, 2: 161-167
- Padayatty S. J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J. H., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta S. K., Levine M. 2003. Vitamin C as and antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 1: 18-35
- Panzella L., Petriccione M., Rega P., Scortichini M., Napolitano A. 2013. A reappraisal of traditional apple cultivars from Southern Italy as rich source of phenols with superior antioxidant activity. *Food Chemistry*, 140: 672-679

- Požrl T. 2001. Regulacija metabolnih sprememb zelja s pakiranjem v modificirano atmosfero. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 93 str.
- Rodriguez Amaya D. B. 2010. Quantitative analysis, *in vitro* assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 7: 726-740
- Sancin V. 1988. Sadje z našega vrta. Trst, Založništvo tržaškega tiska: 9-70
- Seljak J. 1996. Statistične metode. Ljubljana, Visoka upravna šola: 197-199
- Simčič M., Hribar J., Brodnik U. 2001. Compartmentisation and nutritional value of polyphenols and ascorbic acid in apples. V: The book of abstracts. European scientific symposium on molecular and genetic interactions involving phytochemicals, Gozd Martuljek, Slovenija, 17. september – 20. september. 2000. Kreft I., Škrabanja V. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 203-207
- Singleton V. L., Rossi Jr. J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158
- Sinha N. K. 2007. Apple: Production, chemistry and processing. V: Handbook of food products manufacturing. Vol. 1. Hui Y. H. (ed.). New Jersey, John Wiley & Sons: 773-791
- Suwa Stanojević M. 1995. Tehnologija sadja in vrtnin. Ljubljana, Zavod RS za šolstvo in šport: 14-40
- Šircelj H. 2008. Karotenoidi v fotosinteznem aparatu in odziv na stres. *Acta Agriculturae Slovenica*, 91, 1: 271-282
- Šiško M. 1983. Sadjarstvo. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 343 str.
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2014. Sadjarstvo. 2. dop. izd. Ljubljana, Kmečki glas: 6-223
- Tsao R., Yang R., Young J. C., Zhu H. 2003. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6347-6353
- Usenik V., Fabčič J., Štampar F. 2008. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chemistry*, 107: 185-192
- USDA. 2003. Approximate composition of apples: National nutrient database. Washington, United States Department of Agriculture: 1 str.
<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/> (avgust, 2016)

- Veberič R., Trobec M., Herbinger K., Hofer M., Grill D., Štampar F. 2005. Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. *Journal of Science of Food Agriculture*, 85: 1687-1694
- Vidrih R., Kač M. 2000. Analitika antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 101-114
- Viršček Marn M., Stopar M. 1998. Sorte jabolk. Ljubljana, Kmečki glas: 9-61
- Vodnik D. 2012. Osnove fiziologije rastlin. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 141 str.
- Vrhovšek U. 2001. Polifenoli kot predstavniki antioksidantov. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 97-107
- Wolfe K., Wu X., Liu R. H. 2003. Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 609-614
- Yamasaki H., Uefuji H., Sakihama H. 1996. Bleaching of the red anthocyanin induced by superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 332, 1: 183-186.
- Ziosi V., Noferini M., Fiori G., Tadiello A., Trainotti L., Casadoro G., Costa G. 2008. A new index based on vis spectroscopy to characterize the progression of ripening in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49: 319-329

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Rajku Vidrihu za vodenje in pomoč pri izdelavi diplomskega dela.

Hvala tudi somentorici doc. dr. Mojci Korošec za strokovno pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Za opravljeno recenzentsko delo se zahvaljujem prof. dr. Tatjani Košmerl.

Za tehnično pomoč v laboratoriju Katedre za tehnologije, prehrano in vino Oddelka za živilstvo se zahvaljujem Zdenki Zupančič, teh. sod.

Hvala Barbari Slemenik, univ. dipl. bibl., za pomoč pri urejanju literature.

Zahvaljujem se tudi vsem ostalim, ki ste mi kadarkoli pomagali pri nastanku diplomskega dela in tudi pri samem študiju.

Predvsem pa najlepša hvala moji družini za vzpodbudo in potrpežljivost skozi vsa leta študija.