

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Martina FLEGAR

**VPLIV GNOJENJA S KALCIJEM IN DUŠIKOM NA  
ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL IN SKUPNE  
FENOLE V JABOLKIH**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Martina FLEGAR

**VPLIV GNOJENJA S KALCIJEM IN DUŠIKOM NA  
ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL IN SKUPNE FENOLE  
V JABOLKIH**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**IMPACT OF CALCIUM AND NITROGEN FERTILIZATION ON  
ANTIOXIDATIVE POTENTIAL AND TOTAL PHENOLS IN APPLES**

GRADUATION THESIS  
University Studies

Ljubljana, 2014

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.

Za mentorja diplomskega dela je imenovan prof. dr. Rajko Vidrih in za recenzentko prof. dr. Tatjana Košmerl.

Mentor: prof. dr. Rajko Vidrih

Recenzentka: prof. dr. Tatjana Košmerl

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Diplomska naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Martina Flegar

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

ŠD Dn  
DK UDK 634.11:641.1:631.8(043)=163.6  
KG jabolka / jablana / sorta 'Elstar' / sorta 'Discovery' / sorta 'Aroma' / gnojenje / mineralna prehrana / skladiščenje jabolk / vpliv kalcija na jabolka / antioksidanti / fenolne spojine  
AV FLEGAR, Martina  
SA VIDRIH, Rajko (mentor)/KOŠMERL, Tatjana (recenzentka)  
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo  
LI 2014  
IN VPLIV GNOJENJA S KALCIJEM IN DUŠIKOM NA ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL IN SKUPNE FENOLE V JABOLKIH  
TI Diplomsko delo (univerzitetni študij)  
OP X, 51 str., 7 pregl., 10 sl., 66 vir  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Namen naloge je bil določiti vsebnost skupnih fenolnih spojin (SFS) in antioksidativni potencial (AOP) v plodovih jabolk. Ugotavljali smo kako gnojenje s kalcijem (Ca), dušikom (N) in s kombinacijo kalcija in dušika (Ca + N) vpliva na vsebnost skupnih fenolov in antioksidativni potencial. V raziskavo so bile vključene 3 sorte jabolk 'Discovery', 'Elstar' in 'Aroma'. Velik vpliv na merjene parametre je imela sorta jabolk. Najvišji AOP je imela sorta 'Elstar', sledita sorti 'Discovery' in 'Aroma'. Najvišjo vrednost skupnih fenolnih spojin (SFS) je imela sorta 'Discovery', sledita sorti 'Elstar' in 'Aroma'. Najvišji AOP in SFS vsebujejo plodovi gnojeni s kombinacijo Ca + N, sledijo plodovi gnojeni s Ca ter kontrola, najmanj pa plodovi gnojeni z dušikom.

## KEY WORDS DOKUMENTATION

DN Dn  
DC UDC 634.11:641.1:631.8(043)=163.6  
CX apples / cv. 'Elstar' / cv. 'Discovery' / cv. 'Aroma' / fertilization / mineral nutrition / storage / effect of calcium on the apple / antioxidants / phenolic compounds  
AU FLEGAR, Martina  
AA VIDRIH, Rajko (supervisor) / KOŠMERL, Tatjana (reviewer)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology  
PY 2014  
TI IMPACT OF CALCIUM AND NITROGEN FERTILIZATION ON ANTIOXIDATIVE POTENTIAL AND TOTAL PHENOLS IN APPLES  
DT Graduation thesis (University studies)  
NO X, 51 p., 7 tab., 10 fig., 66 ref  
LA sl  
AL sl/en  
AB The purpose of the thesis was to determine the content of total phenols (TP) and antioxidant potential (AOP) in apples. We aimed to determine how fertilization with calcium (Ca), nitrogen (N) and the combination of calcium and nitrogen (Ca + N) affects the content of TP and AOP. Three apple varieties ('Discovery', 'Elstar' and 'Aroma') were studied. Apple variety influenced AOP. The highest AOP was recorded in 'Elstar', followed by 'Discovery' and 'Aroma'. The highest value of total phenols TP was found in 'Discovery', followed by 'Elstar' and 'Aroma'. With regard to fertilization, the highest AOP and TP were found in fruits fertilized with a combination of Ca + N, followed by fruits fertilized with Ca and control, the lowest AOP and TP were found in fruits fertilized with nitrogen.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS DOKUMENTATION .....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VIII</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>IX</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>X</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1 NAMEN DELA.....	2
1.2 DELOVNA HIPOTEZA .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>3</b>
2.1 JABLANA.....	3
2.2 JABOLKO.....	3
2.3 ZNAČILNOSTI KULTIVARJEV JABOLK .....	4
2.3.1 Značilnosti kultivarja 'Elstar' .....	4
2.3.2 Značilnosti kultivarja 'Discovery' .....	5
2.3.3 Značilnosti kultivarja 'Aroma' .....	6
2.4 SESTAVINE JABOLKA .....	6
2.5 MINERALNA PREHRANA RASTLIN .....	6
2.5.1 Dušik (N) .....	7
2.5.2 Fosfor (P).....	7
2.5.3 Kalij (K).....	7
2.5.4 Magnezij (Mg).....	8
2.5.5 Železo (Fe) .....	8
2.5.6 Mangan (Mn) .....	8
2.5.7 Cink (Zn) .....	8
2.5.8 Bor (B) .....	9
2.6 VNOS KALCIJA V RASTLINO .....	9
2.6.1 Vloga kalcija v plodovih jabolk.....	10
2.7 CELIČNA STENA JABOLK .....	11
2.7.1 Vpliv kalcija na celično steno .....	11
2.8 POVEČANJE KONCENTRACIJE KALCIJA V JABOLKIH .....	12

<b>2.8.1 Potapljanje v raztopino CaCl<sub>2</sub> .....</b>	<b>13</b>
<b>2.8.2 Foliarno gnojenje ali gnojenje preko listov.....</b>	<b>13</b>
<b>2.8.3 Premaz z aditivom karboksimetilcelulaze (CMC) .....</b>	<b>14</b>
<b>2.9 SKLADIŠČENJE JABOLK.....</b>	<b>14</b>
<b>2.9.1 Skladiščenje v normalni atmosferi (NA) .....</b>	<b>15</b>
<b>2.9.2 Skladiščenje v kontrolirani atmosferi (CA) .....</b>	<b>15</b>
<b>2.9.3 Shranjevanje jabolk v atmosferi z ultra nizko vsebnostjo kisika (ULO).....</b>	<b>16</b>
<b>2.10 VPLIV KALCIJA NA SKLADIŠČENJE.....</b>	<b>17</b>
<b>2.10.1 Skladiščenje v normalni atmosferi.....</b>	<b>17</b>
<b>2.10.2 Skladiščenje v kontrolirani atmosferi (CA) .....</b>	<b>18</b>
<b>2.10.3 Skladiščenje v atmosferi z zelo nizko vsebnostjo kisika (ULO).....</b>	<b>18</b>
<b>2.11 VPLIV KALCIJA NA SINTEZO HLAPNIH SPOJIN .....</b>	<b>18</b>
<b>2.11.1 Vpliv kalcija na zorenje .....</b>	<b>19</b>
<b>2.11.2 Vpliv kalcija na mehčanje .....</b>	<b>19</b>
<b>2.12 ANTIOKSIDANTI.....</b>	<b>19</b>
<b>2.12.1 Antioksidativni potencial (AOP).....</b>	<b>20</b>
<b>2.12.2 Antioksidanti v rastlinah .....</b>	<b>20</b>
<b>2.13 FENOLNE SPOJINE .....</b>	<b>20</b>
<b>2.13.1 Funkcija fenolnih spojin .....</b>	<b>21</b>
<b>2.13.2 Fenolne spojine v jabolkih.....</b>	<b>21</b>
<b>2.14 BARVILA V LUPINI JABOLK .....</b>	<b>22</b>
<b>3 MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 MATERIALI.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.1 Jabolka .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.2 Reagenti.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 METODE DELA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2.1 Določanje antioksidativnega potenciala z metodo DPPH' .....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 STATISTIČNA OBDELAVA REZULTATOV .....</b>	<b>28</b>
<b>3.3.1 Aritmetična sredina.....</b>	<b>28</b>
<b>3.3.2 Varianca in standardni odklon .....</b>	<b>28</b>
<b>4 REZULTATI.....</b>	<b>30</b>

<b>4.1</b>	<b>REZULTATI ANALIZ GLEDE NA SORTO JABOLK.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1.1</b>	<b>Rezultati določanja antioksidativnega potenciala v jabolkih s prostim radikalom DPPH' .....</b>	<b>30</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Rezultati določanja fenolnih spojin v plodovih jabolk .....</b>	<b>36</b>
4.1.2.1	Umeritvena krivulja za skupne fenolne spojine s F.C.reagentom.....	36
4.1.2.2	Določanje koncentracije skupnih fenolnih spojin v plodovih jabolk.....	37
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA.....</b>	<b>39</b>
5.1	ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL .....	39
5.2	VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN (SFS).....	40
<b>6</b>	<b>SKLEPI .....</b>	<b>42</b>
<b>7</b>	<b>POVZETEK.....</b>	<b>43</b>
<b>8</b>	<b>VIRI .....</b>	<b>45</b>
<b>ZAHVALA</b>		

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:Povprečna koncentracija ( $\mu\text{g/g}$ sveže mase) fenolnih komponent v lupini in mesu jabolk <sup>a</sup> (Sinha, 2007:782) .....	22
Preglednica 2:Rezultati meritev antioksidativnega potenciala (mmol DPPH/100 g) jabolk sorte 'Aroma' med skladiščenjem. ....	31
Preglednica 3:Rezultati meritev antioksidativnega potenciala (mmol DPPH/100 g) jabolk sorte 'Elstar' .....	32
Preglednica 4:Rezultati meritev antioksidativnega potenciala (mmol DPPH/100 g) jabolk sorte 'Discovery' .....	33
Preglednica 5:Povprečje in standardni odklon antioksidativnega potenciala AOP (mmol DPPH/100 g) glede na sorto jabolk. ....	35
Preglednica 6:Odvisnost absorbance od koncentracije galne kisline .....	36
Preglednica 7:Povprečne vrednosti in standardni odklon vsebnosti skupnih fenolnih spojin (mg/100 g) glede na sorto jabolk in različne načine gnojenja .....	37

**KAZALO SLIK**

Slika 1: Prečni prerez jabolka sorte 'Elstar' (Viršček Marn in Stopar, 1998:67).....	4
Slika 2: Prečni prerez jabolka sorte 'Discovery' (Viršček Marn in Stopar, 1998: 61).....	5
Slika 3: Shematični prikaz floemskega in ksilemskega toka po rastlini v zgodnjih stopnjah razvoja ploda. Plod se v tem času prehranjuje v največji meri preko ksilema, pozneje pa preko floema. (Štampar in sod., 2009).....	10
Slika 4 : Zgradba lupine jabolk pod svetlobnim mikroskopom (A) in voskasta povrhnjica lupine jabolk, sestavljena iz več kompaktnih plasti trdnih celičnih sten (B) . (Glenn in Poovaiah, 1987).....	11
Slika 5: Celična stena netretiranih (A) in s kalcijem tretiranih jabolk (B). (Ortiz in sod., 2011a).....	12
Slika 6: Celice jabolk tretiranih s kalcijem po sedmih mesecih shranjevanja. (Glenn in Poovaiah, 1987).....	17
Slika 7: Mikrostruktura tkiva jabolk, tretiranega (A) in netretiranega s kalcijem (B) po sedmih mesecih shranjevanja(Glenn in Poovaiah, 1987) B - tkivo je togo in močno povezano med sabo.....	17
Slika 8: Povprečje in standardni odklon antioksidativnega potenciala (mmol DPPH/100 g) glede na sorto jabolk in način gnojenja. ....	35
Slika 9: Umeritvena krivulja za določanje fenolnih spojin – odvisnost absorbance od koncentracije galne kisline skupaj z enačbo premice.....	36
Slika 10: Vsebnost in standardni odklon vsebnosti skupnih fenolnih spojin (mg/100 g) v plodovih jabolk sort 'Aroma', 'Discovery' in 'Elstar'.....	37

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AOP – antioksidativni potencial

CA - kontrolirana atmosfera

$\text{CaCO}_3$  – apnenec

$\text{CaCO}_3 \times \text{MgCO}_3$  – dolomit

CMC - aditiv karboksimetilceluloza

DPPH<sup>•</sup> - stabilni prosti radikal 2,2 - difenil – pikrilhidrazil

F.C. - Folin - Ciocalteujev reagent

NA - normalna atmosfera

$\text{Na}_2\text{CO}_3$  - natrijev karbonat

$\text{NH}_4$  – amoniak

RF - referenčni vzorec

ULO - atmosfera z nizko koncentracijo kisika

## 1 UVOD

V Sloveniji med sadnimi vrstami v največjem obsegu gojimo jabolka (Štampar in sod., 2009). Najpogosteje uporabljeno latinsko ime za žlahtno jablano je *M. domestica* Borkh oz. *Malus × domestica* Borkh.

Na svetu poznamo več kot 7000 vrst jabolk (Skog in Chu, 2003). Jabolko je pečkato sadje in jo uvrščamo na peto mesto po količini pridelanega sadja na svetu (Sinha, 2007).

Žlahtna jablana je medvrstni križanec. Pri njenem nastanku je v preteklosti sodelovalo več različnih vrst jablan, v novejšem času pa v žlahtno jablano vnašajo gene iz drugih vrst v postopku žlahtnjenja novih sort (Viršček Marn in Stopar, 1998).

Jabolko ima pomembno vlogo v naši prehrani. Vsebuje veliko vitaminov, vlaknin, ogljikovih hidratov, organskih kislin in ima nizko energijsko vrednost (Souci in sod., 1994). Posebna pozornost je danes posvečena pigmentom ter antioksidantom jabolk, ki imajo tudi zelo velik preventivni učinek pri ohranjanju zdravja in preprečevanju številnih bolezni (Curry, 1997).

Z agrotehničnimi ukrepi lahko vplivamo na metabolizem plodov in vsebnost prehransko pomembnih sestavin v plodovih jabolk. Gnojenje z dušikom je agrotehnični ukrep, namenjen za uravnavanje količine pridelka. Dodajanje kalcija pa je namenjeno preprečevanju pojava fizioloških bolezni.

Najbolj pomemben makroelement v jabolku, ki vpliva na samo kakovost sadja je kalcij. Ta sodeluje pri presnovi celične stene. Pri tem okrepi celično steno in zmanjša njeno poroznost (Domagala-Swiątkiewicz in sod., 2009).

Kalcij je ključnega pomena za zaviranje mehčanja in s tem podaljšanja roka uporabnosti (Ortiz in sod., 2011a).

Jabolka tretirana s kalcijem imajo lepo barvo lupine v primerjavi s tistimi, ki niso tretirana s kalcijem. Glede na to lastnost se potem potrošnik odloči za nakup (Ortiz in sod., 2010).

Sadje, ki vsebuje manj kalcija je na splošno bolj gorenega okusa, pojavi pa se tudi fiziološka motnja, imenovana gorenka pegavost (Blanco in sod., 2010).

Antioksidativni učinek dajejo sadju in zelenjavi polifenolne snovi, v manjši meri tudi vitamini A, C in E (Vidrih in Kač, 2000). Vsebnost klorofilov, karotenoidov in antocianov ter njihovo razmerje določa sadju barvo in videz. Z njimi se izraža tudi sama kakovost sadja (Awad in sod., 2001).

Fenolne spojine se v naravi pojavljajo v obliki sekundarnih metabolitov in sodelujejo pri odpornosti rastlin. Fenoli delujejo kot antioksidanti, saj ščitijo celice pred okvarami in zmanjšujejo nevarnost rakavih obolenj (Veberič in sod., 2005).

Fenolne spojine in askorbinska kislina sta glavni sadni sestavini z visokim antioksidativnim potencialom. Različne vrste sadja vsebujejo različne koncentracije antioksidantov (Simčič in sod., 2001). Kalcij sodeluje pri oblikovanju lepše barve jabolka, kar pomeni, da imajo s kalcijem gnojena jabolka več fenolnih snovi (Li in sod., 2002).

### 1.1 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je bil določiti vsebnost skupnih fenolov in antioksidativnega potenciala v plodovih jabolk gnojenih s kalcijem (Ca), dušikom (N) in s kombinacijo kalcija in dušika (Ca + N). Med seboj smo primerjali nekatere kemijske parametre, kot so vrednost antioksidativnega potenciala in vsebnost skupnih fenolov v treh sortah jabolk in sicer 'Aroma', 'Discovery' in 'Elstar'.

### 1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Predvidevamo, da gnojenje z dušikom (N), kalcijem (Ca) in kombinacijo kalcija in dušika (Ca+N) vpliva na AOP in vsebnost skupnih fenolov.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 JABLANA

Po podatkih FAO (Food and Agriculture Organization) iz leta 2011 v svetu pridelajo 59 milijonov ton jabolk (FAISTAT, 2013).

Pri nas pridelamo od sadnih vrst največ jabolk in sicer 70 tisoč ton na leto (Štampar in sod., 2009).

Za izboljšanje skladiščne sposobnosti ter kakovosti sadja se uporabljo različni agrotehnični ukrepi. Gnojenje s kalcijem v sadovnjaku preprečuje fiziološke bolezni jabolk.

Uporaba kalcija v sadovnjaku pred ali po obiranju ima pomemben vpliv na trdoto plodov. Njegove lastnosti so predvsem zaviranje neugodnih tekturnih sprememb, izboljšanje strukturnega tkiva, zmanjšanja dovzetnosti za bolezni med skladiščenjem, podaljšanje roka in ohranjanje senzorične kakovosti sadja. Glede na raziskave potrošnikov so najpomembnejši parametri kvalitete plodov jabolka aroma, trdota plodov in sočnost. Dodajanje kalcija sadju pred ali po obiranju izboljša strukturo tkiva, zmanjšuje dovzetnost za bolezni med skladiščenjem, podaljšuje rok svežosti, ohranja čvrstost in kakovost sadja (Cybulska in sod., 2011).

### 2.2 JABOLKO

Jabolko je pečkato sadje. Skozi zorenje se ovalne stene plodu začnejo širiti in s tem prihaja do nastanka mesnatosti in procesa samega zorenja. Jabolka se med seboj zelo razlikujejo po zunanjih lastnostih. Med zorenjem prehaja barva od zelene, rumene do rdeče odvisno od same sorte.

Fiziološke lastnosti jabolk, kot so voskasti poprh na lupini in nizka stopnja dihanja, omogočajo daljše shranjevanje in transport na daljše razdalje. Veliko jabolk shranjujemo pri 0 °C. Nekatere sorte jabolk tudi pri nekoliko višji temperaturi zaradi pojava bolezni, ki nastanejo pri samem hlajenju (Skog in Chu, 2003).

Topne trdne snovi in kislost sta pomembna parametra, ki sta povezane s samo kvaliteto sadja. Ta sprememba razmerja parametrov predvsem sladkorjev in kislin ima pomemben vpliv na okus jabolk (Hagen in sod., 2007).

## 2.3 ZNAČILNOSTI KULTIVARJEV JABOLK

### 2.3.1 Značilnosti kultivarja 'Elstar'

#### POREKLO :

Kultivar (sorto) so vzgojili na Inštitutu CPRO-DLO v Wageningnu na Nizozemskem. Križali so sorte 'Zlati delišes' × 'Ingrid Marie'. V predelavo so jo uvedli leta 1975. Uvrščamo jo med glavne sorte slovenskega sadnega izbora. Je diploidna sorta.

#### MUTANTI :

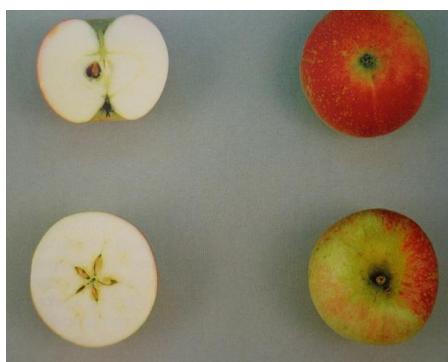
Pojavljajo se številni mutanti z večjim deležem pokrovne barve. Sem uvrščamo : 'Rwd Elstar', 'Elstar Elshof', 'Elstar Van Vliet', 'Daliest', 'Elista', 'Daliter', 'Elton', 'Elstar de Belders', 'Elstar van der Grift', 'Elstar Proefstation Wilhelminadorp' in 'Elanared'.

#### ČAS OBIRANJA, UŽITNA ZRELOST:

Jabolka zorijo od konca avgusta do 10. septembra. Pri skladiščenju v hladilnici ostanejo najboljša za uživanje do decembra, v hladilnici pri 2 °C do februarja naslednje leto in v kontrolirani atmosferi (-3 °C, 1 % CO<sub>2</sub> in 3 % O<sub>2</sub>) pa do sredine marca naslednje leto. Po tem že prihaja do nekaterih fizioloških sprememb, najpogosteje izguba vode.

#### VELIKOST IN OBLIKA:

Jabolka so srednje debela in s sploščeno lupino. Med seboj so precej izenačena po velikosti.



Slika 1: Prečni prerez jabolka sorte 'Elstar' (Viršček Marn in Stopar, 1998:67)

#### LUPINA:

Lupina jabolka je gladka, ponekod tudi hrapava. Del lupine je lahko prekrit z mrežasto rjo. Z dozorevanjem dobijo jabolka rahlo voščeno prevleko. Osnovna barva prehaja iz zelenkastorumene v slaminato barvo. Pokrovna barva je oranžnordeča do živordeča. Delež pokrovne barve lahko znaša nekje do 80 %. Lenticelle so drobne, manj izrazite in manj številčne.

### MESO IN OKUS:

Meso jabolka je zelenkastorumeni do belkastorumeni barve, čvrsto, drobnozrnato in sočno. Okus je odličen, odlikuje ga harmonično razmerje med kislinami in sladkorji ter žlahtna aroma (Viršček Marn in Stopar, 1998: 67)

### **2.3.2 Značilnosti kultivarja 'Discovery'**

#### POREKLO:

Sorta je iz semena prosto oprasene sorte 'Worcester Pearmain'. Vzgojil jo je K. Dummer okrog leta 1949 v angleški grofiji Essex. Spada v skupino relativno odpornih sort slovenskega sadnega izbora. Je diploidna sorta.

#### MUTANTI:

'Discovery Spur Type'

#### ČAS OBIRANJA, UŽITNA ZRELOST:

Jabolka zorijo v začetku avgusta. Obiramo jih lahko približno en mesec. V hladilnici jih lahko skladiščimo pri 4 °C do konca decembra.

#### VELIKOST IN OBLIKA:

Jabolka so srednje drobna. So sploščeno do sploščeno okroglaste oblike.

Jabolka so skoraj brez reber ali pa so ta zelo blaga in široka.



Slika 2: Prečni prerez jabolka sorte 'Discovery' (Viršček Marn in Stopar, 1998: 61)

#### LUPINA:

Z zorenjem jabolka dobi lupina rahlo voščeno prevleko. Pri tem prehaja iz belkastozelene v belkastorumeni barvo. Ta je zvezdasto oblikovana. Okrog lenticel je nekoliko hrapava.

#### MESO IN OKUS:

Meso jabolka je rumeno do kremaste barve, pod lupino je lahko rdečkasto, drobnozrnato, čvrsto in sočno.

Okus je harmoničen, sladko kisel in prijetno aromatičen. Ob neugodnih vremenskih razmerah jabolka pokajo in gnijejo na drevesu (Viršček Marn in Stopar, 1998: 67).

### **2.3.3 Značilnosti kultivarja 'Aroma'**

#### **POREKLO:**

Kultivar (sorto) so vzgojili na Švedskem leta 1947. Križali so sorti 'Ingrid Marie' × 'Philippa'. V predelavo so jo uvedli leta 1973.

#### **MUTANTI:**

Pojavljajo se številni mutanti. Sem uvrščamo tudi rdeče mutante tako im. 'Amarosa', katero so odkrili na Švedskem leta 1988.

Drugi mutanti so še 'Ingrid Marie', 'Lobo', 'Discovery Katya', 'James Grieve', 'Cortland', 'Filippa', 'Signe Tillisch gatan', 'Summerred', 'Alice Julyred', 'Mio'.

#### **ČAS OBIRANJA, UŽITNA ZRELOST:**

Jabolka obiramo konec septembra. Idealna za uživanje ostanejo do novembra ali decembra. V sodobnih hladilnicah ostanejo obstojna do februarja.

#### **VELIKOST IN OBLIKA:**

Jabolka so srednje velika, okrogla in z gladko površino.

#### **LUPINA:**

Lupina jabolka je gladka. Osnovna barva se preliva od rumene do rumenozelene. Na sončni strani prihaja do nastanka bleščečo rdeče barve. Sorta 'Amarosa' je bolj temno rdeče barve.

#### **MESO IN OKUS:**

Meso jabolka je rumenkasto bele barve, srednje čvrsto, s sočnim mesom. So dobrega okusa (NordGen/Pometet, 2013).

### **2.4 SESTAVINE JABOLKA**

Sestava jabolka je odvisna od sorte jabolka. Največji delež predstavlja voda (85 %). V jabolku je 14 % ogljikovih hidratov od tega je 75 % sladkorjev, 6 % fruktoze, 2,4 % glukoze in 2 % saharoze. Proteinov je 0,3 %, maščob je 0,2 %. V jabolku prevladuje jabolčna kislina (0,3 do 1 %) (Sinha, 2007).

### **2.5 MINERALNA PREHRANA RASTLIN**

Za rast jablane so potrebni makro – (dušik, fosfor, kalij, magnezij, kalcij) in mikroelementi (žezezo, mangan, cink, žveplo, baker, bor, molibden).

### 2.5.1 Dušik (N)

Dušik je pomemben element v tleh. Kakovosten vir dušika predstavlja humus. Gnojenje z dušikom vpliva na količino pridelka in na njegovo kakovost. Rastline za svojo prehrano uporabljajo le mineralno obliko dušika, in sicer v amonijski  $\text{NH}_4^+$  in nitratni  $\text{NO}_3^-$  obliki (Leskošek, 1993). Po cvetenju se potreba po dušikovih hranilih poveča. Gnojenje pospešuje nastajanje listnega barvila (klorofila), pri čemer se listje močno razvije in postane temno zeleno barve.

Z razgradnjo organskih snovi oz. mineralizacije postane dušik dostopen rastlinam. Za sprejem dušika v rastlino je potrebno, da imajo korenine na razpolago velike količine ogljikovih hidratov.

Dušik je shranjen v rastlini v obliki asparaginske in glutaminske kisline. Razvoj in rast sta v pomladnih mesecih odvisna ravno od teh zalog. Zaradi prenizkih zalog dušika prihaja do slabše kakovosti jabolk. Poganjki so kratki, drobni, svetlo zelene barve, plodovi pa ostanejo drobni. Z jesenskim škropljenjem se poveča kakovost cvetov v naslednjem letu in število celic v nastajajočem, diferencialnem brstu (Štampar in sod., 2009).

Preveč dušika v tleh pa nam poruši ravnotežje med rodnostjo in rastjo. Posledica tega so manjša trdota plodov, slabša skladiščna sposobnost plodov, nižja vsebnost kalcija v plodovih itd (Brence, 2011).

### 2.5.2 Fosfor (P)

Rastlina fosfor sprejema preko korenin, optimalna vrednost pH zemlje znaša od 6 do 7. V rastlini ostane v obliki anorganskega fosfata ali pa se preko hidroksilne skupine veže na ogljikovo verigo kot preprosti fosfatni ester. Fosfati se lahko med seboj povežejo v energijsko bogato verigo. Ti sodelujejo pri oblikovanju fosfolipidov membran. Fosfat celica kopiči v celični vakuoli. Tu je shranjeno od 85 do 95 % celotnega fosforja. Pri pomanjkanju fosforja se procesi v celici upočasnijo, zmanjša se aktivnost klorofila medtem ko količina klorofilov in proteinov ostane enaka. Podaljšajo se korenine in prihaja do sproščanja organskih kislin. Količina fosforja prav tako vpliva na fotosintezo. Prosti fosfat mora biti prisoten v stromi kloroplasta in pri izmenjavi kloroplasta in citoplazme. Listi so pri tem temno zeleni, celo nekoliko vijolični zaradi sinteze antocianov. Prihaja lahko tudi do manjših nekroz in zgodnjega odpadanja listov (senescence) (Štampar in sod., 2009).

### 2.5.3 Kalij (K)

Kalij je hitro gibljiv makroelement in se v rastlini premešča na večje razdalje prek floema in ksilema. Uvrščamo ga med vodilne katione. Skupaj z anioni sodeluje pri osmotskem pritisku. V presnovne procese ne vstopa.

Kalij je pomemben za tvorbo proteinov in sicer za premeščanje asimilatov. Visok osmotski tlak v koreninah je predpogoj za sprejem vode in za premeščanje raztopljenih snovi po ksilemu. Pri tem se povečuje celica zaradi zadrževanja kalijevih ionov v celici, ki so potrebni za stabilizacijo pH v citoplazmi ter za povečanje osmotske zmožnosti v vakuoli. Zaradi pomanjkanja kalija se zmanjša rast, pojavi se venenje in izguba turgorja. Rastline so tudi občutljivejše na pozebo in na napad gliv. Pri preveliki količini kalija se pojavijo motnje v sprejemanju kalcija in magnezija (Štampar in sod., 2009).

#### **2.5.4 Magnezij (Mg)**

Večji del magnezija je vezan v obliki dolomita. Njegov sprejem v rastlino lahko ovira kalij, kalcij, mangan in nizka vrednost pH.

V rastlini se nahaja v listih in sodeluje pri tvorbi beljakovin in fotosintezi. Pomanjkanje zmanjša potek fotosinteze, premeščanje ogljikovih hidratov iz listov v plodove in korenine.

Prihaja tudi do zmanjšanja rasti korenin, ker je več sladkorja in škroba v listih. Tkiva med listnimi režami se razbarvajo in to razbarvanje se širi od baze poganjka proti vrhu. Zaradi pomanjkanja so plodovi manjši, slabše obarvani in z manjša vsebnostjo ogljikovih hidratov (Štampar in sod., 2009).

#### **2.5.5 Železo (Fe)**

V tleh se sprošča iz železovih mineralov. Več kot 80 % celotnega železa v rastlini je v kloroplastih listov. Pomanjkanje železa se kaže v slabši tvorbi klorofila, slabši rasti poganjkov in listov, slabši rodnosti ter intenzivno rdeče obarvanih plodovih. Pojavi se na mladih listih, kasneje na starejših, kot kloroza (Štampar in sod., 2009).

#### **2.5.6 Mangan (Mn)**

Veliko mangana se nahaja v tleh, kjer zastaja voda in ima nizek pH. Znaki pomanjkanja so podobni kot pri pomanjkanju železa. Pojavlja se na starejših listih. Ti odpadejo poleti ob velikem pomanjkanju mangana ampak to ne vpliva na rast in rodnost drevesa (Štampar in sod., 2009).

#### **2.5.7 Cink (Zn)**

Mikroelementa cinka primanjkuje, če je v tleh preveč kalcija in fosforja. Njegovo pomanjkanje se kaže v zmanjšani rasti nekaterih delov vej ali cele rastline. Pri tem je motena tvorba cvetov, oploditev je slaba, plodovi so nepravilnih oblik in listi so majhni. Pomanjkanje povzroči majhno vsebnost avksinov rastnih vršičkov. Najbolj so ogrožene jablane in češnje (Štampar in sod., 2009).

### 2.5.8 Bor (B)

Mikroelement bor je v tleh vezan v mineralih, malo pa ga je v talni raztopini. Visok pH tal onemogoča boru, da bi prehajal do rastline. Pomanjkanje povzroči motnje v delitvi celic, vpliva na njegovo trdnost celične stene, korenine pri tem slabše rastejo, vpliva na tvorbo lignina in ovira prerazporejanje avksinov. Zelo pomemben je pri oploditvi. Spomladansko in jesensko foliarno gnojenje izboljša oploditev in poveča ovesek. Pri pomanjkanju odmirajo vršički, listne žile listov se obarvajo rdeče in listi so majhni. Njegova prisotnost je pomembna za zgradbo in delovanje celičnih sten ter membrane (Štampar in sod., 2009).

## 2.6 VNOS KALCIJA V RASTLINO

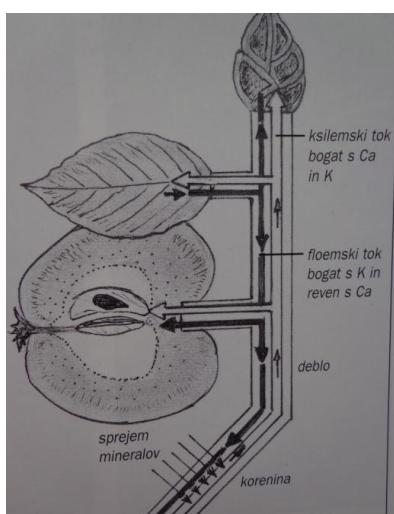
Kalcij ima v tleh pomembno vlogo, saj izboljšuje fizikalne lastnosti tal, kot so vpliv na boljšo prepustnost in zračnost ter izboljšanje strukture tal.

V tleh je kalcij prisoten v obliki apnenca  $\text{CaCO}_3$  in dolomita  $\text{CaCO}_3 \times \text{MgCO}_3$ . Rastline sprejemajo kalcij iz tal v ionski obliki. Njegova absorpcija je odvisna od okoljskih dejavnikov in od lastnosti koreninskega sistema. Kadar kalcij doseže površino korenin, se giblje skozi koreninsko skorjo z difuzijo ali se izmenjuje na prosta mesta v ksilemske žile ali s kombinacijo obeh. Gibanje kalcija iz koreninske skorje v centralni cilinder in ksilemske žile je omejeno z oplutenelimi kasparijevimi trakovi endodermisa. Zaradi teh ovir se morajo kalcijevi ioni transportirati skozi membrano v simplast vzdolž nepretrgane zveze citoplazme. Tako je sprejem in transport kalcija do ksilema v glavnem omejen na mlade dele korenin, kot so koreninski vršički.

Transport kalcija v višje dele rastlin pa poteka po ksilemu, izključno pasivno v smeri mlajših meristemskih tkiv. Po rastlini se kalcij prenaša po ksilemu s transpiracijskim tokom, zato je v veliki meri gibanje kalcijevih ionov odvisno od intenzitete transpiracije. Gibanje kalcija v rastlini je težko pojasniti, saj se lahko kalcijevi ioni v celičnih stenah ksilema tudi absorbirajo.

Tukaj se lahko tudi izmenjuje z nekaterimi ostalimi kationi, ki dalje potujejo v smeri transpiracije. Transport kalcija se bistveno razlikuje od prenosa magnezija, kalija, dušika in fosforja, ki se prenašajo preko floema. Kalcij se slabo prenaša po floemu. Prenos kalcija v starejše dele rastline je tudi zelo slab (Muršec in sod., 2004).

Floemski tok vsebuje malo kalcija, zato se v plodovih pogosto pojavi pomanjkanje (fiziološke motnje). Potrebni kalcij dodajamo z foliarnim škropljenjem (Štampar in sod., 2009).



Slika 3: Shematični prikaz floemskega in ksilemskega toka po rastlini v zgodnjih stopnjah razvoja ploda. Plod se v tem času prehranjuje v največji meri preko ksilema, pozneje pa preko floema (Štampar in sod., 2009).

### 2.6.1 Vloga kalcija v plodovih jabolk

Kalcij je eden izmed najbolj pomembnih hranil v plodovih jabolk, saj vpliva na samo kakovost (Domagala-Świątkiewicz in Blaszczyk, 2009). V celični steni je 60 % kalcija. Tam se veže na pektinske kisline, proteine in hemicelulozo (Štampar in sod., 2009). Ima pomembno vlogo pri regulaciji metabolizma jabolk in zmanjševanju fizioloških motenj. Kalcij stabilizira celične membrane in zmanjšuje proizvodnjo etilena (Sams in Conway, 1984).

Sprejem kalcija omogoča hormon avksin. Avksin je rastni hormon, ki uravnava proces rasti in rodnosti. Hormon avksin sodeluje tudi pri sintezi etilena in pospešuje odpadanje listov (Štampar in sod., 2009).

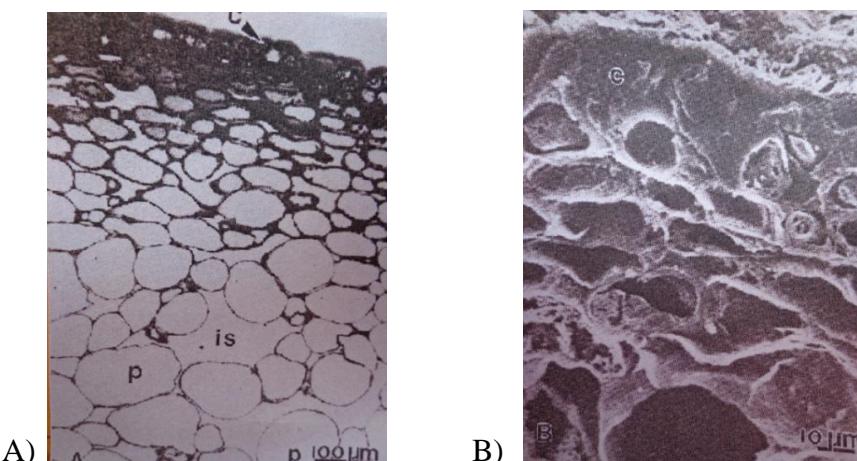
Kalcij vpliva na trdoto plodov (Jazbec in sod., 1995) in z njo povezano sočnostjo ter hrustljavostjo (Domagala-Świątkiewicz in Blaszczyk, 2009). V plodovih se shranjuje predvsem v prvih tednih razvoja, ko prihaja do nastajanja strukture celičnih sten v tkivih plodov. Z rastjo celic plodov se količina kalcija zmanjšuje. V manjših plodovih je kalcija dovolj, v velikih pa ga običajno primanjkuje (Jazbec in sod., 1995).

Večji plodovi so bolj občutljivi na fiziološke motnje ki so povezane s pomanjkanjem kalcija. Uporaba kalcija je tako ključnega pomena za zaviranje mehčanja plodov in s tem podaljšanja roka uporabnosti (Ortiz in sod., 2011b). Zaradi pomanjkanja kalcija se lahko pojavi grenka pegavost, lenticelna pegavost, porjavenje mesa, jonatanova pegavost, steklavost plodov in večja občutljivost na *Gleosporium*. Vzrok so lahko neugodne talne ali vremenske razmere (Muršec in sod., 2004).

Aktivni sprejem kalcija iz tal v plodove poteka v času intenzivne delitve celic (Brence, 2011).

## 2.7 CELIČNA STENA JABOLK

Celična stena rastlin predstavlja glavno strukturno komponento, ki vpliva na mehanske lastnosti rastlin (Cybulska in sod., 2011). Sestavljena je iz polisaharidov (hemiceluloza in pektinske snovi), beljakovin (glikoproteinov), ionov in fenolnih spojin (Chardonnet in sod., 2003). V celični steni se nahaja veliko beljakovin, ki se kasneje v času zorenja ali staranja raztopijo in preuredijo. Prihaja do njihovih združenj in posledično do mehčanja sadja (Ortiz in sod., 2011a). Spremembe se nanašajo na razgradnjo pektina, hemiceluloze, medtem ko je količina celuloze v celični steni konstantna (Cybulska in sod., 2011).



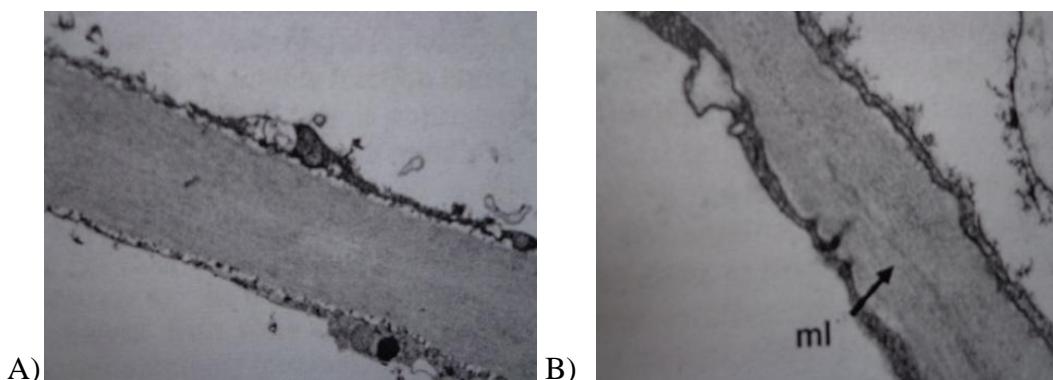
Slika 4 : Zgradba lupine jabolk pod svetlobnim mikroskopom (A) in voskasta povrhnjica lupine jabolk, sestavljena iz več kompaktnih plasti trdnih celičnih sten (B) (Glenn in Poovaiah, 1987).

Legenda: C = povrhnjica, IS = intercelularni prostor, P = parenhimske celice

Celična stena deluje kot zaščitna pregrada za protoplast, vendar mora pustiti mimo snovi, ki prehajajo skozi plazemske membrane (Bourvillec in Renard, 2005).

### 2.7.1 Vpliv kalcija na celično steno

Kalcij vpliva na presnovo celične stene. V samo strukturo celične stene lahko uvedemo kalcij, s čimer okrepimo celično steno in s tem zmanjšamo njeno poroznost (Ortiz in sod., 2011a). Pri tem nastanejo kalcijevi mostički med prostimi karboksilnimi skupinami pektinskih verig (Cybulska in sod., 2011), pri čemer je pomemben encim polimetilesteraza. Ta encim je najbolj izražen v atmosferi z ultra nizko vsebnostjo kisika, kjer prihaja do zelo majhne proizvodnje etilena. Večja količina polimetilesteraz je bila ugotovljena pri sadju z večjo trdoto (Ortiz in sod., 2011b).



Slika 5: Celična stena netretiranih (A) in s kalcijem tretiranih jabolk (B) (Ortiz in sod., 2011a).

#### Vplivi kalcija na celično steno (Ortiz in sod., 2011b):

- neposredno krepi strukturo celične stene in tako ohranja boljšo kelatno topno frakcijo in nastanek mostičkov med polimeri
- povezovanje z delno inhibicijo nekaterih celičnih sten, ki spreminjajo encimsko aktivnost, kar vodi v počasnejše raztopljanje polimerov celičnih sten
- odstrani pektin in s tem nadzor do poroznosti celične stene. Raztopljeni pektin lahko povzroči cepitev povezav na druge sestavine celične stene.

Prepustnost celične stene za vnos kalcija se poveča med razvojem plodov (Harker in Ferguson, 1988).

## 2.8 POVEČANJE KONCENTRACIJE KALCIJA V JABOLKIH

Vsebnost kalcija v celični steni lahko povečamo z več tehnikami. Sem prištevamo (Chardonnet, 2003):

- topotno obdelavo,
- potapljanje v raztopino  $\text{CaCl}_2$ ,
- vakuumsko infiltracijo,
- površinska prevleka z agensi,
- infiltracija s tlakom,
- foliarne gnojenje ali gnojenje preko listov,
- kombinacija teh tehnik.

V nadaljevanju navajamo najpogosteje tehnike za povečevanje vsebnosti kalcija v plodovih jabolk.

### 2.8.1 Potapljanje v raztopino CaCl<sub>2</sub>

Jabolka prepojena z raztopino CaCl<sub>2</sub> kažejo povečano vsebnosti skupnega in v celično steno vezanega kalcija. Prav tako imajo jabolka višjo vsebnost saharoze.

Celična stena s CaCl<sub>2</sub> tretiranih jabolk ima za 10 % povečan volumen, medtem ko se pri netretiranih plodovih volumen med skladiščenjem zmanjša. Tretirana jabolka imajo po 6 mesecih 3-krat večjo vrednost vezanega kalcija, v primerjavi s tistimi, ki so shranjeni samo dva tedna. Netretirana jabolka s CaCl<sub>2</sub>, kažejo hitrejšo razgradnjo saharoze in s tem povečano količine fruktoze in glukoze med skladiščenjem (Chardonnet, 2003).

### 2.8.2 Foliarno gnojenje ali gnojenje preko listov

Foliarno gnojenje oz. gnojenje preko listov predstavlja zgolj dopolnilo v razmerah, ki ne omogočajo optimalnega pretoka hranil iz tal. To mora temeljiti na letni dinamiki potreb jablane po posameznih hranilih in v odvisnosti od možnosti dostopa do teh hranil iz tal. Mladi listi so najprimernejši za sprejemanje hranil. Sposobni so sprejemati določene količine rudninskih snovi, kot so dušik (N), fosfor (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), kalij (K<sub>2</sub>O), magnezij (Mg O), bor (B) in druge.

Koliko hranilnih snovi lahko rastlina sprejme skozi liste je moč ugotoviti z izotopi (Jazbec in sod., 1995). Od kalcijevih pripravkov se najbolj uporablja kalcijev klorid. Uporaba bakrovega in kalcijevega hidroksida v preparatu znatno izboljša trdnost sadja, čvrstost mesa, debelino celične stene in samo kislost, kar pa ne vpliva na količino topnih snovi v sadju (Brown in sod., 1996).

Z razprševanjem kalcijevih pripravkov na jabolka pred obiranjem vzdržujemo trdnost in zmanjšujemo fiziološke bolezni (Sinha, 2007). Med drugim je bilo ugotovljeno, da uporaba kalcija pri škropljenju zmanjša pogostost pokanja lupine sadja ob dežju, ne more pa je popolnoma preprečiti. Kolikokrat škopimo s kalcijevimi listnimi gnojili je odvisno od občutljivosti sort, starosti nasada in pridelka. Pričnemo z najobčutljivejšimi sortami (Brown in sod., 1996).

Foliarno gnojenje uporabljamo (Jazbec in sod., 1995):

- Pri pomanjkanju mikroelementov
- Po ujmah (vihar, toča), ko je drevje mehanično poškodovano. Takrat je zelo pomembno hitro dodajanje hranil neposredno na poškodovane rastlinske dele.
- V sušnem obdobju, ko je sprejemanje hranil preko korenin omejeno zaradi pomanjkanja vode v tleh

- Če raste sadno drevo na težkih tleh, ki jih nismo založno pognojili s fosforjevimi in kalijevimi gnojili. Sadno drevje ima korenine v globljih plasteh, zato pridejo korenine le težko do zadostnih količin fosforjevih gnojil. V tem primeru lahko dodatno gnojimo z 0,3 % raztopino superfosfata.
- Če pride do pomanjkanja K uporabimo 0,7 % raztopino kalijevega klorida ali kalijevega sulfata. Pri pomanjkanju dušika uporabljam 0,6-1 % koncentracijo sečnine, ki je lahko topna ter s tem primerna za gnojenje skozi liste.

Dovzetnost za kalcij se spreminja glede na letni čas. Največja dovzetnost za sprejem kalcija preko listov je poleti (Jazbec in sod., 1995).

### 2.8.3 Premaz z aditivom karboksimetilcelulaze (CMC)

V sadjarstvu veliko uporabljamo premaze. Pri tem uporabljamo aditiv karboksimetilcelulazo (CMC). Ta aditiv je eter celuloze natrijeve soli karboksilmelit. Aditiv (CMC) nam omogoča zadrževanje vlage (Blanco in sod., 2010). S pomočjo aditiva (CMC) podaljšamo trajnost, saj le-ta poveča vsebnost CO<sub>2</sub> in zmanjša vsebnost O<sub>2</sub> v lupini jabolka. Podobno kot pri shranjevanju v kontrolirani atmosferi.

Z uporabo premazov vplivamo na okus jabolk, reguliramo metabolizem in zmanjšujemo izhlapevanje vode na površini jabolk (Sinha, 2007). Poleg tega uporabljamo še druge organske molekule. Sem uvrščamo soli kalcijevih propanoatov, ki predstavljajo dober vir kalcija in imajo protigliivične lastnosti. Ta sol je preizkušen fungicid in se uporablja pri breskvah za zatiranje raka in rjave gnilobe.

Raziskave so pokazale, da dodatek CMC znatno podaljša življensko dobo plodov. CMC omogoča boljše oprijemanje in vezavo vode in s tem poveča samo homeostazo in zadrževanje vode tudi v listih (Blanco in sod., 2010).

## 2.9 SKLADIŠČENJE JABOLK

Že na začetku tega stoletja so ljudje ugotovili, da lahko s spremenjeno atmosfero dalj časa hranijo svežost sadja in zelenjave.

Pri tem zmanjšamo intenzivnost dihanja, oksidativne poškodbe tkiva, stopnjo razbarvanja klorofila, zmanjšanje občutljivosti sinteze etilena in občutljivost na etilen.

Pri skladiščenju se pojavljajo negativne lastnosti kot so: pojav neprijetnega okusa, zmanjšanje biosinteze aromatskih spojin, pojav poškodb tkiva in spremembe v razvoju mikrobov. Da bi se izognili nezaželenim posledicam, ki se lahko pojavijo med skladiščenjem, danes pri skladiščenju uporabljamo spremenjeno atmosfero. V

atmosferi uvedemo povišano koncentracijo CO<sub>2</sub> in znižano koncentracijo O<sub>2</sub> (Beaudry, 1999).

### **2.9.1 Skladiščenje v normalni atmosferi (NA)**

V hladilnicah z normalno atmosfero (NA) uravnavamo temperaturo, relativno vlažnost in kroženje zraka. Za vsako sorto je potrebno določiti optimalno temperaturo skladiščenja (Grozdenović, 1989).

Z znižanjem temperature so upočasnjeni metabolni procesi v plodu. Zaradi tega plod dozori kasneje (Hulme, 1970). Poleg temperature je zelo pomembna tudi vlažnost zraka. Optimalna vlažnost se giblje med 75 in 95 % in je odvisna od sorte jabolk (Fidler in sod., 1973).

S kroženjem zraka okoli plodov dosežemo znižanje tlaka vodne pare, pri tem pa pride do povečane transpiracije, oziroma izgube vode. Transpiracija je tem večja, čim hitreje kroži zrak v celici. Kroženje zraka mora potekati pri nižji temperaturi počasneje, ali pa trajati krajsi čas. Za dolgotrajno shranjevanje jabolk je zelo pomembno, da se temperatura ob vnosu jabolk oz. sadja čim hitreje zniža. Jabolka shranjena pri 20 °C izgubljajo začetno kakovost 7 do 10-krat hitreje od tistih, ki so shranjena pri 0 °C.

V hladilnicah z normalno atmosfero (NA) se regulira odvajanje etilena samo s stalnim dovajanjem svežega zraka v ustreznih količinah (Gvozdenović, 1989).

Shranjevanje pri nizkih temperaturah je pogosto uporabljen način, ki se pogosto uporablja za upočasnitev zorenja, ki nam omogoča prevoz sadja na daljše razdalje (Ortiz in sod., 2011a).

### **2.9.2 Skladiščenje v kontrolirani atmosferi (CA)**

Kontrolirana atmosfera (CA) zahteva neprodušno zaprt prostor, v katerem so shranjena jabolka.

V primeru, ko so temperatura, relativna vlažnost, kisik in ogljikov dioksid v atmosferi optimalno regulirani, so biološki procesi najbolj upočasnjeni. Pri tem ne prihaja do neželenih sprememb. Takšni plodovi se počasneje starajo v primerjavi s tistimi v hladilnicah, pri kateri samo uravnavamo temperaturo in relativno vlažnost (Suwa Stanojević, 1999).

V kontrolirani atmosferi je vsebnost kisika zmanjšana z 21 na 1-3 % in povečana vsebnost ogljikovega dioksida z 0,25 na 1-3 %. Relativno vlažnost v CA pred shranjevanjem vzdržujemo na 92 do 95 % (Sinha, 2007).

Kisik in ogljikov dioksid sta biološko aktivni molekuli. Aktivnost dihanja se zmanjša, če zmanjšamo koncentracijo kisika in povišamo koncentracijo ogljikovega dioksida (Beaudry, 1999).

Pri jabolkih skladiščenih v kontrolirani atmosferi je izguba teže manjša, ker sta transpiracija in dihanje upočasnjena (Suwa Stanojević, 1999).

Skladiščenje v kontrolirani atmosferi lahko močno zavira sintezo hlapnih aromatskih komponent kar vodi v premalo izražen okus. To je največja pomanjkljivost skladiščenja v kontrolirani atmosferi (Ortiz in sod., 2011a). Ortiz s sod. (2010) ni opazil bistvenih razlik v sintezi skupnih estrov pri plodovih jabolk tretiranih in netretiranih s kalcijem.

Pri dolgotrajnem skladiščenju sadja v kontrolirani atmosferi se zelo dobro ohranijo trdota, kislost in barva v primerjavi s skladiščenjem v normalni atmosferi (Echeverría in sod., 2008). Želeno vsebnost ogljikovega dioksida v kontrolirani atmosferi lahko dosežemo z naravnim dihanjem jabolk.

Sadje je za poškodbe z ogljikovim dioksidom dovzetnejše v začetku skladiščenja v kontrolirani atmosferi in če je sadje pozneje obrano. Tej pomanjkljivosti se izognemo tako, da vzdržujemo nizek parcialni tlak ogljikovega dioksida v kontrolirani atmosferi (Fawbush in sod., 2008).

Jabolka, ki so pred skladiščenjem v kontrolirani atmosferi izpostavljena za nekaj časa (2-3 tedne) atmosferi z 10-15 % ogljikovega dioksida imajo po skladiščenju boljši okus in teksturo v primerjavo s tistimi jabolki, ki niso izpostavljena ogljikovemu dioksidu pred skladiščenjem (Ortiz in sod., 2011a).

### **2.9.3 Shranjevanje jabolk v atmosferi z ultra nizko vsebnostjo kisika (ULO)**

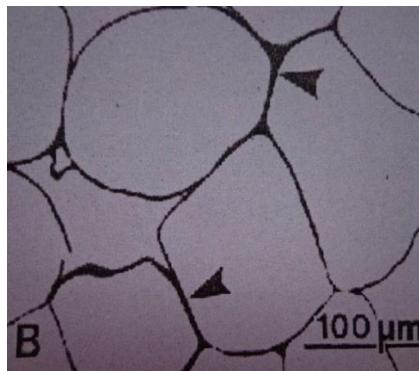
Vsebnost kisika v atmosferi se vzdržuje na meji bioloških možnosti dihanja plodov, torej nad vrednostjo, pod katero bi se začelo anaerobno dihanje. Pri tem nastanejo anaerobni metaboliti kot je npr. acetaldehid. Vsebnost kisika se giblje od 1 do 1,5 % in je odvisno od sorte in vrste sadja (Gvozdenović, 1986).

Jabolka shranjena v ULO, ohranijo največjo trdnost po koncu shranjevanja (Ortiz in sod., 2010). Nizka koncentracija kisika v kontrolirani atmosferi povzroča poškodbe na površini in notranjosti sadja. Prihaja do porjavenja v notranjosti in ali na površini. Kopičenje  $\alpha$ -farnezena povzroča oksidacijo pri sadju in nastanek porjavenja (Sabban-Amin in sod., 2011).

## 2.10 VPLIV KALCIJA NA SKLADIŠČENJE

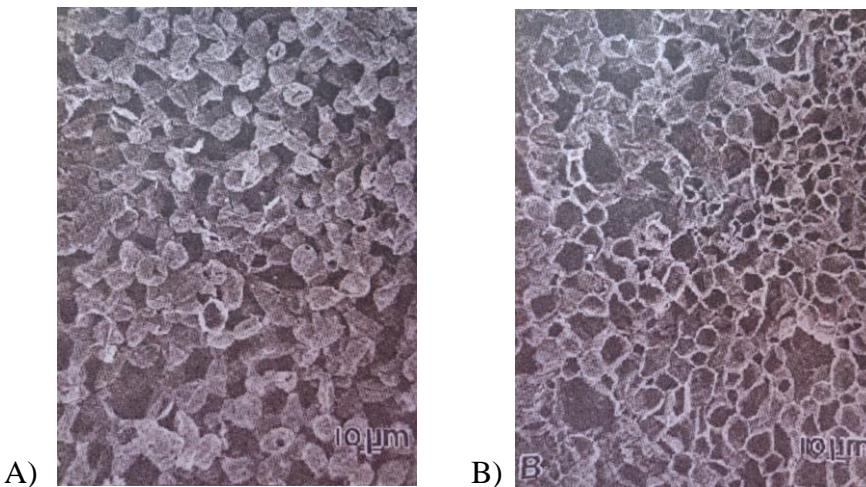
### 2.10.1 Skladiščenje v normalni atmosferi

Jabolka tretirana s kalcijem imajo po skladiščenju boljšo aromo kot netretirana jabolka. S tem se tudi poveča vsebnost skupnih kislin po dolgotrajnem skladiščenju, bolje pa se ohrani tudi barva (Ortiz in sod., 2011a).



Slika 6: Celice jabolk tretiranih s kalcijem po sedmih mesecih shranjevanja (Glenn in Poovaiah, 1987).

Jabolka tretirana s kalcijem imajo višjo vsebnost nekaterih komponent arome kot so: etanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-metil-1-butanol in 1-heksanol v primerjavi s tistimi, ki so skladiščeni v kontrolirani atmosferi (Ortiz in sod., 2010).



Slika 7: Mikrostruktura tkiva jabolk, tretiranega (A) in netretiranega s kalcijem (B) po sedmih mesecih shranjevanja (Glenn in Poovaiah, 1987). B - tkivo je togo in močno povezano med sabo.

Etilen stimulira aktivnost encima fenilalanin liaze, ki je ključni za biosintezo fenolnih spojin in vpliva na kopiranje fenolnih sestavin (Leja in sod., 2003).

### 2.10.2 Skladiščenje v kontrolirani atmosferi (CA)

V kontrolirani atmosferi je proizvodnja estrov na splošno zavirana. To je odločilni dejavnik, ki vpliva na kakovosten okus jabolk. Lahko prihaja tudi do pretiranega zaviranja sinteze hlapnih spojin, predvsem estrov, kar je glavna pomanjkljivost te metode.

Kalcij naj bi dokazano spremenil notranjo atmosfero sadja zaradi zmanjšanja difuzije kisika ter počasnejšega izhajanja CO<sub>2</sub>. Pri tem zavira delovanje encimov, ki razgrajejo celično steno. Upočasnijo se procesi zorenja (Ortiz in sod., 2010).

### 2.10.3 Skladiščenje v atmosferi z zelo nizko vsebnostjo kisika (ULO)

Skladiščenje pri nizki koncentraciji kisika je najboljši način shranjevanja jabolk, saj pri tem prihaja do zmanjšane topnosti snovi v celični steni (Ortiz in sod., 2011a).

## 2.11 VPLIV KALCIJA NA SINTEZO HLAPNIH SPOJIN

Estri so največja skupina hlapnih spojin, ki jih proizvaja sadje. Esterifikacija alkoholov in karboksilnih kislin je najbolj aktivna v povrhnjici.

Pri tretiranju jabolk s kalcijem se poveča proizvodnja nekaterih hlapnih spojin. Aromo sadja sestavlja veliko število hlapnih spojin, katere prispevajo k celotni senzorični kakovosti sadja glede na sorto (Ortiz in sod., 2011b).

Jabolka vsebujejo preko 300 hlapnih spojin vendar je za aroma jabolk le pomembnih od 20 do 40 hlapnih spojin. Te spojine vključujejo alkohole, aldehyde, karboksilne estre, ketone in etre (Dixon in Hewett, 2000). Profil arome se spreminja med zorenjem od aldehydov (zelene note) do estrov (sadne note).

Trije glavni estri v jabolkih so butil acetat, 2-metilbutil acetat in heksil acetat. Ti prispevajo k značilni jabolčni aromi in okusa pri večini sort. Sinteza hlapnih spojin je večja v tkivu lupine, kot v mesu plodov (Guadagani in sod., 1971; Fellman in sod., 1995).

Dodatek kalcija ima neposreden učinek na celovito srednjo lamelo.

Značilnosti arome in okusa jabolk se razvijejo v času zorenja. Fiziološko nezrela in prezrela jabolka proizvajajo zelo malo aromatskih spojin.

Proizvodnja hlapnih komponent je odvisna predvsem od prisotne količine etilena, ki je v času zorenja prisoten. Povečana proizvodnja etilena in intenzivnost dihanja sta nujno potrebna za večjo sintezo hlapnih komponent (Ortiz in sod., 2011b).

### 2.11.1 Vpliv kalcija na zorenje

Zorenje je zapleten proces fizikalnih in biokemičnih sprememb, kjer ima zelo pomembno vlogo etilen. Pri zorenju pride do izgube zelene barve, tkivo se začne mehčati in prične se razvoj značilne arome in okusa (Dixon in Hewett, 2000). Zorenje je povezano z razgradnjo osnovne in srednje celične stene, ki je sestavljena iz togih mikrofibrilov celuloze, ki je ujeta v mrežo hemiceluloze in pektinov z različnimi strukturnimi proteini in fenoli.

Pomemben dejavnik zorenja je metilacija pektina. Z demetilacijo pektina lahko upočasnimo izgubo čvrstosti. V samo mrežo celične stene lahko uvedemo sam kalcij s čimer okreplimo celično steno in s tem zmanjšano njeno poroznost. Uporaba kalcija je ključnega pomena za zaviranje mehčanja in s tem podaljšanja roka uporabnosti sadja (Ortiz in sod., 2011b).

### 2.11.2 Vpliv kalcija na mehčanje

Sadje se med zorenjem mehča. Kako hitro pride do mehčanja je odvisno od vrste, sorte in načina skladiščenja (Murayama in sod., 2002).

Glavni razlog za mehčanje jabolk je sprememba v strukturi in sestavi celične stene. Najpomembnejšo vlogo imata encima poligalakturonaza (PG) in pektin metil estereza (PME), ki delujeta na pektin celične stene. Encimi poligalakturonaze razgradijo pektin, pri tem pride do izgube nevtralnih sladkorjev, še posebej galaktoze in arabinoze (Wel in sod., 2010).

## 2.12 ANTIOKSIDANTI

Antioksidanti so spojine, ki preprečujejo oksidacijo snovi s tem, da reagirajo s prostimi radikali. Pri tem prihaja do odstranitve oksidativno poškodovanih molekul (Boyer, 2005).

Veliko antioksidantov vsebujejo polifenolne spojine, v manjši meri tudi vitamini A,C in E. Antioksidanti ponujajo zaščito pred škodljivim vplivom prostih radikalov, ki povzročajo oksidativne spremembe na lipidih, proteinih in nukleinskih kislinah (Vidrih in Kač, 2000).

Različne oblike antioksidantov imajo lahko zelo različno antioksidativno aktivnost. V večini primerov industrijsko predelanih živil in tudi med domačo pripravo obrokov prihaja do bistvenega zmanjšanja vsebnosti in aktivnosti naravnih antioksidantov. Pri topotni obdelavi sadja in zelenjave prihaja do dodatnih izgub antioksidantov (Hribar in Simčič, 2000).

### 2.12.1 Antioksidativni potencial (AOP)

Antioksidativni potencial je posledica vsebnosti polifenolov, flavonoidov (antocianov, flavononov, flavonov, izoflavonov, izokatehina in katehina) in v manjši meri vitaminov (Vidrih in Kač, 2000). Med vitaminimi je najmanj stabilen vitamin C, ki se zelo hitro pretvarja v oksidirano obliko dehidroaskorbinska kislina (Wechtersbach, 2005).

### 2.12.2 Antioksidanti v rastlinah

Prosti antioksidanti v rastlini sproti nevtralizirajo proste radikale, ki nastajajo pod vplivom sončnih žarkov. Najbolj nevarne ultravijolične žarke rastlina že zaustavi v zunanjih tkivih s pomočjo sekundarnih metabolitov (zlasti flavonoidi in drugi polifenoli). Ultravijolični žarki sami sprožijo sintezo antioksidativnih zaščitnih snovi.

Sekundarni metaboliti v večjih koncentracijah lahko ščitijo rastline pred napadi virusov, bakterij, gliv in rastlinojedih živali. Ob okužbi ali mehanski poškodbi rastline se izgradnja metabolitov (fenolov) v rastlini zelo pospeši. V rastlinah se antioksidanti ne kopijo v večjih količinah, saj lahko poškodujejo lastno tkivo rastlin (Kreft in sod., 2000).

V rastlinah fenolne spojine povzročajo pigmentacijo cvetov in plodov, prispevajo k okusu, aromi plodov in predstavljamjo obrambo pred škodljivci in patogenimi mikroorganizmi (Lister in sod., 1996).

## 2.13 FENOLNE SPOJINE

Fenolne spojine definiramo kot spojine, ki imajo na aromatski obroč vezano hidroksilno (-OH) funkcionalno spojino in so kemijsko zelo raznolika skupina. Vsebujejo preko 10.000 različnih spojin, ki izvirajo iz različnih presnovnih poti (Taiz in Zeiger, 2006).

Najpogosteje nastanejo iz aromatske aminokisline fenilalanina ali njegovega prekurzorja šikimske kislina (Abram in Simčič, 1997).

Fenolne spojine so neenakomerno porazdeljena v jabolku. (Hagen in sod., 2007). Sorta jabolk ima pomembno vlogo v sintezi polifenolov in bistveno vpliva na skupno vsebnost fenolov, flavonolov, antocianinov in antioksidativno aktivnost jabolk (Vieira in sod., 2011).

Fenolne spojine med drugim prispevajo tudi k antioksidativnemu potencialu sadja, ki pomagajo nevtralizirati prekomerno koncentracije prostih radikalov v človeškem telesu (Chinnici in sod., 2004).

Vsebnost fenolnih spojin je odvisna od vrste rastline, kultivarja (pri sadju), deloma od rastišča, podnebnih razmer (temperatura, svetloba, količina padavin), načina predelave in agrotehniških dejavnikov (Häkkinen in sod., 1999).

### **2.13.1 Funkcija fenolnih spojin**

Fenolne spojine vplivajo na odpornost rastlin proti mehanskemu stresu, ki so posledica prisotnosti insektov, infekcij z glivami, bakterijami in virusi ter mehanskimi poškodbami (Abram in Simčič, 1997).

Fenolne spojine so antioksidanti, inhibitorji encimov, pospeševalci ali zaviralci rasti, rastni regulatorji itd. Velik del vseh polifenolnih antioksidantov v jabolku predstavljajo proantocianidini, od katerih se 600-900 mg/kg nahaja v mesu in 1900-3400 mg/kg se jih nahaja v lupin (Vrhovšek, 2001).

Antioksidativna učinkovitost fenolnih kislin je odvisna od števila in mesta hidroksilne skupine glede na karboksilno funkcionalno skupino. Naraščajočo s stopnjo hidroksilacije. Tak primer je galna kislina s tremi –OH skupinami, ki je zelo učinkovit antioksidant (Rice-Evams in sod., 1996).

### **2.13.2 Fenolne spojine v jabolkih**

Jabolka so bogata s fenolnimi spojinami. Jabolka se razlikujejo med seboj po koncentraciji fenolnih komponent.

Fenolne spojine imajo antioksidativne lastnosti. Jabolka se razlikujejo med seboj po koncentraciji fenolnih komponent. Flavonoli so bolj zastopani v mesu kot pa v lupini jabolka (Sinha, 2007). Antocianini in kvercetin glukozidi se najbolj povečajo po obsevanju, ki ga izvajamo po zorenju. Pri tem je zelo pomembna tudi temperatura, saj se jih pri višji ( $20^{\circ}\text{C}$ ) tvori več kot pri nižji (npr.  $10^{\circ}\text{C}$ ) temperaturi.

Količina kvercetin glukozidov je v lupini jabolk različna in je odvisno od same sorte jabolk (Hagen in sod., 2007).

Preglednica 1: Povprečna koncentracija ( $\mu\text{g/g}$  sveže mase) fenolnih komponent v lupini in mesu jabolk<sup>a</sup> (Sinha, 2007:782)

Komponente	Lupina ( $\mu\text{g/g}$ sveže mase)	Meso ( $\mu\text{g/g}$ sveže mase)
Skupni hidroksicimetove <sup>b</sup>	148, 5	193, 0
Skupni procianidini <sup>c</sup>	958, 2	267, 7
Skupni flavonoli <sup>d</sup>	288, 2	1, 3
Skupni dihidrohalkoni <sup>e</sup>	123, 7	19, 3
Skupni polifenoli (HPLC) <sup>f</sup>	1604, 4	481, 3
Skupni fenoli (F-C) <sup>g</sup>	1323, 6	429, 6

<sup>a</sup> na osnovi osmih sort jabolk; <sup>b</sup> klorogenska in p-kumarna kislina; <sup>c</sup> katehini, epikatehini in drugi procianidini;

<sup>d</sup> kvercetin-3-galaktozid, glukozidi, ksilozidi, arabinozidi, ramnozidi;

<sup>e</sup> floridzin in floretin; <sup>f</sup> merjeno s HPLC; <sup>g</sup> merjeno po F-C metodi

Kvercetin, glikozidi, epikatehini in procianidini so glavni polifenoli v lupini jabolk (Simčič in sod., 2001).

## 2.14 BARVILA V LUPINI JABOLK

Barva lupine jabolk je pomemben pokazatelj prehranske vrednosti jabolk (Hagen in sod., 2007). Barvila se nahajajo v celicah epidermisa in hipodermisa.

Začetna barva vsakega jabolka je zelena in ima pomembno vlogo pri dihanju. Zeleno barvilo v jabolkih se imenuje klorofil. Klorofil je zeleno barvilo, ki se nahaja v kloroplastih. Ta aktivno sodeluje v fotosintezi kot kontaktni katalizator.

Osnovna zelena barva lupine jabolk izhaja iz pigmentov klorofila, od tega je največ klorofila a ( $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ ) in b ( $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ ), ki sta v razmerju 3:1 (Hribar, 1989).

Z dozorevanjem jabolka prehaja zelena barva v rumeno in rdečo. Rumena barva je posledica razgradnje klorofila a.

Karotenoide prištevamo med najbolj razširjene rastlinske pigmente. Nahajajo se v membranah kloroplastov. Prisotni so tudi v vseh zelenih tkivih, v stromi kloroplastov in potem prehajajo v rumeno, oranžno in rdeče obarvana tkiva.

Karotenoidi sodelujejo pri preprečevanju tvorb škodljivih vrst kisika, ki nastanejo v kloroplastih zaradi delovanja različnih stresorjev (Šircelj, 2008), prištevamo jih med močne antioksidante (Merzlyak in sod., 2003).

Rdeče barvo jabolku dajejo antociani, ki so raztopljeni v celični steni. Delujejo tudi zaščitno proti škodljivim UV spektru in pretiranemu sončnemu obsevanju (Merzlyak in sod., 2003).

Odtenek rdeče barve je odvisen od koncentracije antocianinov v kožici jabolka, vendar je barva kožice jabolk odvisna tudi od koncentracije pigmentov kot so flavonoli, klorofil in karotenoidi (Lancaster, 1992). Na vsebnost antocianov vplivajo med drugim tudi okoljski dejavniki, kot so temperatura in svetloba oz. senčenje.

Delež karotenoidov in klorofilov odraža fiziološke spremembe, ki se pojavljajo v sadju med razvojem. Glavni klorofili in karotenoidi se nahajajo v lupini jabolk. Ti sodelujejo tudi pri fotosintezi (Awad in sod., 2001).

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 MATERIALI

##### 3.1.1 Jabolka

V okviru eksperimentalnega dela smo uporabili tri sorte jabolk in sicer 'Aroma', 'Elstar' in 'Discovery'. Vse tri sorte jabolk so bile konvencionalne pridelane. Poleg običajnega gnojenja so bile jablane dodatno foliarno gnojene z dušikom, kalcijem ali kombinacijo obeh. Odmerek dušika, kalcija ozziroma kombinacijo obeh je znašal 3 kg ozziroma 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  $\text{CaCl}_2$  ter kombinacijo kalcija in dušika (18 kg N + 15 kg  $\text{CaCl}_2$ ).

##### 3.1.2 Reagenti

Pri delu smo uporabili analitsko čiste reagente podjetij Merck, Europa Scientific in Sigma. Kemikalije, ki smo jih uporabljali pri posameznih eksperimentih, so navedene v opisu pri posameznih eksperimentalnih metodah.

#### 3.2 METODE DELA

##### 3.2.1 Določanje antioksidativnega potenciala z metodo DPPH<sup>•</sup>

###### OPIS METODE:

Metodo s prostim radikalom DPPH<sup>•</sup> uvršamo med najstarejše metode za določanje antioksidativnega potenciala (Brand-Williams in sod., 1995).

Temelji na reakciji med radikalom DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) in donorji vodika (Molyneux, 2004). DPPH<sup>•</sup> ima velik molarni absorpcijski koeficient v vidnem delu spektra z maksimalno vrednostjo pri 517 nm. To nam omogoča, da lahko merimo koncentracijo radikala DPPH<sup>•</sup> spektrofotometrično (Roginsky in Lissi, 2005).

Pri spektrofotometrični metodi spremljamo alkoholno raztopino DPPH<sup>•</sup>, ki reagira z antioksidantom. Pri tem se tvori reducirana oblika  $\text{DPPH}_2$ . Opažena je sprememba barve iz vijolične v rumeno. Koncentracijo DPPH<sup>•</sup> izberemo v območju med 50 in 100  $\mu\text{M}$ , na takšen način, da so vrednosti absorbance referenčnih vrednosti manjše od 1.

Absorbenco merimo pri valovni dolžini 517 nm, reakcijski čas naj bi bil okoli 30 minut (Molyneux, 2004).

Rezultate lahko podajamo z izračunom razmerja med številom molov DPPH<sup>•</sup>, ki zreagira s številom molov določenega antioksidanta. Zaradi kompleksnosti v praksi in nepoznavanja dejanske sestave in molarnosti antioksidantov, se podaja antioksidativna učinkovitost vzorca kot razmerje med številom molov DPPH<sup>•</sup>, ki reagirajo z antioksidanti v 1g suhe snovi (Molyneux, 2004).

**REAGENTI:**

- DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)(Sigma, Nemčija)
- Metanol (Merck, Nemčija)

**APARATURA IN PRIBOR:**

- Analitska tehnica
- Avtomatska pipeta
- Centrifuga
- Deionizirana voda
- Ependorfke
- Plastične kivete (10 mm)
- UV-VIS spektrofotometer

**IZVEDBA ANALIZE:**

- pripravimo referenčni vzorec (RF): v ependorfki zmešamo 60 µl metanola in 1,5 ml raztopine DPPH<sup>•</sup>. Posamezni vzorec pripravimo v treh paralelkah in sicer tako, da v ependorfki zmešamo 60 µl (ekstrakt jabolk v metafosforni kislini) in 1,5 ml raztopine DPPH<sup>•</sup>. Pripraviti moramo tudi slepo probo (SP) za vsak vzorec posebej, tako da v ependorfki zmešamo 60 µl vzorca in 1,5 ml metanola.
- vzorce jabolčne brozge centrifugiramo (4000 obratov/10 min) in nato supernatant prelijemo v ependorfke
- DPPH<sup>•</sup> pripravimo vsakič svež: v 100 ml bučko zatehtamo 4 mg DPPH<sup>•</sup> v 20 ml metanola ter premešamo, da se popolnoma raztopi. Metanol dodajamo toliko časa, da je absorbanca raztopine okrog 1.
- Vse vzorce dobro premešamo in prelijemo v kivete ter izmerimo absorbanco pri 517 nm.

**IZRAČUN:**

$$\Delta A = A_{RF} - A_{VZ} + A_{SP} \quad \dots\dots(1)$$

$$N(\text{mol}) = \Delta A / \epsilon \cdot (V_{\text{reakcijske zmesi}} \cdot l) \quad \dots\dots(2)$$

$$c(\mu\text{mol DPPH/l}) = n / V_{\text{reakcijske zmesi}} \quad \dots\dots(3)$$

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

$$\epsilon = 12000 l \cdot \text{cm/mol}$$

$$V_{\text{reakcijske zmesi}} = 1,56 \text{ ml} = 0,00156 \text{ l}$$

Vrednost DPPH<sup>•</sup> v vzorcu lahko enostavno izračunamo iz Beer-Lambertovega zakona:

$$\Delta A = \epsilon \cdot \Delta c \cdot l \quad \dots\dots(4)$$

$$n_{\text{DPPH2}} = c \cdot V_{\text{reakcijske zmesi}} \quad \dots\dots(5)$$

$\Delta A$  predstavlja razliko absorbance med referenčno raztopino, kateri je dodan samo DPPH<sup>•</sup> in raztopino, kjer je poleg DPPH<sup>•</sup> prisoten še antioksidant,  $\epsilon$  je molarni absorpcijski koeficient DPPH<sup>•</sup> pri 517 nm, c je koncentracija nastalega DPPH<sub>2</sub> in l je dolžina poti svetlobe skozi vzorec.

Vrednost  $\epsilon$  v metanolu ali v etanolu pri 517 nm je v literaturi navedena med 11600 in 12500 l/mol·cm (Molyneux, 2004).

Pri našem izračunu je bila ta vrednost 12000 l/mol·cm.

### 3.2.2 Določanje fenolnih spojin v vzorcih s spektrofotometrično metodo

#### OPIS METODE:

Fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo vidnega spektra in UV spektra. Zato lahko odčitamo vrednost absorbance pri ustreznih valovnih dolžinah. Pri tem jo uporabimo za oceno koncentracije skupnih fenolov.

Za določanje koncentracije skupnih fenolnih snovi dodajamo vzorcu Folin-Ciocalteujev reagent, ki v alkalni raztopini (dodatek natrijevega karbonata) oksidira fenolne snovi. Reagent Folin-Ciocalteu (F.C.) je vodna raztopina natrijevega volframata (VI), natrijevega molibdata (VI) in litijevega sulfata(VI); slednji prepreči obarvanje 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 volframat (VI) in/ali molibdat (VI), je modro obarvana, medtem ko je raztopina nereduirane oblike rumene barve. Absorbenco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm.

Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin odčitamo iz umeritvene krivulje in rezultat izrazimo kot mg galne kisline/l (galno kislino uporabimo kot standardno referenčno spojino za določanje skupnih fenolnih spojin)(Kač in Košmerl, 2004).

#### REAGENTI:

- Folin-Ciocalteujev reagent (F.C.), komercialni reagent: tik pred uporabo ga razredčimo po navodilih proizvajalca (uporabimo smo Merckov reagent, ki smo ga redčili z deionizirano vodo v razmerju 1 : 2);
- osnovna raztopina galne kisline: v 100 ml merilno bučko natehtamo 500 mg galne kisline, dodamo 10 ml absolutnega etanola, raztopimo in razredčimo do oznake z deionizirano vodo;
- 20 % raztopina natrijevega karbonata ( $Na_2CO_3$ );
- deionizirana voda

**APARATURA IN PRIBOR:**

- Kivete (10 nm)
- Merilne bučke (100 ml)
- Polnilne pipete (1 ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml, 10 ml)
- Puhalka z deionizirano vodo
- UV-VIS spektrofotometer

**IZVEDBA ANALIZE****a) Priprava umeritvene krivulje**

Iz osnovne raztopine galne kisline pripravimo z ustreznim razredčenjem različne koncentracije standardnih raztopin galne kisline; v 100 ml merilno bučko odpipetiramo od 0 do 5 ml osnovne raztopine galne kisline, dopolnimo do oznake z deionizirano vodo ter premešamo.

Iz vsake merilne bučke odpipetiramo po 1 ml standardne raztopine v 100 ml merilno bučko, dodamo približno 60 ml deionizirane vode, raztopino premešamo in dodamo 5 ml razredčene F.C. reagenta. Raztopino ponovno dobro premešamo in po 30 sekundah (najkasneje po 8 minutah) dodamo 15 ml 20 % raztopine natrijevega karbonata.

Premešamo in dopolnimo z deionizirano vodo do oznake. Raztopino pustimo stati točno 2 uri pri temperaturi 20 °C. Po tem času vsebino merilne bučke še enkrat premešamo, prenesemo v 10 nm kiveto in izmerimo absorbanco proti slepemu vzorcu pri valovni dolžini 765 nm.

Narišemo umeritveno krivuljo: odvisnost absorbance od masne koncentracije galne kisline (mg/l) in izračunamo enačbo premice. Beer-Lambertov zakon za to metodo veljaza koncentracijsko območje 3-150 mg galne kisline/l.

**b) Določanje fenolnih spojin v vzorcu jabolčnega soka glede na umeritveno krivuljo**

V 50 ml bučko odpipetiramo 0,5 ml vzorca. Vzorcu dodamo približno 30 ml deionizirane vode, raztopino premešamo in dodamo 2,5 ml razredčenega F. C. reagenta.

Raztopino ponovno dobro premešamo in po 30 sekundah (najkasneje po 8 minutah) dodamo 7,5 ml 20 % raztopine natrijevega karbonata. Premešamo in dopolnimo z deionizirano vodo do oznake. Raztopino pustimo stati točno 2 uri pri temperaturi 20 °C. Po tem času vsebino merilne bučke še enkrat premešamo, prenesemo v 10 nm kivete in izmerimo absprbanco proti slepemu vzorcu pri valovni dolžini 765 nm.

Končno koncentracijo skupnih fenolnih spojin v vzorcu (mg galne kisline/l) izračunamo iz umeritvene krivulje (ob upoštevanju razredčitve).

### 3.3 STATISTIČNA OBDELAVA REZULTATOV

#### 3.3.1 Aritmetična sredina

Vrednost numeričnih statističnih spremenljivk variirajo okoli neke srednje vrednosti. Pomembno je ugotoviti, okoli katerega središča se nahajajo vrednosti spremenljivk posameznih enot. S to vrednostjo lahko predstavljajo celotno populacijo ali vzorec. Za srednjo vrednost sta najpomembnejši merili aritmetična sredina, mediana in manj uporaben modus.

Aritmetično sredino ali povprečje dobimo tako, da seštejemo vrednosti spremenljivke vseh enot in vsoto delimo s številom enot.

Aritmetična sredina predstavlja neke vrste težišče podatkov, saj je vsota odklonov posameznih vrednosti spremenljivke od povprečja navzgor enaka vsoti odklonov navzdol. Vsota vseh odklonov od aritmetične sredine je vedno enaka nič.

Aritmetična sredina je osnovna mera za srednjo vrednost. Če zavzame neki statistični znak statističnih enot pojava v vzorcu zaporedoma numerične vrednosti  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$  je aritmetična sredina ( $\bar{x}_n$ ) teh vrednosti (Adamič, 1980):

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = \frac{1}{n} (x_1 + \dots + x_n) \quad \dots \dots (6)$$

#### 3.3.2 Varianca in standardni odklon

Varianca je osnovna mera variacije. Varianca je za statistično analizo podatkov zelo pomembna. Predstavlja povprečje kvadratov odklonov posameznih vrednosti aritmetične sredine. Variance se grafično ne da predstaviti. Zaradi tega se kot opisni parameter bolj uporablja kvadratni koren variance. Imenujemo ga standardna deviacija ali standardni odklon.

Definirana formula variance ( $\sigma^2$ ) :

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N} \quad \dots \dots (7)$$

Standardni odklon uvrščamo k statističnim kazalcem. Največkrat ga uporabljamo za merjenje statistične razpršenosti enot. Standardni odklon lahko računamo kot  $\sigma$  (sigma) ali kot odklon posameznega vzorca statistične populacije. Zaradi različnega odklona se formuli razlikujeta.

Standardni odklon je definiran s formulo

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N}} \quad \dots\dots(8)$$

$x(i)$  je i-ta enota v statistični populaciji, povprečje je aritmetična sredina populacije,  $N$  pa je število vseh enot.

Standardni odklon vzorca statistične populacije je definiran s formulo (Adamič, 1980):

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad \dots\dots(9)$$

Velika vrednost standardnega odklona  $\sigma$  predstavlja veliko razpršenost enot v populaciji. Majhna vrednost standardnega odklona  $\sigma$  pa predstavlja veliko koncentracijo statističnih enot okoli aritmetične sredine (Bajt in Štiblar, 2002).

## 4 REZULTATI

### 4.1 REZULTATI ANALIZ GLEDE NA SORTO JABOLK

#### 4.1.1 Rezultati določanja antioksidativnega potenciala v jabolkih s prostim radikalom DPPH<sup>•</sup>

Antioksidativni potencial (AOP) vzorcev jabolk smo določali z metodo, ki temelji na reakciji stabilnega radikala 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) v 2 % raztopini MFK z antioksidanti iz vzorca.

Analizo vzorcev smo izvajali v treh paralelkah in za vsak vzorec smo naredili tudi slepo probo.

Izmerili smo absorbenco slepih prob in vzorcev (A) in referenčno vrednost (RF). Iz enačbe (1) smo izračunali  $\Delta A$ , ki smo jo vstavili v enačbo (2). Iz enačbe (1) in (2) smo izračunali antioksidativni potencial (AOP) za vsak vzorec. V preglednici 5 je kot rezultat podano povprečje vseh treh paralelek v mmol DPPH/100 g. Povprečje in standardni odklon AOP glede na sorto jabolk in gnojenjem z N, Ca in kombinacijo N + Ca sta predstavljeni v preglednici, grafično pa sta prikazani na sliki 8.

Antioksidativni potencial je posledica vsebnosti polifenolov, flavonoidov in v manjši meri vitaminov (Vidrih in Kač, 2000).

Vsebnost polifenolov, flavonoidov in vitaminov je v pozitivni korelaciji z antioksidativnim potencialom.

Preglednica 2: Rezultati meritev antioksidativnega potenciala (mmol DPPH/100 g) jabolk sorte 'Aroma' med skladiščenjem.

oznaka vzorca	tretiranje	AOP (mmol DPPH/100 g)
AG 2B	+ kontrola	0,056
	+ N	0,109
	+ Ca	0,079
	+ Ca+N	0,077
AG 3A	+ kontrola	0,078
	+ N	0,061
	+ Ca	0,108
	+ Ca+N	0,168
AG 3B	+ kontrola	0,078
	+ N	0,153
	+ Ca	0,073
	+ Ca+N	0,131
AG 4A	+ kontrola	0,105
	+ N	0,081
	+ Ca	0,098
	+ Ca+N	0,095
AG 4B	+ kontrola	0,177
	+ N	0,061
	+ Ca	0,114
	+ Ca+N	0,116
AG 5B	+ kontrola	0,089
	+ N	0,078
	+ Ca	0,021
	+ Ca+N	0,097
AG 6A	+ kontrola	0,06
	+ N	0,095
	+ Ca	0,095
	+ Ca+N	0,068
AG 6B	+ kontrola	0,124
	+ N	0,069
	+ Ca	0,124
	+ Ca+N	0,122

V preglednici 2 so predstavljeni vsi izmerjeni rezultati AOP za sorto 'Aroma'.

AOP povprečnega kontrolnega vzorca jabolk sorte 'Aroma' znaša 0,096 mmol DPPH/100g, jabolka gnojena z dušikom imajo vrednost AOP 0,089 mmol DPPH/100 g. AOP v jabolkih gnojenih s kalcijem znaša 0,093 mmol DPPH/100 g, gnojenje s kombinacijo kalcija in dušika ima vrednost AOP 0,108 mmol DPPH/100 g(preglednica 6).

Preglednica 3: Rezultati meritev antioksidativnega potenciala (mmol DPPH/100 g) jabolk sorte 'Elstar'

oznaka vzorca	tretiranje	AOP (mmol DPPH/100 g)
AG 3A	+ kontrola	0,587
	+ N	0,304
	+ Ca	0,356
	+ Ca+N	0,543
AG 3B	+ kontrola	0,12
	+ Ca	0,175
	+ N	0,112
	+ Ca+N	0,209
AG 4A	+ kontrola	0,706
	+ N	0,515
	+ Ca	0,578
	+ Ca+N	0,479
AG 4B	+ kontrola	0,049
	+ N	0,695
	+ Ca	0,598
	+ Ca+N	0,589
AG 5A	+ kontrola	0,117
	+ N	0,154
	+ Ca	0,137
	+ Ca+N	0,154
AG 5B	+ kontrola	0,048
	+ N	0,16
	+ Ca	0,122
	+ Ca+N	0,154
AG 6A	+ kontrola	0,568
	+ N	0,337
	+ Ca	0,587
	+ Ca+N	0,576
AG 6B	+ kontrola	0,24
	+ N	0,433
	+ Ca	0,499
	+ Ca+N	0,55

Preglednica 3 predstavlja rezultate vseh izmerjenih meritev sorte 'Elstar'.

Povprečni rezultati sorte 'Elstar' so predstavljeni v preglednici 5. Sorta 'Elstar' ima višji AOP v primerjavi s sorto 'Aroma'. AOP plodov sorte 'Elstar' znaša pri povprečnem kontrolnem vzorcu 0,383 mmol DPPH/100 g. Pri plodovih gnojenih z dušikom (N) je vrednost AOP 0,387 mmol DPPH/100 g. Gnojenje s kombinacijo kalcija in dušika vpliva

na večji AOP (0,411 mmol DPPH/100 g). Najvišji povprečni antioksidativni potencial jabolk sorte 'Elstar' pa imajo plodovi gnojeni s Ca, kateri znaša 0,416 mmol DPPH/100 g.

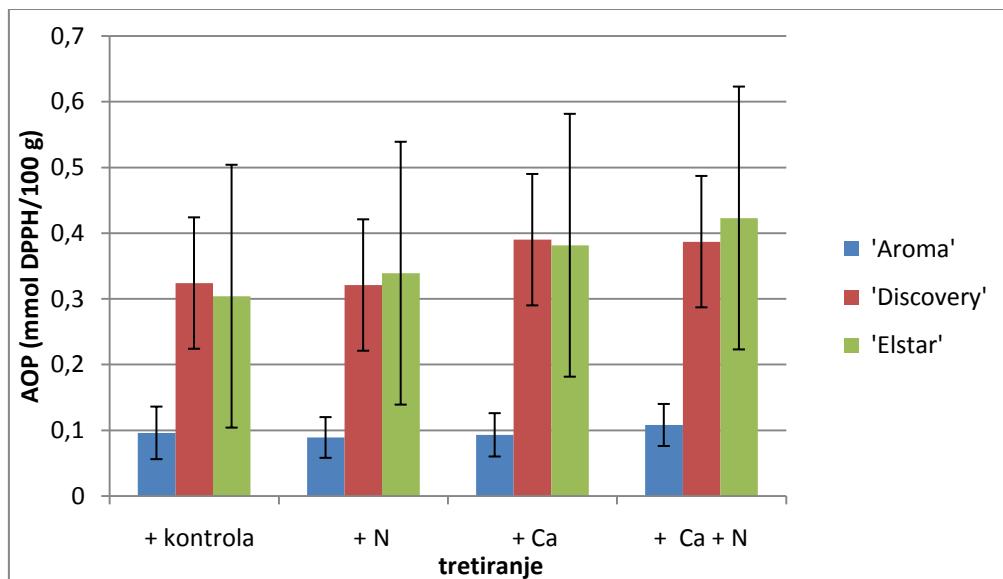
Preglednica 4: Rezultati meritev antioksidativnega potenciala (mmol DPPH/100 g) jabolk sorte 'Discovery'

oznaka vzorca	tretiranje	AOP (mmol DPPH/100 g)
AG 1A	+ kontrola	0,297
	+ N	0,309
	+ Ca	0,314
	+ Ca+N	0,322
AG 3A	+ kontrola	0,126
	+ N	0,091
	+ Ca	0,096
	+ Ca+N	0,15
AG 3B	+ kontrola	0,28
	+ N	0,529
	+ Ca	0,432
	+ Ca+N	0,606
AG 4A	+ kontrola	0,748
	+ N	0,435
	+ Ca	0,51
	+ Ca+N	0,611
AG 4B	+ kontrola	0,302
	+ N	0,365
	+ Ca	0,652
	+ Ca+N	0,477
AG 5A	+ kontrola	0,119
	+ N	0,206
	+ Ca	0,109
	+ Ca+N	0,177
AG 5B	+ kontrola	0,225
	+ N	0,236
	+ Ca	0,177
	+ Ca+N	0,142
AG 6A	+ kontrola	0,492
	+ N	0,502
	+ Ca	0,520
	+ Ca+N	0,488
AG 6B	+ kontrola	0,328
	+ N	0,215
	+ Ca	0,696
	+ Ca+N	0,512

Povprečni rezultati AOP za jabolka sorte 'Discovery' so predstavljeni v preglednici 5. Ponovno smo zabeležili najnižji antioksidativni potencial plodov jabolk gnojeni z dušikom, ki znaša povprečno 0,316 mmol DPPH/100 g, sledijo plodovi kontrolnega vzorca (0,33 mmol DPPH/100 g). AOP plodov jabolk sorte 'Discovery' gnojenih z kalcijem znaša 0,369 mmol DPPH/100 g, kombinacija gnojenja z dušikom in kalcijem pa daje največji AOP (0,374 mmol DPPH/100 g).

Preglednica 5: Povprečje in standardni odklon antioksidativnega potenciala AOP (mmol DPPH/100 g) glede na sorto jabolk.

Sorta jabolk	tretiranje	Število vzorcev	Povprečje (mmol DPPH/100g)
'Aroma'	+ kontrola	8	0,096 ± 0,04
	+ N	8	0,089 ± 0,031
	+ Ca	8	0,093 ± 0,033
	+ Ca + N	8	0,108 ± 0,032
'Discovery'	+ kontrola	9	0,324 ± 0,55
	+ N	9	0,321 ± 0,42
	+ Ca	9	0,390 ± 0,64
	+ Ca + N	9	0,387 ± 0,54
'Elstar'	+ kontrola	9	0,304 ± 0,71
	+ N	9	0,339 ± 0,77
	+ Ca	9	0,381 ± 0,56
	+ Ca + N	9	0,423 ± 0,54



Slika 8: Povprečje in standardni odklon antioksidativnega potenciala (mmol DPPH/100 g) glede na sorto jabolk in način gnojenja.

V preglednici 5 in na sliki 8 so predstavljene povprečne vrednosti antioksidativnega potenciala vseh treh sort jabolk tretiranih z N, Ca ali kombinacijo Ca N ter kontrole. Iz rezultatov lahko razberemo, da je antioksidativni potencial v večji meri odvisen tudi od sorte jabolk. V našem primeru imajo najvišji antioksidativni potencial (AOP) jabolka sorte 'Elstar'.

Sledijo plodovi sorte 'Discovery' ter 'Aroma', ki ima najnižji AOP. Plodovi gnojeni s kombinacijo kalcija in dušika imajo najvišji AOP, sledijo plodovi gnojeni s kalcijem (Ca).

Razviden je trend, da daje gnojenje z dušikom najnižje vrednosti AOP v primerjavi z ostalimi načini gnojenja oziroma kontrolnih vzorcev brez gnojenja.

#### 4.1.2 Rezultati določanja fenolnih spojin v plodovih jabolk

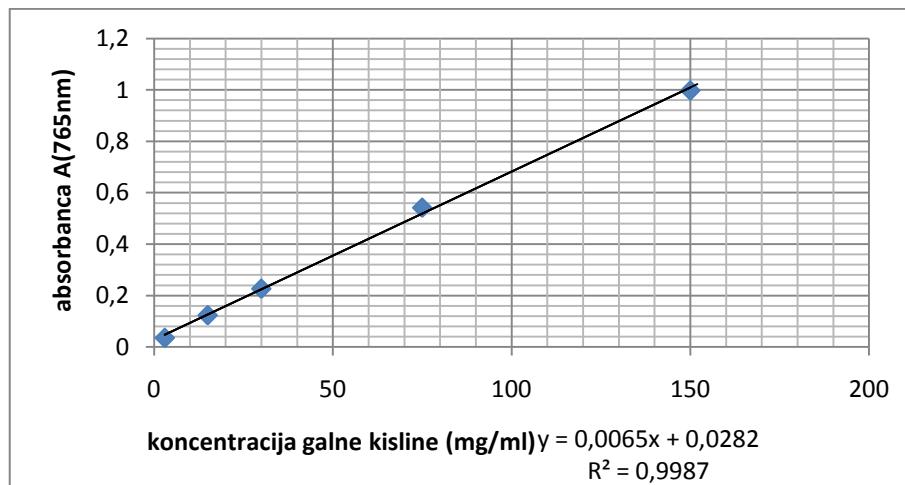
Fenolne spojine v vzorcih jabolk smo določali s Folin-Ciocalteujevim reagentom. Absorbanco smo merili pri valovni dolžini 765 nm. Izmerjena absorbanca je premosorazmerna količini skupnih fenolov v vzorcu.

##### 4.1.2.1 Umeritvena krivulja za skupne fenolne spojine s F.C.reagentom

Iz podatkov (preglednica 6) smo narisali umeritveno krivuljo (slika 9). S pomočjo enačbe umeritvene krivulje in ob upoštevanju razredčitve smo izračunali koncentracijo skupnih fenolnih spojin izraženo kot mg galne kisline/100 g svežega vzorca.

Preglednica 6: Ovisnost absorbance od koncentracije galne kisline

Koncentracija galne kisline (mg/l)	Absorbanca ( $A_{765\text{nm}}$ )
3	0,036
15	0,124
30	0,227
75	0,542
150	0,9976

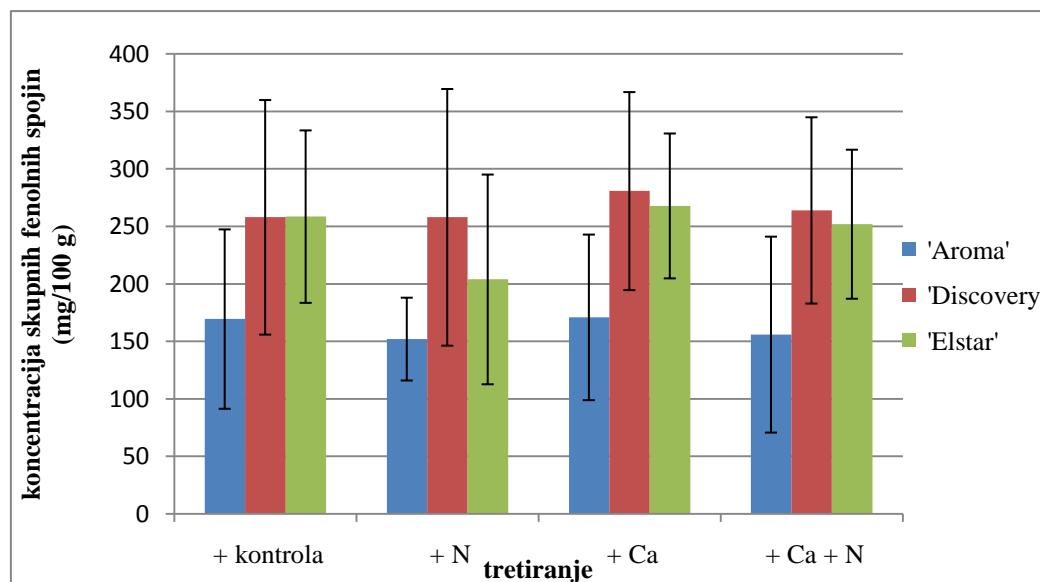


Slika 9: Umeritvena krivulja za določanje fenolnih spojin – ovisnost absorbance od koncentracije galne kisline skupaj z enačbo premice.

#### 4.1.2.2 Določanje koncentracije skupnih fenolnih spojin v plodovih jabolk

Preglednica 7: Povprečne vrednosti in standardni odklon vsebnosti skupnih fenolnih spojin (mg/100 g) glede na sorto jabolk in različne načine gnojenja

Sorta jabolk	tretiranje	Število vzorcev	Skupni fenoli (mg/100 g)
'Aroma'	+ kontrola	8	169,5 ± 78
	+ N	8	152,1 ± 36
	+ Ca	8	171 ± 72
	+ Ca + N	8	156 ± 85,2
'Discovery'	+ kontrola	9	258 ± 102
	+ N	9	258 ± 111,6
	+ Ca	9	280,8 ± 86,1
	+ Ca + N	9	264 ± 81
'Elstar'	+ kontrola	9	258,6 ± 75
	+ N	9	204 ± 91,2
	+ Ca	9	267,9 ± 63
	+ Ca + N	9	252 ± 64,8



Slika 10: Vsebnost in standardni odklon vsebnosti skupnih fenolnih spojin (mg/100 g) v plodovih jabolk sort 'Aroma', 'Discovery' in 'Elstar'.

Iz rezultatov zbranih v preglednici 7 in na sliki 10 je mogoče razbrati, da je vsebnost skupnih fenolnih spojin v plodovih jabolk v precej velikem razponu. Koncentracija skupnih fenolnih spojin (mg/100 g) se giblje v mejah od 152,1 do 280,8 mg/100 g.

Iz rezultatov vseh treh sort jabolk je razvidno, da imajo plodovi gnojeni s Ca najvišjo vsebnost SFS, najnižjo vrednost SFS pa imajo vzorci gnojeni z N. Kontrolni vzorci (brez gnojenja) kažejo relativno visoke vrednosti SFS, višje kot vzorci gnojeni z N.

Najvišjo koncentracijo skupnih fenolnih spojin imajo pri sorti 'Discovery' plodovi gnojeni s kalcijem (280,8 mg/100 g) ter pri sorti 'Aroma' (171 mg/100 g).

Najvišjo koncentracijo skupnih fenolnih spojin pri plodovih gnojenih z dušikom (N) smo določili pri sorti 'Discovery' (258 mg/100 g), sledi ji sorta 'Elstar' z 204 mg/100 g in sorta 'Aroma' z 152,1 mg/100 g.

Najvišjo vsebnost skupnih fenolnih spojin imajo pri gnojenju s kombinacijo kalcija in dušika (Ca+N) plodovi sorte 'Discovery' (264 mg/100 g) sledi sorta 'Elstar' (252 mg/100 g) in sorta 'Aroma' (156 mg/100 g). Pri vseh treh sortah je dalo gnojenje s kalcijem, medtem ko imajo najnižjo vrednost plodovi gnojeni z dušikom.

## 5 RAZPRAVA

Namen raziskave je bil ugotoviti, kako gnojenje s kalcijem, dušikom in kombinacijo kalcija in dušika vpliva na vsebnost skupnih fenolov in antioksidativni potencial. Vsa jabolka so bila pridelana na konvencionalen način ter dodatno foliarno gnojena s kalcijem, dušikom ali kombinacijo obeh.

Gnojenje drevesa jablane je ključnega pomena na kakovost plodov jabolk. Gnojenje z dušikom vpliva na večji pridelek, vendar prekomerno gnojenje znatno poslabša večino parametrov kakovosti plodov jabolk. Po drugi strani pa gnojenje s kalcijem, običajno v obliki  $\text{CaCl}_2$  izboljša parametre kakovosti plodov jabolk.

Najbolj je raziskan vpliv kalcija na preprečevanje pojava grenke pegavosti. Kalcij se v plodovih veže na celične stene in tako vzdržuje integriteto celičnih sten, kar se kaže v večji trdoti plodov. S tem se tudi upočasni zorenje na samem drevesu in kasneje tudi med skladiščenjem. Plodovi so manj občutljivi na mehanske poškodbe in nekatere bolezni (Chardonnet in sod., 2003). Ortiz in sod. (2011b), poročajo o manjši sintezi etilena med skladiščenjem pri plodovih gnojenih s kalcijem kar vpliva na daljo življenjsko dobo.

Od ostalih vplivov se veliko omenja tudi vpliv kalcija na sintezo aromatskih spojin; plodovi z več kalcija tvorijo več estrov in imajo bolj izraženo sadno noto (Ortiz in sod., 2010)

### 5.1 ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL

Glede na rezultate antioksidativnega potenciala lahko sklepamo, da je antioksidativni potencial v veliki meri odvisen od sorte jabolk.

Nedavne študije, ki so jih opravili Vieira in sodelavci (2011), so potrdile našo domnevo, da se vsebnost polifenolnih spojin v jabolkah razlikuje med različnimi sortami.

Antioksidativni potencial (AOP) v sadju je tesno povezan z vsebnostjo skupnih fenolnih spojin. To pomeni, čim več vsebuje sadje fenolov tem višji je njegov antioksidativni potencial. Poleg fenolnih spojin vplivajo na antioksidativni potencial še vitamini, vendar v manjši meri kot polifenoli.

Stracke in sodelavci (2009) so v raziskavah prišli do zaključka, da so flavonoli glavne komponente, ki vplivajo na antioksidativni potencial.

Pri jabolkah z rdečo lupino je antioksidativni potencial pričakovano višji, kot pri tistih, ki imajo rumeno oziroma zeleno lupino. Med rastjo se v lupini plodov nenehno spreminja profil fenolnih spojin, odvisno od sorte, klimatskih pogojev in stopnje zrelosti plodov.

Najvišjo povprečno vrednost antioksidativnega potenciala imajo jabolka sorte 'Elstar', najnižjo povprečno vrednost antioksidativnega potenciala pa imajo jabolka sorte 'Aroma'. Znotraj sorte najbolj vpliva na višji antioksidativni potencial gnojenje s kalcijem.

Foliarno gnojenje s kalcijem ali v kombinaciji z dušikom vpliva na povečanje antioksidativnega potenciala pri vseh treh sortah.

Brown in sodelavci (1996) so ugotovili, da gnojenje s kalcijem ne vpliva na čvrstost plodov, če se le-ta dodaja tik pred obiranjem.

Drevesa lahko dognojujemo preko tal in kasneje tudi listov. S tem omogočimo plodovom, da se primerno razvije in kasneje tudi dobro skladiščenje.

Gnojenje s kalcijem v zgodnejšem obdobju povzroči, da imajo jabolka višjo trdoto in so tudi manj dovetnejša za pojav grenke pegavosti (Domagala-Świątkiewicz in Blaszczyk, 2009).

Sam kalcij zavira proces staranja oziroma zorenja, saj zavira aktivnost mitohondrijev in encimov pektinaz in s tem zmanjšuje stopnjo dihanja, ki je ključna za samo zorenje (Sams in Conway, 1984).

Antioksidativni potencial (AOP) v sadju je tesno povezan z vsebnostjo skupnih fenolnih spojin. To pomeni, čim več vsebuje sadje fenolov tem višji je njegov antioksidativni potencial.

## 5.2 VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN (SFS)

Količina fenolnih snovi je odvisna od vrste rastline, kultivarja, rastišča, podnebnih razmer (temperatura, svetloba, količina padavin), načina pridelave in agrotehniških dejavnikov (Häkkinen in sod., 1999). Fenolne spojine določajo zunanje in notranje parametre kakovosti sadja, kot so videz, okus in odpornost sadja na mehanske poškodbe ali odpornost na napad insektov.

Ugotovljeno je bilo, da vsebuje lupina jabolk tudi do 100 krat več nekaterih fenolov v primerjavi s pulpo jabolka, kar kaže na pomen zaščitnih snovi v lupini (Veberič in sod., 2005).

Iz naših rezultatov je lahko razbrati, da je vsebnost skupnih fenolnih spojin v plodovih jabolk v precej velikem razponu, in sicer se vrednosti gibljejo od 152,1 do 280,8 mg/100 g.

Najvišjo povprečno koncentracijo skupnih fenolnih spojin ima v našem primeru sorta 'Discovery'. Znotraj sorte 'Discovery' smo določili najvišjo vrednost fenolnih snovi v

plodovih gnojenih s kalcijem, nekoliko manjše vrednosti je bila pri kombinaciji kalcija in dušika, najmanj pa pri gnojenje z dušikom.

Avtorji (Mainla in sod., 2012) poročajo, da gnojenje s kalcijem pred obiranjem pri nekaterih podlagah poveča sintezo nekaterih polifenolov, predvsem kvarcitrina. Po drugi strani pa gnojenje z dušikom zmanjša sintezo nekaterih polifenolov, predvsem cianidin 3 – galaktozida, katehinov in flavonoidov (Awad in de Jager, 2002).

Najnižjo povprečno koncentracijo skupnih fenolnih spojin imajo jabolka sorte 'Aroma'. Znotraj sorte 'Aroma' ima največji vpliv na količino fenolov gnojenje s kalcijem najmanj pa plodovi gnojeni z dušikom. Ta vrednost je 57 mg/l.

Glede na te parametre je najpomembnejši mineral kalcij, kar nam je potrdila tudi raziskava. Ta zavira naravno mehčanje jabolk med skladiščenjem. Omogoča vzdrževanje integritete celične stene skozi oblikovanje karboksilne skupine v poligalakturonaznih polimerih pri kalcijevem ionu (Ortiz in sod., 2011)

Zaradi tega je jabolko podvrženo kasnejšemu razpadu med zorenjem ali staranjem. S stališča ohranjanja kvalitete gnojenja s kalcijem pomembno prispeva k večji vsebnosti polifenolov in večjemu antioksidativnemu potencialu kar je pomembno za ohranjanje kvalitete sadja med skladiščenjem. Poleg daljše obstojnosti sadja pa je gnojenje s kalcijem pomembno tudi s prehranskega stališča, saj ob uživanju takega sadja zaužijemo več zaščitnih snovi. Za čim večjo vsebnost zaščitnih snovi (polifenolov, vitaminov) je pomembno uravnovešeno gnojenje predvsem z dušikom (Awad in de Jager, 2002).

## 6 SKLEPI

Iz rezultatov analiz za ugotavljanje vpliva gnojenja s kalcijem in dušikom na antioksidativni potencial in skupne fenole lahko povzamemo naslednje sklepe:

- antioksidativni potencial je odvisen od sorte jabolk.
- količina fenolnih spojin je odvisna od sorte jabolk
- sorte jabolk 'Aroma' vsebuje najnižjo povprečno vrednost antioksidativnega potenciala, sorte 'Elstar' pa najvišjo vrednost
- gnojenje s kalcijem ali kombinacija kalcija in dušika poveča antioksidativni potencial
- gnojenje z dušikom zmanjša antioksidativni potencial
- gnojenje s kalcijem ali kombinacijo kalcija in dušika poveča vsebnost skupnih fenolov
- velik pomen na vrednost fenolnih spojin imata makroelementa kalcij in dušik.

## 7 POVZETEK

Jabolko je najbolj razširjena sadna vrsta v svetu in tudi pri nas. Vsebuje zelo veliko zdravilnih snovi, zato si že z zaužitjem enega sadeža pridobimo veliko vitaminov in mineralov. Pomaga pri izboljšanju odpornosti telesa in pri preprečevanju številnih bolezni. Konvencionalna pridelava jabolka je v svetu vedno bolj razširjena. S tem načinom pridelave dobimo v določenem obdobju čim večji in bolj kakovosten pridelek. Uporabljamo gnojila, s katerimi nadomestimo hranila v drevesu, ki primanjkujejo v določenem obdobju rasti.

Namen raziskave je bil ugotoviti vsebnost skupnih fenolov in vsebnost antioksidativnega potenciala v plodovih jabolka gnojenih s kalcijem (Ca), dušikom (N), in kombinacijo kalcija in dušika (Ca + N). V raziskavo so bile vključene 3 sorte jabolka 'Discovery', 'Elstar' in 'Aroma'. Imeli smo 9 vzorcev sorte 'Discovery', 9 vzorcev sorte 'Elstar' in 8 vzorcev sorte 'Aroma'.

Znotraj vsakega vzorca smo imeli tudi podane vzorce, ki so bili tretirane s kalcijem (Ca), dušikom (N) in kombinacijo kalcija in dušika (Ca + N).

Med kemijskimi lastnostmi smo primerjali antioksidativni potencial in koncentracijo skupnih fenolnih spojin.

Antioksidativni potencial je posledica vsebnosti polifenolov, flavonoidov in v manjši meri tudi vitaminov. Antioksidativni potencial smo določili s spektrofotometrično metodo z DPPH<sup>•</sup>, ki temelji na reakciji stabilnega radikala DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) v 2 % raztopini metafosforne kisline (MFK) z antioksidanti iz vzorca (donorji vodika).

Antioksidativni potencial je zelo variiral med sortami 'Discovery', 'Elstar' in 'Aroma' znotraj tretirane s kalcijem (Ca), dušikom (N) in kombinacijo kalcija in dušika (Ca + N). Te vrednosti so bile v območju od 0,089 do 0,390 (mmol DPPH/100 g). Od teh treh vzorcev je imela najnižjo vrednost sorta 'Aroma', ki je na novo vzgojena sorta.

Znotraj sorte 'Aroma' je bila najnižja vrednost pri tretiranju z dušikom (0,089 mmol DPPH/100 g) in najvišjo pri tretiranju s kombinacijo Ca in N (0,108 mmol DPPH/100 g).

Najvišja vrednost AOP so imela jabolka sorte 'Elstar'. Znotraj sorte je ta vrednost najvišja pri tretiranju s kombinacijo kalcija in dušika (Ca + N) (0,423 mmol DPPH/100 g) in najnižjo pri tretiranju s dušikom (N) (0,339 mmol DPPH/100 g).

Pri sorti 'Discovery' je najvišja vrednost pri tretiranju s kalcijem (0,390 mmol DPPH/100g) in najnižjo pri tretiranju s dušikom (0,321 mmol DPPH/100 g).

Fenolne spojine v jabolkih so pomembne, saj med drugim prispevajo k antioksidativnem potencialu jabolka. Fenolne spojine v vzorcih jabolčne brozge smo določali s Folin – Ciocalteujevim reagentom. Absorbance smo merili pri valovni dolžini 765 nm.

Vsebnost skupnih fenolnih spojin je odvisna od mnogih dejavnikov, med drugim od sorte jabolk. Zaradi tega se koncentracije gibljejo v mejah od 152,1 do 280,8 mg/100 g). Najvišjo koncentracijo skupnih fenolnih spojin ima 'Discovery'. Znotraj sorte ima najvišjo koncentracijo skupnih fenolnih spojin jabolka tretirana s kalcijem (280,8 mg/ 100 g). Najnižjo pa tretirana s dušikom (258 mg/ 100 g). Najnižjo koncentracijo skupnih fenolnih spojin imajo jabolka sorte 'Aroma'. Najnižjo vrednost je pri tretiranju s dušikom (152,1 mg/ 100 g) in najvišjo pri tretiranju s kalcijem (171 mg/ 100 g).

Na podlagi rezultatov predstavljenih v diplomske nalogi lahko zaključimo, da obstajajo razlike v vsebnosti fenolov in vrednostjo antioksidativnega potenciala med sortami jabolk. Pri antioksidativnem potencialu ima največji vpliv na vrednost tretiranje s kalcijem. Ta nam daje mnogo višje rezultate kot pri tistih tretiranih s dušikom.

Vrednost koncentracije skupnih fenolnih spojin je najvišja pri jabolkih tretiranih s kalcijem in najnižja pri jabolkih tretiranih z dušikom (N).

Na podlagi tega lahko zavrnemo na začetku postavljeno hipotezo, ki smo jo podali, da gnojenje z dušikom (N), kalcijem (Ca) in kombinacijo kalcija in dušika (Ca + N) ne vpliva na antioksidativni potencial in skupne fenole.

## 8 VIRI

Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmacevtski vestnik, 48: 573-589

Adamič Š. 1980. Temelji biostatistike. Ljubljana, Medicinska fakulteta, Inštitut za biomedicinsko informatiko: 161 str.

Awad M.A., de Jager A. 2002. Relationships between fruit nutrients and concentration of flavonoids and chlorogenic acid in 'Elstar' apple skin. Scientia Horticulturae, 92: 265-276

Awad M. A., de Jager A. D., Dekker M., Jonger W. M. 2001. Formation of flavonoids and chlorogenic acid in apples as affected by crop load. Scientia Horticulturae, 91: 227-237

Bajt A., Štiblar F. 2002. Statistika za družboslovce. Ljubljana, GV založba: 213 str.

Beaudry R. M. 1999. Effect of CO<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. Postharvest Biology and Technology, 15: 293-303

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 domestica* Borkh.). Scientia Horticulturae, 127: 23-28

Bourville C. L., Renard C. M. G. C. 2005. Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part II: Quantification and impact of cell wall drying. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1725: 1-9

Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 432 str.

Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie/Food Science and Technology, 28: 25-30

Brence A. 2011. Gnojenje in prehrana dreves. Novo Mesto, Kmetijsko gozdarski zavod Novo mesto: 15 str.  
[www.kmetijskizavod-nm.si.\(12.9.2013\)](http://www.kmetijskizavod-nm.si.(12.9.2013))

Brown G. S., Kitchenes 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

Chinnici F., Bendini A., Gaiani A., Ripon C. 2004. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 85: 2611-2616

Curry E. 1997. Effect of postharvest handling and storage on apple nutrition status using antioxidants as a model. *HortTechnology*, 7, 3: 240-243

Cybulska J., Zdunek A., Konstonkiewicz K. 2011. Calcium effect on mechanical properties of model cell walles and apple tissue. *Journal of Food Engineering*, 102: 217-223

Dixon J., Hewett E. W. 2000. Factors affecting apple aroma flavour volatile concentration: a review. *New Zealand Journal of Crop and Horticulturae Science*, 28: 155-173

Domagala-Świątkiewicz I., Blaszczyk J. 2009. Effect of calcium nitrate spraying on mineral contents and storability of »Elise« apples. *Polish Journal of Environmental Studies* 18, 5: 971-977

Echeverría G., Graell J., Lara I., López M. L. 2008. Physicochemical measurements in 'Mondial Gala®' apples stored at different atmospheres: Influence on consumer acceptability. *Postharvest Biology and Technology*, 50: 135-144

FAOSTAT. 2013. Production: Apples. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations: baza podatkov  
<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (27.1.2014).

Fawbush F., Nock J. F., Watkins C.B. 2008. External carbon dioxide injury and 1-methylcyclopropene (1-MCP) in the 'Empire' apple. *Postharvest Biology and Technology*, 48: 92-98

Fellman J. K., Mattheis J. P. 1995. Ester biosynthesis in relation to harvest maturity an controlled-atmosphere storage of apples. V: Fruit flavors: biogenesis, characterization and authentication. Rouseff R.L., Leahy M. M. (eds.). ACS, Symposium Series 596. Washington, American Chemical Society: 149-162

Fidler J. C., Wilson B. G., Edney K. L., Sharples R. O. 1973. The biology of apple and pear storage. Farham Royal, Slough, Commonwealth Agricultural Bureaux: 235 str.

Glenn G. M., Poovaian B. W. 1987. Role of calcium in delaying softening of apples and cherries. PostHarvest Pomology Newsletter, 5, 1: 10-19  
<http://postharvest.tfrec.wsu.edu/pages/N5I1B> ( 21.2.2013)

Guadagni D. G., Bomben J. L., Hudson J. S. 1971. Factors influencing the development of aroma in apple peels. Journal of the Science of Food and Agriculture, 22: 110-115

Gvozdenović D. 1989. Od obiranja sadja do prodaje. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 291 str.

Hagen S. F., Borge G. I., Bergtsson 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: 1-10

Häkkinen S. H., Kärenlampi S. O., Heinonen I. M., Mykkänen H. M., Törrönen A. R. 1999. Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempferol in 25 edible berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 6: 2274-2279

Harker F. R., Ferguson I.B. 1988. Transport of calcium across cuticles isolated from apple fruit. Scientia Horticulturae, 36, 3-4: 205-217

Hribar J. 1989. Spremembe kemičnih in mehaničnih lastnosti jabolk sorte Jonagold pri različnih pogojih skladiščenja. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, VTOZD za živilsko tehnologijo: 4-23

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

Hulme A. C. 1970. The biochemistry of fruit and their products. Vol. 1. London, New York, Academic Press: 80-128

Jazbec M., Vrabl S., Juvanc J., Babnik M., Koron D. 1995. Sadni vrt. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 159-179

Košmerl T., Kač M. 2004. Osnove kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 97-101

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: 33-38

Leja M., Mareczek A., Ben J. 2003. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. *Food Chemistry*, 80, 3: 303-307

Leskošek M. 1993. Gnojenje. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 197 str.

Li Z., Gemma H., Iwahori S. 2002. Stimulation of »Fuji« apple skin color by ethephon and phosphorus-calcium mixed compounds in relation to flavonoid synthesis. *Scientia Horticulturae*, 94:193-199

Lister C. E., Lancaster J. E., Walker J. R. L. 1996. Developmental changes in enzymes of flavonoid biosynthesis in the skins of red and green apple cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71: 313-320

Mainla L., Moor U., Karp K., Tõnutare T. 2012. The effect of preharvest Ca treatment on concentration of polyphenols and antioxidant capacity of 'Pirja' and 'Maikki' apples grown on different rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 148: 93-96

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: 197-211

Murayama H., Katsumata T., Horiuchi O., FukushimaT. 2002. Relationship between fruit softening and cell wall polysaccharides in pears after different storage periods. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 1: 15-21

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: 353-363

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=3564708h3cc92qk6mmgugteu67&chglang=ENG> (november, 2013)

Ortiz A., Echeverría G., Graell J., Lara I. 2010. The emission of flavour-contributing volatile esters by 'Golden Reinders' apples is improved after mid-term storage by postharvest calcium treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 57: 114-123

Ortiz A., Graell J., Lara I. 2011a. Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening 'Golden Reinders' apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. *Food Chemistry*, 128: 1072-1079

Ortiz A., Graell J., Lara I. 2011b. 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

Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology*, 20, 7: 933-956

Rogensky V., Lissi E. A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92: 235-254

Sabban-Amin R., Feygenberg O., Belausov E., Pesis E. 2011. Low oxygen and 1-MCP pretreatments delay superficial scald development by reducing reactive oxygen species (ROS) accumulation in stored 'Granny Smith' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 62: 295-304

Salobir K. 2000. Antioksidanti v živilih - vpliv na zdravje. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Gašperlin L., Žlender B. (ur). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 287-294

Sams C. E., Conway W. S. 1983. Calcium infiltration of golden Delicious apples and its effect on decay. *Phytopathology*, 73:1068-1071

Sams C.E. in Conway W.S.. 1984: Effect of calcium infiltration on ethylene production respiration rate, Soluble polyuronide content and quality of »Golden Delicious« apple fruit. *Journal American Society for Horticultural Science*, 109,1: 53-57

Simčič M., Hribar J., Brodnik V. 2000. Compartmentisation and nutritional value of polyphenols and ascorbic acid in apples. V: European scientific symposium on molecular and genetic interactions involving phytochemicals, Gozd Martuljek 17. -20. September, Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 203-208

Sinha N. K. 2007. Apple: Production, chemistry and processing. V: Handbook of food products manufacturing. Vol.1. Hui Y. H. (ed.). New Jersey, Wiley-interscience: 774-791

Skog L. J., Chu C. L. 2003. Apple: The role of satiety in nutrition; food, nutrition, and appetite. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol 1. 2<sup>nd</sup> ed. Caballero B., Trugo L., Fingal M. P. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 290-294

Suwa Stanojević M. 2003. Tehnologija sadja, vrtnin in pijač. 2. poprav. izd. Ljubljana, Zavod Republike za šolstvo: 332 str.

Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. Sadjarstvo. 2. izd. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 50-61

Taiz L., Zeiger E. 2006. Plant physiology. 4<sup>th</sup> ed. Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates: 764 str.

Veberič R., Trobec M., Herbinger K., Hafer M., Grill D., Štampar F. 2005. Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh), cultivars of organic and integrated production. Journal of the Science of Food Agriculture, 85: 1687-1694

Vieira F. G. K., Borges G. D. S. C., Copetti C., Di Pietro P. F., Nunes E. D. C., Fett R. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple fleshand pell of eleven cultivars grown in Brazil. Scientia Horticulturae, 128: 261-266

Vidrih R., Kač M. 2000. Analitika antibiotikov. 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: 61-67

Vrhovšek V. 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

Wechterbach L. 2005. Stabilnost polarnih in nepolarnih antioksidantov v kompleksnem matriksu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 74 str.

Well J., Ma F., Shi S., Qi X., Zhu X., Yuan J. 2010. Changes and postharvest regulation of activity and gene expression of enzymes related to cell wall degradation in ripening apple fruit. Postharvest Biology and Technology 56, 2: 147-154

## ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Rajku Vidrihu za vso strokovno pomoč, podporo in potrpežljivost pri nastajanju diplomske naloge.

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

Za pomoč v laboratoriju se zahvaljujem tehnični sodelavki Sonji Čerpič.

Hvala Lini Burkan Makivić, univ. dip. inž. živ. tehn. za pregled in pomoč pri urejanju literature.

Iskreno se zahvaljujem mojim staršem, ki so mi omogočili študij in me ves čas podpirali.

Zahvaljujem se tudi vsem drugim, ki so mi pomagali pri izvedbi, pisanju in oblikovanju diplomskega dela.

Posebna zahvala gre še Jožetu, ki me je vedno podpiral v boljših in slabih trenutkih.