

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STUDIUM PROCESU ZRÁNÍ A UCHOVÁVÁNÍ OVOCE

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. JIŘINA LANGOVÁ

BRNO 2009



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STUDIUM PROCESU ZRÁNÍ A UCHOVÁVÁNÍ OVOCE

STUDY OF FRUIT RIPENING AND STORAGE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

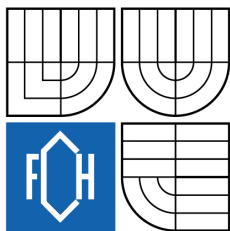
Bc. JIŘINA LANGOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. LIBOR BABÁK, Ph.D.

BRNO 2009



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce: **FCH-DIP0234/2008** Akademický rok: **2008/2009**
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student(ka): **Bc. Jiřina Langová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin (N2901)
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)
Vedoucí diplomové práce: **Ing. Libor Babák, Ph.D.**
Konzultanti diplomové práce:

Název diplomové práce:

Studium procesu zrání a uchovávání ovoce

Zadání diplomové práce:

- 1) rešerše literatury na téma práce
- 2) plán experimentů a odběr vzorků
- 3) analýza vybraných parametrů
- 4) diskuze nad výsledky

Termín odevzdání diplomové práce: 22.5.2009

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Jiřina Langová
Student(ka)

Ing. Libor Babák, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.10.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Během zrání a skladování ovoce dochází k mnoha změnám. Studovaným ovocem byla jablka čtyř odrůd: Šampion, Glostr, Golden Delicious a Idaret. U jablek bylo sledováno množství redukujících cukrů, celkové množství cukrů, množství kyselin, refraktometrická sušina a ztráty škrobu. Porovnávány byly změny jednotlivých parametrů, rozdíly mezi odrůdami a odlišnosti při skladování. Parametry byly měřeny od poloviny srpna 2008, kdy jablka dozrávala na stromě. Po sklizni byla uskladněna v chladícím boxu při 2–3 °C a při laboratorní teplotě 20–23 °C. Jablka uskladněná v chladícím boxu byla měřena do konce března 2009 a jablka při laboratorní teplotě do začátku ledna 2009.

Celkové množství cukrů u všech odrůd do sklizně stoupá, zatímco po utržení ze stromu klesá. Množství redukujících cukrů pozvolna stoupá a po utržení ze stromu výrazně klesá při uskladnění při 20–23 °C. V chladícím boxu nadále stoupá a to do konce listopadu, poté také dochází k poklesu. Ztráty škrobu jsou výrazné a urychlí se po sklizni. Množství kyselin také po celou dobu klesá a refraktometrická sušina má stoupající tendenci. U všech odrůd dochází k výraznějším změnám při skladování při 20–23 °C. Teplota tedy výrazně ovlivňuje zpracování cukrů a kyselin při dýchání plodů.

ABSTRACT

There are many changes in fruit quality during its ripening and storage. The following four apple varieties were studied: Champion, Glostr, Golden Delicious and Idaret. Amount of reducing sugars, total amount of sugars, quantities of acids, refractive solids and loss of starch were monitored. The changes of parameters, the differences between the varieties and differences in storage were compared. Parameters were monitored from mid-August 2008, when the apples ripened. After the harvest, apples were stored in a cool box at 2–3 °C and at room temperature 20–23 °C. Apples stored in the cool box were analyzed till the end of March 2009, and apples stored at room temperature until the beginning of January 2009.

Total quantity of sugars in all varieties increases before harvest, while it decreases after picking the apples. The quantity of reducing sugars in apples rises gradually and after their picking it falls significantly in apples stored at 20–23 °C. In apples stored in the cool box it continues rising until the end of November, and then it also decreases. Losses of starch are considerable and they are accelerated after the harvest. The quantity of acids also decreases throughout and amounts of refractive solids increases. For all varieties there are significant changes in storage at 20–23 °C. Temperature, therefore, significantly affects processing of sugars and acids in fruit respiration.

KLÍČOVÁ SLOVA

zrání, skladování, jablka, cukry, kyseliny, sušina

KEYWORDS

ripening, storage, apples, sugars, acids, solids

LANGOVÁ, J. Studium procesu zrání a uchovávání ovoce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 72 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Libor Babák, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování

Chtěla bych poděkovat Ing. Liboru Babákovi, Ph.D. za poskytnutí dobrých rad a Ovocnářskému družstvu Brno za poskytnutí vzorků a vřelou spolupráci.

OBSAH

ÚVOD	7
TEORETICKÁ ČÁST	8
1. Vznik ovocného plodu	8
1.1 Chemické složení ovoce	8
1.1.1 Voda	8
1.1.2 Cukry	8
1.1.3 Pektinové látky	8
1.1.4 Organické kyseliny	8
1.1.5 Třísloviny	8
1.1.6 Barviva	8
1.1.7 Dusíkaté látky	9
1.1.8 Etherické oleje (silice)	9
1.1.9 Vitamíny	9
1.1.10 Minerální látky	9
1.2 Vývoj rostlin a plodu	9
1.2.1 Klíčení	9
1.2.2 Růst	10
1.2.3 Tvorba květů a plodů	14
2. Chemické, fyzikální a biologické změny během zrání a skladování	20
2.1 Dýchání	20
2.1.1 Respirační kvocient	22
2.1.2 Intenzita dýchání	22
2.2 Transpirace	26
2.3 Tvorba těkavých aromatických látek	27
2.4 Metabolismus lipidů	29
2.5 Změna zásobních látek	29
2.5.1 Škrob	30
2.5.2 Buněčná stěna	30
2.5.3 Kyseliny	31
2.6 Změny barviv	31
2.6.1 Chlorofyl	32
2.6.2 Karotenoidy	33
2.6.3 Anthocyaniny	34
2.6.4 Hnědnutí	35
2.7 Syntéza proteinů	35
3. Skladování ovoce	36
3.1 Příčiny zhoršení kvality při skladování	37
3.1.1 Dýchání	37
3.1.2 Ethylen	37
3.1.3 Ztráta vody	37
3.1.4 Houbové a bakteriální patogeny	37
3.1.5 Fyzická zranění	38
3.1.6 Fyziologická onemocnění	38
3.2 Podmínky skladování	38
3.2.1 Teplota	38
3.2.2 Vlhkost	39
3.2.3 Složení atmosféry	39
3.2.4 Větrání	40

3.2.5	Dezinfekce.....	40
3.2.6	Retardátory.....	40
3.2.7	Záření.....	41
3.3	Způsoby prodloužení trvanlivosti během skladování.....	41
3.3.1	Ošetření před skladováním.....	41
3.3.2	Předchlazování.....	42
3.3.3	Chlazení.....	43
3.3.4	Skladování v kontrolované atmosféře (CA).....	44
3.3.5	Balení.....	46
4.	Analytické metody.....	50
4.1	Stanovení redukujících cukrů.....	50
4.1.1	Extrakce.....	50
4.1.2	Deproteinace – číření.....	50
4.1.3	Somogyi – Nelsonova metoda.....	50
4.1.4	Spektrofotometre.....	50
4.2	Stanovení obsahu organických kyselin.....	51
4.3	Stanovení sušiny.....	51
4.3.1	Refraktometrie.....	51
4.4	Stanovení škrobu.....	51
4.4.1	Škrobový test.....	51
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....		52
1.	Chemikálie, přístroje a materiál.....	52
1.1	Chemikálie.....	52
1.2	Přístroje.....	52
1.3	Materiál.....	52
2.	Analytické metody.....	53
2.1	Stanovení redukujících cukrů.....	53
2.1.1	Extrakce.....	53
2.1.2	Deproteinace vzorku:.....	53
2.1.3	Vlastní stanovení.....	53
2.2	Stanovení celkového množství cukrů.....	53
2.2.1	Inverze.....	53
2.3	Stanovení kyselin.....	53
2.4	Stanovení sušiny.....	54
2.5	Stanovení škrobu.....	54
VÝSLEDKY A DISKUZE.....		55
1.	Kalibrace redukujících cukrů.....	55
2.	Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného – stanovení kyselin.....	55
3.	Vybrané parametry.....	55
3.1	Množství redukujících cukrů.....	55
3.2	Celkové množství cukrů.....	58
3.3	Množství kyselin.....	60
3.4	Refraktometrická sušina.....	61
3.5	Škrob – škrobový test.....	62
ZÁVĚR.....		65
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....		66
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....		70
PŘÍLOHY.....		71

ÚVOD

Ovoce je důležitou součástí naší stravy, protože obsahuje mnoho prospěšných a potřebných látek pro náš organismus. Jako jsou vitamíny, minerální látky, vláknina, přírodní barviva, enzymy, esenciální látky a další. Nedostatek těchto látek může způsobit řadu zdravotních potíží, a proto by jsme ovoce měli konzumovat v dostatečném množství.

Vznik ovocného plodu a následné jeho zrání je doprovázeno celou řadou změn. Samotnému vzniku plodu předchází klíčení, růst rostliny, vznik květů a jejich opylení. Zrání začíná až po ukončení růstu plodu a je doprovázeno mnoha změnami. Mezi tyto důležité přeměny patří dýchání, ztráta vody, tvorba těkavých aromatických látek, přeměna buněčné stěny, změny v množství škrobu a kyselin, změna barviv, přeměna lipidů a tvorba velkého množství proteinů. Podle těchto parametrů je možné určit nejvhodnější dobu sklizně. Ta je důležitá pro další manipulaci, skladování případně zpracování. Protože ovoce patří mezi živé orgány, tak ke změnám dochází i po odtržení z rostliny a dochází tedy ke stárnutí plodů.

Dnes je samozřejmostí, že nabídka různých druhů ovoce je pro všechny dobře dostupná a běžná. A nezáleží jestli ovoce patří mezi tuzemské, dovezené ze sousedního státu nebo přes půl planety. Spotřebitel vyžaduje velkou rozmanitost co se týče druhů a samozřejmostí je také vysoká kvalita.

Procesy, které probíhají po utržení z rostliny, je možné ovlivnit vytvořením vhodných podmínek při skladování, ošetřením ovoce nebo odpovídajícím balením. Docílí se tak požadované kvality a prodloužení trvanlivosti ovoce. Důležité je také zamezit poškození plodů při manipulaci, protože potlučené a odřené ovoce je dobrým cílem mikroorganismů, škůdců a onemocnění. Ty pak způsobí kažení a rychlejší stárnutí plodů a tím zkracují dobu skladovatelnosti.

TEORETICKÁ ČÁST

1. VZNIK OVOCNÉHO PLODU

Mezi ovoce řadíme dužnaté plody stromů (švestky, kokos), keřů (angrešt), ale i vytrvalých bylin (banán), stejně jako podobně vznikající souplodí (jahoda, malina) nebo plodenství (ananas, fik). Do této skupiny řadíme také suchá semena (ořechy). [37]

1.1 Chemické složení ovoce

1.1.1 Voda

Voda tvoří hlavní část plodin, a to 70–95 %. V ní jsou rozpuštěné i mnohé složky sušiny. Ve vodě probíhají všechny chemické procesy plodin. [2]

1.1.2 Cukry

V ovoci je obsaženo od 0,5 do 25 % cukru. Množství cukru kolísá nejen v plodech různých druhů a odrůd, ale i v plodech stejné odrůdy, získaných z různých podmínek klimatických a půdních. [1]

1.1.3 Pektinové látky

Průměrný obsah pektinových látek v ovoci je 0,2–0,6 %. [2]

Pektinové látky se vyskytují v nezralém ovoci pevně vázané na celulosu. Tyto tzv. pektocelulosity se štěpí na protopektin, které se dále rozkládají na pektiny rozpustné ve vodě. [2]

1.1.4 Organické kyseliny

Organické kyseliny jsou další významnou složkou ovoce a zeleniny. Dodávají jim typickou chuť, chrání je i před některými mikroorganismy. [2]

Nejrozšířenější organické kyseliny jsou: kyselina jablečná, vinná a citrónová, které se nazývají také ovocnými kyselinami. V některých druzích ovoce se vyskytuje v nepatrném množství i kyselina jantarová, šťavelová, salicylová, benzoová a mravenčí. [1]

1.1.5 Třísloviny

Tříslovin je v rostlinách velmi mnoho, vyskytují se v listech, v plodech, v kůře, ve dřevě, v kořenech i v patologických nádorech. Třísloviny v ovoci mají značný chuťový význam, neboť způsobují trpkou stahující chuť (u jeřabin, trnek, dřínků, střechy). [1]

Třísloviny jsou skupinou látek, které se sice ve zdravém ovoci vyskytují v bezbarvé formě, ale po poškození nebo při fyziologických nemocech se rychle okysličují a dostávají hnědou barvu. [2]

1.1.6 Barviva

Barvy ovoce a zeleniny jsou hlavně zastoupeny třemi skupinami barviv, chlorofyly, karotenoidy a anthocyaniny, odpovídající zelené, oranžové a červené až k purpurově modré barvě. [4]

1.1.7 Dusíkaté látky

Dusíkaté látky v rostlinách jsou velmi rozdílné a mohou být rozděleny na bílkoviny, aminokyseliny, amidy aminokyselin, dusíkaté zásady, soli amoniaku a kyseliny dusičné. [1]

1.1.8 Etherické oleje (silice)

Vůně plodů způsobují etherické oleje (silice). Etherické oleje jsou v ovoci uloženy hlavně ve slupce. [1]

1.1.9 Vitamíny

Vitamíny jsou skupinou chemicky rozmanitých látek, které jsou nevyhnutelné pro výživu lidského organismu. Když není v potravě dostatek vitaminů, lidský organismus onemocní, trpí avitaminosou. [2]

1.1.10 Minerální látky

Ovoce obsahuje kromě uhlíku, vodíku, kyslíku a dusíku, které tvoří organickou část plodu, též jiné prvky, nazývané popelovinami. Při spalování ovoce zůstávají vždy malá množství těchto minerálních látek jako popel (0,24 až 1,16 % podle druhu ovoce). [1]

1.2 Vývoj rostlin a plodu

Během života rostlin probíhají v jejich těle neustálé změny. Jsou jednak kvantitativní, při nichž rostlinné hmoty přibývá (růst), jednak kvalitativní, jimiž se rostlina mění ve svých vnitřních vlastnostech (vývoj). Počátek těchto změn nastává probuzením zárodku působením vnějších podmínek, jemuž říkáme klíčení. [5]

1.2.1 Klíčení

Klíčení ve fyziologickém pojetí začíná příjmem vody semenem a končí začátkem prodlužujícího růstu radikuly v embryu. Růst klíčící rostliny není tedy již klíčením ve fyziologickém smyslu. Klíčení je spojeno s hydratací proteinů, subcelulárními strukturálními změnami, zvýšenou respirací a s počátkem prodlužování buněk radikuly. Mobilizace zásob v semeni ve prospěch růstu klíčící rostliny je tedy již vlastní součástí procesů následujících po začátku růstu radikuly. Signál pro tuto mobilizaci vychází z embrya a může mít giberelinovou povahu. [7]

Enzymy bourající zásoby v endospermu vycházejí při tom především z aleuronové vrstvy a z endospermu. Tím je zabezpečován přívod rozpustných živin ze zásob semene. Je – li současně zajištěn i přívod kyslíku, vhodná teplota a případně další nezbytné podmínky, embryo roste. Podzemní dělohy po vyčerpání živin odpadají, jindy však dělohy zezelenají a představují první asimilační orgány zelené rostliny. [6]

Škrob je nejčastější zásobní látkou. Na jeho štěpení se vedle enzymů glykolysy podílejí především amylasy (α -amylasa a později β -amylasa), fosforylasy a maltasy. Syntéza α -amylasy *de novo* souvisí s účinkem kyseliny giberelové. Její biosyntéza, jak bylo prokázáno nejdříve u ječmene, probíhá ve štítku embrya a později v celém embryu. Embryo uvolňuje gibereliny do aleuronové vrstvy endospermu, kde aktivuje geny pro syntézu hydrolytických

enzymů. Tyto enzymy jsou pak transformovány z aleuronové vrstvy do endospermu. Často jsou zásobními látkami v semenech i tuky. Jsou rozkládány lipasami. [8]

Bílkoviny jsou u některých semen hlavními zásobními látkami. Obsahují značné množství glutaminu, argininu a asparaginu. Jsou štěpeny proteasami a vzniklé jednodušší sloučeniny pak peptidasami na aminokyseliny a amidy. Ionty NH_4^+ , které během klíčení vznikají hydrolýzou glutaminu a asparaginu, se zabudovávají do různých organických sloučenin, např. i do nukleových kyselin. Purinové nukleotidy jsou štěpeny nukleasami, čímž se tvoří substráty pro syntézu cytokininů. [8]

a) Vnější podmínky klíčení

Voda je nezbytná pro zbobtnání semen, jež předchází jejich klíčení. Pro ně je nezbytná energie připravována ve formě ATP tvořeného substrátovou nebo oxidační fosforylací. Kyslík je proto podmínkou klíčení s výjimkou rostlin klíčících pod vodou. Teplota se při klíčení uplatňuje jako při růstu vůbec. Minimum, optimum a maximum teplotní tu závisí na fylogenetickém přizpůsobení příslušných druhů. [7]

Světlo není většinou podmínkou klíčení semen, u některých semen však podstatně urychluje klíčení, takže tma pak působí na klíčení zábranně. [6]

b) Vnitřní podmínky klíčení

Některá semena neklíčí, i když jsou živá a mají splněny vnější podmínky (voda, teplota, kyslík, popř. světelné vlivy). Pak mluvíme o vnitřních podmínkách klíčení. [7]

Sem náleží především nerozpustnost vnějších vrstev semen nebo plodů pro vodu. V tomto případě testa brání svou vrstvou palisádového sklerenchymu zbobtnání semen, která označujeme jako „tvrdá“. Zbobtnání pak umožní narušení testy kyselinou sírovou nebo pískem, případně rozbitým sklem. [7]

Podstatně může oddalovat klíčení i ztížená výměna kyslíku a kysličníku uhličitého. [6]

Nejčastější příčina neklíčení živých semen i při splnění vnějších podmínek klíčení je však vysoký obsah inhibičních látek v semenech. Může jít o kyselinu abscisovou, kávovou, ferulovou, kumarin, skopoletin a další. [7]

1.2.2 Růst

Růst je rozmnožování živé hmoty buněk. Rozumíme jím ireversibilní kvantitativní změnu spojenou s funkcemi živé hmoty a zvětšováním objemu živých částí rostlin. Růst každého rostlinného druhu se projevuje v růstu jeho buněk. Jde o dělení buněk, růst plazmy a prodlužování buněk. Následuje diferenciací (proces vývojový). První fázi nazýváme embryonální, druhou prolongační (prodlužovací). Další, třetí růstovou fází tzv. diferenciací – charakterizuje již hlavně růst blány buněčné do tloušťky, při čemž se pletivo počne rozlišovat ve složky vodivé, mechanické, krycí, zásobní, asimilační, vyměšovací a další. [5, 6, 7]

a) embryonální růstová fáze

Embryonální růst se děje v lodyžních i kořenových apikálních meristémech i v interkalárních a sekundárních meristémech. Je charakterizován dělením meristematické buňky mateřské. Vzniklá dceřiná buňka vyrostle růstem plazmy do přibližné velikosti mateřské buňky, přičemž dojde ke zdvojení plazmatických substancí a struktur. [7]

U kořenů přechází embryonální fáze přímo v prodlužování, ale u lodyh je mezi embryonální a prodlužovací fází vsunuta ještě tzv. fáze morfologická, v níž vznikají na povrchu lodyžního

meristému jako hrbolky listové základy složené rovněž z meristematických buněk. Postavení a počet listů jsou tak od počátku dány. [6]

Embryonální růst trvá na rozdíl od prodlužovacího velmi dlouho. [7]

b) prodlužovací (objemová) růstová fáze

Během prodlužovací růstové fáze se buňka prodlouží 10 až 50krát, což se děje především na podkladě přijetí vody a zvětšování vakuoly. Roztažlivost stěny buňky stoupá pod vlivem auxinu, takže dojde osmotickým přijetím vody k plastickému roztažení stěny buněčné, po němž v ní následuje syntéza polysacharidů. [7]

Velkou periodou růstu rozumíme jev, že buňka nebo celý orgán, resp. celá rostlina roste nejprve zvolna, pak rychleji a posléze opět pomaleji, až se růst zcela zastaví. [6]

Stejně jako embryonální fáze probíhá pouze v meristematických pletivech, je fáze objemového růstu soustředěna do určitých oblastí nazývaných růstové zóny. Z hlediska lokalizace na rostlině rozeznáváme tedy tři typy růstu: apikální (stonek a částečně kořen), bazální (listy) a interkalární (stébla trav a částečně kořen). V některých orgánech trvá růst vlastně po celou dobu ontogeneze a nazýváme je orgány s neukončeným růstem (kořen, stonek), v jiných je po určité době a ty se nazývají orgány s růstem ukončeným (listy). [8]

c) diferenciaci

Diferenciací rozumíme přeměnu embryonální buňky ve strukturně a funkcionálně specializovanou buňku trvalého pletiva. První krok vedoucí k diferenciaci spočívá v tom, že jedna embryonální buňka se počne prodlužovat, zatím co druhá zůstane v embryonálním stavu. Cesty vývoje jsou každému druhu dány vlastní genetickou informací, tedy prostřednictvím genů. Průchod každou vývojovou etapou je charakterizován specifikou bílkovin, resp. enzymů geneticky kódovaných. Během vývoje rostlin tak dochází k postupnému zapojování nových genů, čímž vznikají enzymy usměrňující diferenciaci. [7]

Determinace, tj. určení cesty vývoje každé buňky, se děje pod vlivem faktorů vnitřních a vnějších. K vnitřním náleží přirozené růstové regulátory (fytohormony), k vnějším především světlo, teplota, tíže zemská, voda a další výživné vlivy. [7]

Vliv faktorů prostředí na růst rostliny

a) teplota

Rostliny jsou ke změnám teploty velmi citlivé; teplotu můžeme změnit jen v poměrně úzkém rozmezí (přibližně 5–35 °C), aniž bychom rostliny poškodili. [8]

Pro růst každé rostliny jsou důležité tzv. kardinální body: minimum teploty, optimum teploty a maximum teploty. V minimu teploty se růst zastavuje, v optimu roste nejrychleji a v maximum se růst opět zastavuje. Tyto kardinální body se však při adaptaci rostliny k novým podmínkám prostředí mohou posouvat. [9]

Při teplotách nad 40 °C vznikají v rostlinných pletivech jedovaté látky typu toxinů a při teplotách kolem 50 °C dochází ke koagulaci proteinů, k porušení proteinolipidního komplexu. Při mrznutí buněk se vytvářejí v mezibuněčných prostorách krystalky ledu. Voda potřebná k jejich růstu je odebírána základní cytoplazmě. Ta se tedy čím dále, tím více zbavuje vody (= dehydratace) a buněčná šťáva se ve vakuolách zahušťuje. Porušuje se normální metabolismus buněk, vznikají jedovaté látky typu toxinů, až nakonec dojde k nevratné koagulaci cytoplazmy a buňky odumírají. [9]

b) ozáření

Při působení záření na růst rostlin musíme rozlišit jeho intenzitu, tj. kvantitu, a jeho kvalitu čili vlnovou délku. U fotosyntézy hraje důležitou roli energie slunečního záření. Na morfo-genetické a pohybové procesy rostlin však působí i jeho kvalita, tj. spektrální složení a především doba jeho působení, i periodicitu střídání světla během dne, což rostlina vnímá fotoreceptory a vede k určité reakci rostliny. [9]

c) voda

Při dehydrataci pletiv vlivem půdního nebo atmosférického sucha se růst rostlin zpomaluje. Zvláště důležitá je voda v prodlužovací fázi růstu orgánů. Jestliže v této fázi nemají buňky dostatek vody, ukončí předčasně uvedenou fázi a nedorostou do normální délky. [9]

d) složení vzduchu a půdního roztoku

Množství kyslíku ve vzduchu je pro růst nadzemních orgánů rostlin nadbytečný zvláště proto, že rostliny samy kyslík produkují fotosynteticky. Nedostatečné provzdušňování půdy snižuje růst kořenů a přijímání roztoků minerálních látek z půdy. [9]

Množství CO₂ ve vzduchu (již 0,04 %) má vliv na rychlost fotosyntézy. Jestliže je jeho množství zvýšeno na 5 %, rostliny zpomalují růst, až jej při 15 až 30 % zcela zastaví. Zvýšením obsahu CO₂ v prostředí se snižuje rychlost dýchání, což je zvláště důležité při uskladnění ovoce nebo zeleniny, kdy ztráty sacharidů vzniklé dýcháním jsou minimální. [9]

e) další faktory

Z komplexů dalších vnějších podmínek působících na růst lze zde uvést zemskou gravitaci, která působí na směr růstu kořenů i stonků. [9]

Růstové regulátory – fytohormony

Na základě určitých analogií s působením hormonů živočišných je pět skupin endogenních růstových regulátorů považováno za rostlinné hormony. Jsou to auxiny, cytokininy, gibbereliny, kyselina abscisová a etylen. [8]

Můžeme tedy definovat rostlinné hormony jako látky, které ve velmi nepatrném množství v určité části těla rostliny vznikají a do jiné části jejího těla proudí, aby tam zprostředkovaly určité fyziologické pochody a zabezpečovaly vzájemné vztahy mezi jednotlivými složkami rostlinného těla. [6]

Jejich funkce může být buď stimulační nebo inhibiční. Často však tatáž látka působí na některé orgány či skupinu buněk, nebo v určitém koncentračním rozmezí stimulačně, v jiných případech inhibičně. Působení na biochemické a morfo-genetické děje v rostlinném těle je pak dáno součinností více regulačních faktorů. [37]

Fytohormon se váže na receptor (protein) na membráně a signál do buňky je přenášen systémem „poslů“ (second messenger) anebo fytohormon přímo proniká do buňky a váže se na tzv. vazebné místo v cytoplazmě a vzniklý komplex proniká do buněčného jádra, kde vyvolá změnu exprese některých genů. [9]

a) Auxiny

Hlavním auxinem je kyselina β -indolyloctová (IAA) vznikající z tryptofanu buď přes kyselinu β -indolylpyrohroznovou nebo přes tryptamin. Z přirozených indolických auxinů je známa i kyselina β -indolylmáselná a 4-chlorindolyloctová. Z neindolických přirozených

auxinů známe kyselinu fenyloctovou (PAA). Ze syntetických auxinů je nejdůležitější kyselina α -naftyloctová (NAA) a 2,4-dichlorfenoxyoctová. [7]

Auxiny stimulují dělení buněk a tvorbu adventivních kořenů (využití při zakořeňování řízků), ale brzdí růst pupenů a opad listů a plodů. Nejnápadnější působení auxinu je podpora prodlužovacího růstu segmentů stonků. [7]

Auxin je důležitý rovněž pro vyvíjející se plody. Nezralá semena syntetizují IAA, ta se hromadí v plodu a zvyšuje jeho schopnost atrahovat asimiláty. [10]

b) Cytokininy

Cytokininy se vyskytují v rostlinách jako volné látky a jako součást některých molekul tRNA, a to vždy vedle 3'-konce antikodonu. Takové tRNA vznikají již na úrovni polynukleotidů vnesením izopentenilového řetězce a následnou hydroxylací za vzniku *cis*-zeatinu (volné přirozené cytokininy se vyskytují výhradně v konfiguraci *trans*). Pro tuto změnu aktivní konfigurace a pro nízký obsah tRNA v buňkách se tyto RNA nepokládají za významný zdroj aktivních cytokininů. [8]

Přirozené cytokininy jsou deriváty adeninu. Z přirozených cytokininů je nejdůležitější zeatin a isopentenyladenin. Nejdéle známý je syntetický cytokinin zvaný kinetin (6-furfuryladenin). [7]

Cytokininy jsou látky, které v přítomnosti auxinů stimulují dělení buněk a podněcují diferenciaci pupenů a kořenů v kulturách *in vitro*. Cytokininy podporují větvení stonků a potlačují větvení kořenů, zpomalují stárnutí pletiv, brzdí odbourávání chlorofylu, RNA a bílkovin a zvyšuje odolnost rostlin k nepříznivým podmínkám prostředí. [7]

c) Gibereliny

Gibereliny jsou terpeny s 19 či 20 atomy uhlíku. Biosyntéza všech terpenů vychází z kyseliny mevalonové, která vznikne kondenzací 3 molekul acetylCoA. Kyselina mevalonová reaguje s ATP za současné dekarboxylace a dává vznik základních stavebních jednotek terpenoidů a steroidů, dimetylallylpyrofosfátu (DMAPP). Ten izomerizuje za vzniku izopentenylpyrofosfátu (IPP). Tyto dvě molekuly (DMAPP a IPP) spolu kondenzují za vzniku C₁₀-uhlovodíku geranylpyrofosfátu, který kondenzuje s další molekulou IPP za vzniku C₁₅-farnesylpyrofosfátu a dále C₂₀-geranylgeranylpyrofosfátu. Tato molekula je specifickými enzymy cyklizována za vzniku copalylypyrofosfátu a posléze přímého prekurzoru giberelinů *ent*-kaurenu. *Ent*-kauren prochází řadou tří následných oxidací, které dávají vznik nejprve GA₁₂-aldehydu a pak prvním giberelinu – GA₁₂. Z GA₁₂ lze různými reakcemi odvodit všechny známé gibereliny. [10]

Jde o fytohormony zvláště nápadně podněcující prodlužovací růst rostlin. Gibereliny se tvoří v místech aktivního růstu, zvl. v nejmladších listech, kořenových špičkách a v embryích semen. [6, 7]

Gibereliny jsou významným endogenním regulátorem klíčení (a tedy i dormance) semen. V embryu vyvíjejícího se semene se hromadí gibereliny ve vázané formě. Po nabobtnání semen se gibereliny uvolní z vázané formy a embryo začíná syntetizovat gibereliny *de novo*. [8]

Aplikace giberelinů indukuje kvetení u dlouhodobých rostlin, které ve vegetativním stavu vytvářejí přízemní listovou růžici. [8]

d) Abscisiny

K abscisinům náleží především kyselina abscisová (ABA). ABA je v rostlině syntetizována především v dospělých listech (v chloroplastech), také v semenech a kořenech. Rychlý účinek ABA je zřejmý v jejím účinku na uzavírání průchodů, kde je ABA vázána na receptory plazmatické membrány. Způsobuje redukci toku H^+ a snížení příjmu K^+ . ABA také zesiluje odpočinek pupenů i semen, urychluje stárnutí i opad listů i plodů a podílí se na geopercepci kořenů. [7]

Biosyntéza ABA vychází ze stejných prekurzorů jako biosyntéza giberelinů a obě biosyntetické cesty mají část společnou. U vyšších rostlin se syntéza ABA z řetězce syntézy terpenoidů odvětvuje na téměř místě jako syntéza giberelinů – u uhlovodíku C_{20} , geranylgeranylpyrofosfátu. Ten však nevyklizuje jako u giberelinů, ale dimerizuje a dává vznik karotenoidům (violaxantinu, zeaxantinu). Karotenoidy jsou poté oxidačně (fotolyticky) štěpeny za vzniku dvou molekul xantinu a dialdehydu C_{10} . Xantin je nakonec oxidován na kyselinu abscisovou. [8]

e) Ethylen

Ethylen vzniká ve vyšších rostlinách a ve většině rostlin nižších z aminokyseliny L-metioninu. Jako první meziprodukt vzniká S-adenozylmetionin (SAM), který je v další reakci přeměněn na kyselinu 1-aminocyklopropan-1-karboxylovou (ACC) a metyltioadenozin. ACC je pak oxidována za vzniku ethylenu, oxidu uhličitého a kyanovodíku. Přeměna SAM na ACC je katalyzována enzymem ACC-syntasou. [8]

Ethylen zpravidla inhibuje dlouhivý růst (typické je to u klíčnicích rostlin hrachu), urychluje zrání plodů a odlučování listů i plodů. [7]

f) Brasinosteroidy

Jedná se o steroidy chemicky podobné cholesterolu a zvířecím pohlavním hormonům. Brasinosteroidy již za velmi nízkých koncentrací působí na prodlužování a dělení zejména stonkových buněk. Zpomalují také odpad listů a podporují diferenciaci xylému. Jejich účinky jsou natolik podobné auxinu, že rostlinným fyziologům trvalo několik let než akceptovali, že se jedná o dva rozdílné typy hormonů. [38]

g) Ostatní růstové regulátory

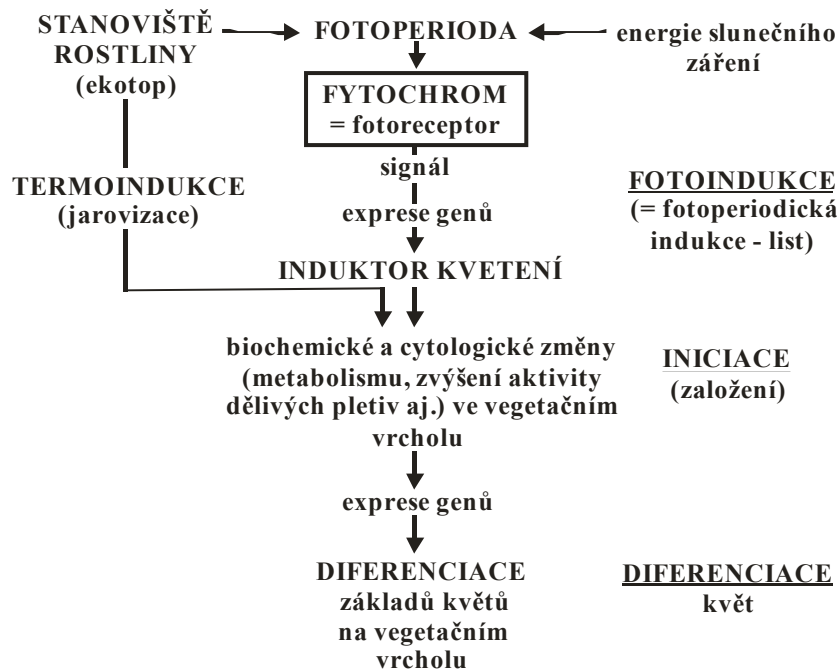
Řadíme sem tzv. biosy (bios-faktory) nezbytné pro embryonální vývoj rostlin. Mezi tyto faktory patří biotin (vitamín H), aneurin (vitamín B1), kyselina nikotinová (vitamín PP), riboflavin (vitamín B2), kyselina askorbová (vitamín C), tokoferol (vitamín E) a další. Další regulační funkci mají také inhibitory. Fenolické látky s inhibičním účinkem jsou různé deriváty kyseliny hydrobenzoové (kyselina salicylová, vanilín), kyseliny skořicové (kyselina kávová), deriváty kumarinu, flavonoidy a další látky. [37]

1.2.3 Tvorba květů a plodů

Tvorba květů

Kvetení je etapa ontogeneze rostliny, kdy z fáze vegetativní přešla do fáze generativní. Pro tvorbu květů je třeba nejdříve květní indukce (= proces, kdy buňky apikálního meristému místo listů vytvářejí modifikované listové útvary květu) za působení určitých indukčních podmínek, určitého rozpětí teplot (termoindukce) a vystavení rostliny záření, popř. určité délce dne (fotoindukce). Pak teprve následuje založení květního primordia čili iniciace květu,

květních primordií v meristémech, až dochází k diferenciaci jednotlivých částí květu, popř. květenství. [11]



Obrázek 1: Schéma tvorby květů [11]

Během své ontogenese kladou rostliny různé nároky na své prostředí. Nejsou – li tyto podmínky splněny, rostlina zpomalí nebo zastaví svůj vývoj, tj. přechod do květu. [6]

a) Jarovizace (termoindukce)

Různé typy rostlin podle reakce na jarovizační chlad – z fyziologického hlediska je nutno rozlišit druhy chlad vyžadujících rostlin, u nichž:

- vliv nízké teploty má charakter induktivní – v tom případě je třeba tyto rostliny vystavit po určitou dobu chladu, ale pak vyšším teplotám příznivým pro růst, během něhož dojde ke květní indukci; přímý – v tom případě musí být rostliny vystaveny chladu až do vytvoření květních primordií
- požadavek na chlad má charakter obligátní (kvalitativní) – v tom případě jde o rostliny, které jsou – li pěstovány při teplotě převyšující nízkou teplotu potřebnou pro průběh jarovizace, nevykvetou; fakultativní (kvantitativní) – v tom případě jde o rostliny, které jsou – li pěstovány při teplotě převyšující nízkou teplotu potřebnou pro průběh jarovizace, nakonec květy vytvoří, ale se zpožděním. [11]

Tedy jarovizace, působí sumou nízkých teplot a nejčastěji podmiňuje citlivost rostliny k fotoperiodě jako k signálu pro kvetení. [11]

Jarovizační efekt (stimul) je lokalizován v apikálních meristémech čili je v podstatě nepohyblivý a dělivá pletiva z jarovizovaných meristémů si udržují jarovizační meristémy. [11]

Pokud není jarovizační proces ukončen, může být účinek nízkých teplot zrušen působením teplot vyšších. Tomuto jevu se říká dejarovizace. Avšak nejen vyšší teplota přerušující chlad během jarovizace, i vyšší teplota předcházející jarovizačnímu chladu narušuje průběh jarovizace (antijarovizace). [6]

Nejarovizované rostliny je možno v některých případech přivést do květu aplikací giberelinu. Požadavek chladu během jarovizace může být někdy nahrazen vyšším světelným požitkem, přičemž může jít o vyšší intenzitu světla i další fotoperiodu. [6]

b) Fotoperiodismus (fotoindukce) – přizpůsobení rozdílné délce dne a noci

Fotoperiodické podráždění čili fotoperiodický stimul je přijímán vzrostlými (dospělými listy) a z nich se šíří do vegetačního vrcholu, kde se místo listů zakládají květy. Fotoperiodický stimul na rozdíl od jarovizačního je pohyblivý. Pro využití fotoperiodismu je důležitá fotoperiodická indukce, tj. počet dní, po něž je rostlina vystavena určité fotoperiodě. Počátek morfogeneze květu je spjat s poklesem auxinů a nápadným vzestupem endogenních giberelinů. [11]

Auxin většinou zpomaluje květní diferenciaci, a zpožďuje tedy i vykvétání rostlin. Gibereliny jsou dosud jediné známé látky, které vyvolávají kvetení i v takových případech, kdy rostliny neprošly obdobím nízkých teplot nebo dlouhou fotoperiodou. Rovněž studie endogenních giberelinů z indukovaných rostlin potvrzují přímou účast v květní morfogenezi a při zabezpečení vývoje tyčinek a korunních lístků. [8]

Květní stimul se vlastně skládá jednak z giberelinu, jehož je třeba k prodlužování květních stvolů, jednak z dalších látek hormonální povahy, jež označujeme termínem anteziny, a jichž je třeba k vlastní květní tvorbě. [6]

Příjem (recepce) fotoperiodického signálu zprostředkuje fytochrom. Jeho aktivace podmiňuje tzv. květní stimul v našich podmínkách v souladu s endogenním rytmem kvetení. Květní stimul je veden z listů do vrcholových a úžlabních meristémů stonku a vlivem květního stimulu zde dochází k zakládání květenství nebo pouze vrcholového květu. [11]

Fotoperiodická indukce zastaví vegetativní růst stonku schopného teoreticky neomezeného růstu a vyvolá přestavbu jeho vegetačního vrcholu v květní primordium až v modifikované listy květu nebo květenství. [11]

Vznik jednotlivých morfologických etap tvorby květu je podmíněn funkcí čtyř skupin genů, které můžeme označit písmeny A – D. Geny skupiny A určují vznik kalichu, interakce genů skupiny A a B zajistí založení a diferenciaci koruny, geny skupiny B a C pak vznik tyčinek a geny skupiny C vznik pestíků. Geny skupiny D zajišťují v pestíku vývoj vaječných buněk. [11]

Tvorba plodů

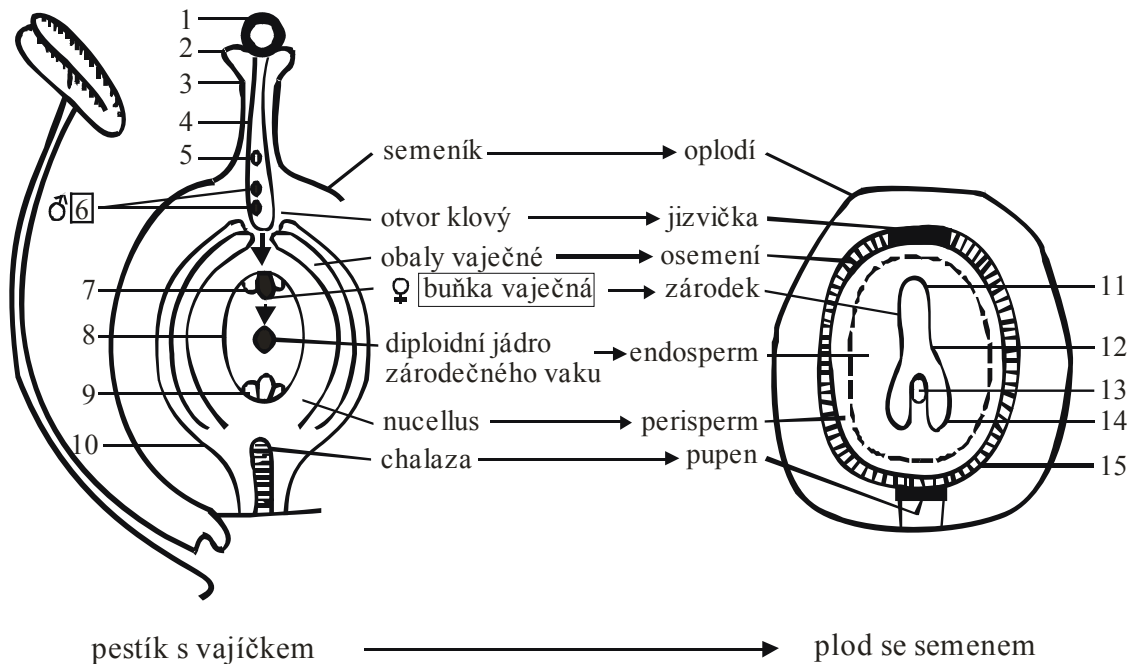
Přenos pylu z prašníku na bliznu nazýváme opylením. Uskutečňuje se buď hmyzem (a pak mluvíme o hmyzosprašnosti, entomofilii), nebo větrem (a pak mluvíme o větrosprašnosti, anemofilii). [8]

Známe dva základní druhy opylení, a to:

- autogamie (samosprašení), tj. opylení vlastním pylem (jestliže se květ ani neotevře = kleistogamie)
- zoogamie (cizosprašení), tj. opylení cizím pylem (z jiného květu); na téže rostlině = geitonogamie nebo z jiné rostliny = xenogamie. [11]

Po uchycení na blizně pylové zrno záhy klíčí. Klíčným pórem v exině prorůstá pylová láčka a proniká do čnělky. Růst láčky je vrcholový a závisí na přísunu energetických a stimulačních látek vlastních i látek z vnějšího prostředí. Růst je ve značné míře závislý na mRNA, syntetizované ještě ve zrajícím pylu. Krátce po vyklíčení se do láčky přemísťují vegetativní

jádro i generativní buňka nebo již rozdělené dvě spermatické buňky. Pylová láčka proniká do semeníku a k vajíčkům. [8]



Obrázek 2: Schéma diferenciacie pestíku s vajíčkem a vznik plodu se semenem: 1 – pylové zrno, 2 – blízna, 3 – čnělka, 4 – pylová láčka, 5 – jádro vyživovací, 6 – spermatické buňky, 7 – pomocné buňky, 8 – zárodečný vak, 9 – buňky protistojné, 10 – vajíčko, 11 – základ kořene, 12 – podděložní část stonku, 13 – vzrostný vrchol, 14 – dělohy, 15 – semeno. Oplození spermatickými buňkami je naznačeno šipkami. [11]

Pylová láčka prorůstá čnělkou do semeníku, kde jedna spermatická buňka splýne s oosférou (buňkou vaječnou) a dává vznik zárodku (embryu) semene a druhá spermatická buňka splývá s diploidním jádrem zárodečného vaku a dává vznik živnému pletivu (endospermu) semene. Splynutím gamet (pohlavních buněk) vzniká zygota a jejím dělením zralý zárodek, uložený v semenu. Základem embrya však nemusí být vždy jen zygota, ale haploidní buňka gametofytu nebo i diploidní buňka nucellu (živného pletiva) a obalu vajíčka a dokonce u některých rostlin se mohou diferencovat embrya ze somatických buněk listů. Embryo většiny krytosemenných rostlin vytváří několikabuněčný lineární útvar, později přecházejí v útvar globulární, srdcovitý, hruškovitý až torpedovitý, a tak získá tvar zralého embrya. Embryo pozvolna dorůstá a když degeneruje poutko, kterým vajíčko přisedá na placentu semeníku, končí přivádění živin cévním svazkem v poutku a obaly vajíčka se mění v osemení, a tak vzniká semeno. [11]

Navození až klidového stavu zralého semene, schopného přečkat vysušení v životaschopném stavu, umožňuje zobecnit dvě fáze:

- fáze zrání čili maturace, kdy klesá obsah vody, zvyšuje se obsah ABA a akumulují se zásobní proteiny, lipidy i polysacharidy
- fáze přerušení poutka, kdy dále klesá obsah vody v semenu, mizí mRNA pro zásobní proteiny, syntetizují se specifické proteiny především proti vodnímu stresu, proti vysušení, narůstá obsah sacharosy, rafinosy aj. oligosacharidů, minimalizuje se metabolismus a diferencuje se osemení. [11]

Stěna semeníku se mění v oplodí a to, roste – li ve všech směrech, vzniká kulovitý plod, roste – li však více v jednom směru, vzniká jednostranně protáhlý plod. [11]

U některých druhů rostlin se mohou plody tvořit bez oplození vajíčka, aniž došlo k nějakému umělému zásahu – přirozeně partenokarpicky. Mohou tu nastat dva případy:

- plod se tvoří bez oplození, a to buď příležitostně a někdy úplně a pravidelně, takže je zcela bezsemenný (citrusy, banány, ananas)
- bezsemennost plodu je důsledkem abortace embrya, k níž dojde před dosažením zralosti plodu (vinná réva, třešně, broskve)

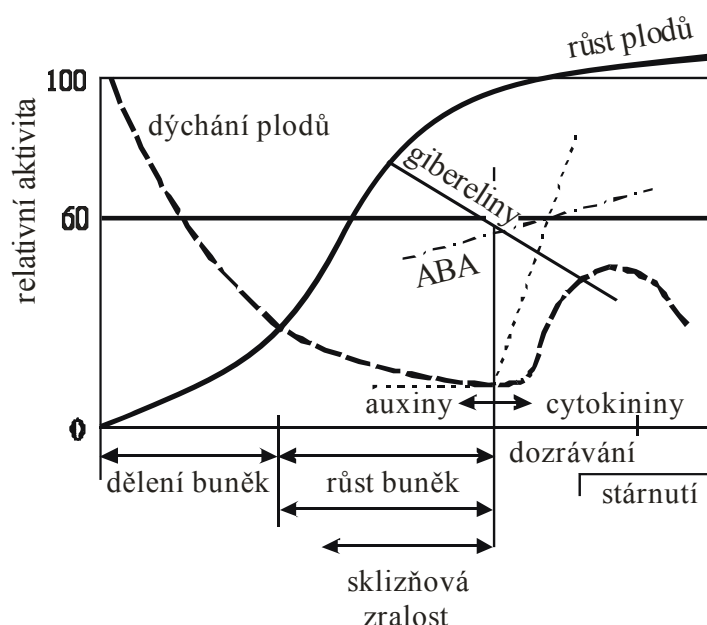
Přirozená partenokarpie může souviset s vyšším obsahem endogenního auxinu v semenících bezsemenných sort proti semeníkům sort semenných. Exogenním auxinem je možno dosáhnout umělé partenokarpie jen u některých druhů rostlin, a to např. rajčat, melounů, jahodníků. Zřejmě se na zakládání plodu mohou podílet také fytohormony neauxinové povahy. Především asi jde o gibereliny, neboť aplikací giberelinu lze dosáhnout umělé partenokarpie v mnoha případech, kde je exogenní auxin neúspěšný; např. u jablek a hrušek, třešní, višní a některých sort révy vinné. Avšak i cytokininy se ještě na zakládání plodů, které je spjato s čilým dělením buněk, podílejí. [6]

Oplozením vzniká vysoký metabolický gradient mezi vajíčkem a ostatními pletivy semeníku a navazuje spojení s vegetativními orgány rostlin. V semenech dochází ke zvýšené syntéze endogenních látek, které atrahují asimiláty a živiny do reprodukčních meristémů. [8]

V ranných etapách růstu plodů nejde jen o prodlužování, nýbrž především o dělení buněk. U dužnatých plodů jsou dvě hlavní růstová centra: semeník a embryo s endospermem. [6]

U plodů angreštu dělení buněk semeníku končí již při otevírání květů a konečná velikost plodů je výsledkem prodlužování a zvětšování objemu buněk. Pro další růst plodů se stávají významné látky z jiných částí rostlin, např. s asimiláty nebo živnými roztoky z kořenů. [8]

Fytohormonální substance, zvláště auxiny, jsou v rostoucím plodu patrně atraktivním centrem přitahujícím živiny do tkáně plodů a z tkáně okolních. Velikost plodů zpravidla klesá s jejich počtem na rostlině. [6]



Obrázek 3: Relativní změny hormonální rovnováhy a vliv některých regulátorů růstu na dozrávání plodů [9]

Růst plodů, např. malvic jabloně, lze sledovat v pěti etapách ve vazbě na dýchání plodů, které má tendenci klesající a v období zralosti dochází náhle ke zvýšení rychlosti dýchání (kdy dosahuje plod největší kvality) a pak se dýchání opět snižuje. Velikost plodů je dána genotypem rostliny, i počtem a velikostí buněk, i tvorbou intercelulár v pletivech. Zpravidla klesá s počtem plodů na rostlině, což lze chápat jako důsledek vzájemné konkurence plodů. [9]

Proces zrání nastupuje až v plodech, jejichž růst byl ukončen, a které také proto obsahují velmi nízkou hladinu auxinu. [6]

2. CHEMICKÉ, FYZIKÁLNÍ A BIOLOGICKÉ ZMĚNY BĚHEM ZRÁNÍ A SKLADOVÁNÍ

Zrání ovoce reprezentuje unikátní koordinaci vývoje a biochemických cest, které vedou ke změnám barvy, textury, vůně a nutriční kvality. [32]

2.1 Dýchání

Dýchání můžeme označit za biologickou oxidaci, kterou pletivo uvolňuje energii makroergických vazeb, kumulovanou v předcházejících fázích, do svých zásobních látek. Substráty zpracované při dýchání jsou v užším smyslu hlavně jednoduché glycidy – cukry a látky cukrům blízké příbuzné. Proteiny jako zdroj energie u ovocných plodů hrají podřadnou úlohu, ale jako složky enzymů cytoplazmy buněk se přímo i nepřímo podílí na výměně látek při dýchání. Centrálním metabolickým dějem při dýchání je glykolysa. Kromě tohoto cyklu se na přeměně dýchacích substrátů může podílet i pentosový cyklus, jehož energetický zisk je téměř ekvivalentní glykolyse kombinované s cyklem trikarboxylových kyselin (Krebsův cyklus = citrátový cyklus). [12]

Pro metabolizaci glukosy, respektive jejích fosforečných esterů, vzniklých rozkladem zásobních polysacharidů, katalyzovaných souběžně i v konkurenci polyasami a hydrolysami, až po vznik kyseliny pyrohroznové, není nutná přítomnost kyslíku, tedy odbourávání probíhá shodně v aerobních i anaerobních podmínkách. [12]

Všechny enzymy glykolytické dráhy se vyskytují v extramitochondriální rozpustné frakci buňky, v cytosolu. Glukosa vstupuje do glykolytické dráhy fosforylací na glukosa-6-fosfát, čehož se dosahuje působením enzymu hexokinasy. Jako donor fosforu je zapotřebí ATP, a v mnoha reakcích, které souvisí s fosforylací, reaguje jako komplex $Mg - ATP$. Využívá se při tom terminálního makroergického fosfátu v ATP a vzniká ADP. Glukosa-6-fosfát je přeměňován na fruktosa-6-fosfát fosfohexosaisomerasou, která uskutečňuje isomeraci aldosa – ketosa. Reakce je následována další fosforylací z ATP katalyzovanou enzymem fosfofruktokinase, která produkuje fruktosa-1,6-bisfosfát. Fruktosa-1,6-bisfosfát se štěpí aldolasou na dva triosafosfáty, glyceraldehyd-3-fosfát a dihydroxyacetonfosfát. Glyceraldehyd-3-fosfát a dihydroxyacetonfosfát jsou navzájem přeměňovány enzymem fosfotriosaisomerasou. [13]

Glykolysa probíhá oxidací glyceraldehyd-3-fosfát na 1,3-bisfosfoglycerát. Enzym odpovědný za oxidaci, glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasa, je NAD^+ – dependentní. Vodíky odstraněné v této oxidaci jsou přeměněny na NAD^+ vázané na enzym. NADH vytvořené na enzymu na něj není tak pevně vázané jako NAD^+ . Proto je NADH snadno vytěsněno další molekulou NAD^+ . Energie uvolněná v průběhu oxidace je uchována tvorbou makroergické skupiny se sírou, která se stane po fosforolyse makroergickou fosfátovou skupinou 1,3-bisfosfoglycerátu. Tento makroergický fosfát je zachycen jako ATP v další reakci s ADP, která je katalyzována fosfoglycerátkinase, čímž vzniká 3-fosfoglycerát. 3-fosfoglycerát je přeměněn na 2-fosfoglycerát enzymem fosfoglycerátmutase. Následující krok je katalyzován enolase a zahrnuje dehydrataci a redistribuci energie uvnitř molekuly za tvorby fosfoenolpyruvátu. Makroergický fosfát z fosfoenolpyruvátu je přenesen na ADP enzymem pyruvátkinase, čímž vznikají 2 moly ATP na 1 mol oxidované glukosy. Enolpyruvát vytvořený v této reakci je přeměněn spontánně na ketoformu pyruvátu. [13]

a) Anaerobní dýchání

Teprve v následující fázi přeměny kyseliny pyrohroznové, není – li v okolním prostředí, tedy v bezprostřední blízkosti dýchacích center k dispozici kyslík, dekarboxyluje se tato kyselina na acetaldehyd a jako redukční produkt vzniká etanol. Tento reakční sled označujeme jako anaerobní dýchání (intramolekulární dýchání), které můžeme vyjádřit sumární rovnicí:



Vedle etanolu se mezi vedlejší produkty vyskytuje acetaldehyd, acetoin, diacetyl, které se jednak hromadí v buněčné šťávě, ale také jako plynné složky se částečně uvolňují do okolního prostředí a dílem přispívají, buď samy nebo po náležitých reakcích s jinými látkami, k vůni a chuti. [12]

b) Aerobní dýchání

Před tím, než pyruvát může vstoupit do citrátového cyklu, musí být přenesen do mitochondrie prostřednictvím speciálního přenašeče pyruvátu, který umožňuje jeho průnik napříč vnitřní mitochondriální membránou. Uvnitř mitochondrie je pyruvát oxidativně dakarboxylován na acetyl-CoA. Reakce je katalysována několika různými enzymy, které působí postupně v multienzymovém komplexu. Souhrnně jsou označovány jako pyruvátdehydrogenasový komplex. [13]

Citrátový cyklus v podstatě představuje kombinaci molekuly acetyl-CoA se čtyřuhlíkatou dikarboxylovou kyselinou oxalacetátem, což vede k tvorbě šestiuhlíkaté trikarboxilové kyseliny, citrátu. Pak následuje řada reakcí, v jejichž průběhu se uvolní 2 molekuly CO_2 a regeneruje se oxalacetát. Během oxidace acetyl-CoA v cyklu se tvoří redukční ekvivalenty v podobě vodíkových atomů nebo elektronů jako výsledek aktivity specifických dehydrogenas. Tyto redukční ekvivalenty potom vstupují do dýchacího řetězce, kde vzniká velké množství ATP v procesu oxidativní fosforylace. [13]

Mitochondrie mají vnější membránu, která je permeabilní pro většinu metabolitů, vnitřní membránu, která je selektivně permeabilní a je poskládána do záhybů, čili krist, a prostor ohraničený vnitřní membránou – mitochondriální matrix. [13]

Vodík či elektrony postupují řetězcem v krocích od elektronegativních komponent k elektropozitivnějšímu kyslíku v rozmezí redox – potenciálu 1,1 V mezi NAD^+/NADH a $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$. Respirační řetězec mitochondrií se skládá z většího počtu redox – přenašečů, které tvoří řadu od NAD – dependentních dehydrogenas přes flavoproteiny a cytochromy k molekulárnímu kyslíku. Ne všechny substráty jsou napojeny do respiračního řetězce prostřednictvím NAD – dependentních dehydrogenas. Některé proto, že jejich redox - potenciál je pozitivnější, a jsou tedy napojeny přímo na flavoproteinové dehydrogenasy, jež jsou opět napojeny na cytochromy respiračního řetězce. Strukturně i funkčně jsou komponenty respiračního řetězce přítomny ve vnitřní mitochondriální membráně jako 4 protein – lipidové komplexy, procházející napříč membránou. [13]

Mitochondriální systém spřažení respirace s produkcí vysokoenergetického intermediátu ATP, se označuje jako oxidativní (aerobní) fosforylace. Každý z respiračních komplexů I, III a IV funguje jako protonová pumpa. Vnitřní membrána je neprostupná pro ionty obecně, speciálně však pro protony, které se hromadí vně membrány a vytvářejí tak elektrochemický potenciál napříč membránou. Ten se skládá z chemického potenciálu (rozdílu pH) a z elektrického potenciálu. Elektrochemický potenciál je využíván k pohonu ATP-synthasy lokalizované v membráně, která tvoří ATP v přítomnosti $\text{P}_i + \text{ADP}$. Fosforylační komplexy

zodpovědné za produkci ATP jsou roztroušeny po povrchu vnitřní membrány. Skládají se z několika podjednotek označovaných jako F_1 , které obsahují ATP-synthasu. Tyto podjednotky jsou napojeny na membránový proteinový komplex označovaný F_0 , který prochází membránou a je rovněž tvořen několika podjednotkami. Průchod protonů komplexu $F_0 - F_1$ vede k tvorbě ATP z ADP a P_i . ATP-synthetasa není hlavním krokem vyžadujícím energii, spíš jím je uvolnění ATP z aktivního místa. Tento krok může zahrnovat konfirmační změnu podjednotek F_1 . [13]

2.1.1 Respirační kvocient

Respirační kvocient je definován jako poměr množství uvolněného oxidu uhličitého k množství spotřebovaného kyslíku během dané periody dýchání:

$$Q_R = \frac{CO_2}{O_2} \quad (2)$$

Respirační kvocient u ovoce vzrůstá během zrání a to v klimakteriu. [39]

Pokud dýchání probíhá podle klasické rovnice disimilace cukrů, odpovídá 1 mol vydýchaného CO_2 spotřebě 1 molu kyslíku, a tedy, srovnají – li se objemy obou plynů, vyjadřuje tzv. respirační dýchačí kvocient hodnotu 1. Okysličují – li se vedle cukrů i jiné organické látky a neprobíhá – li oxidační proces až ke konečným zplodinám, bývá respirační kvocient jiný jako 1. Oxidují – li se organické kyseliny, je Q_R větší jako 1. Naopak při prodýchávání tuků, tříslovin a bílkovin je nižší než 1. [12]

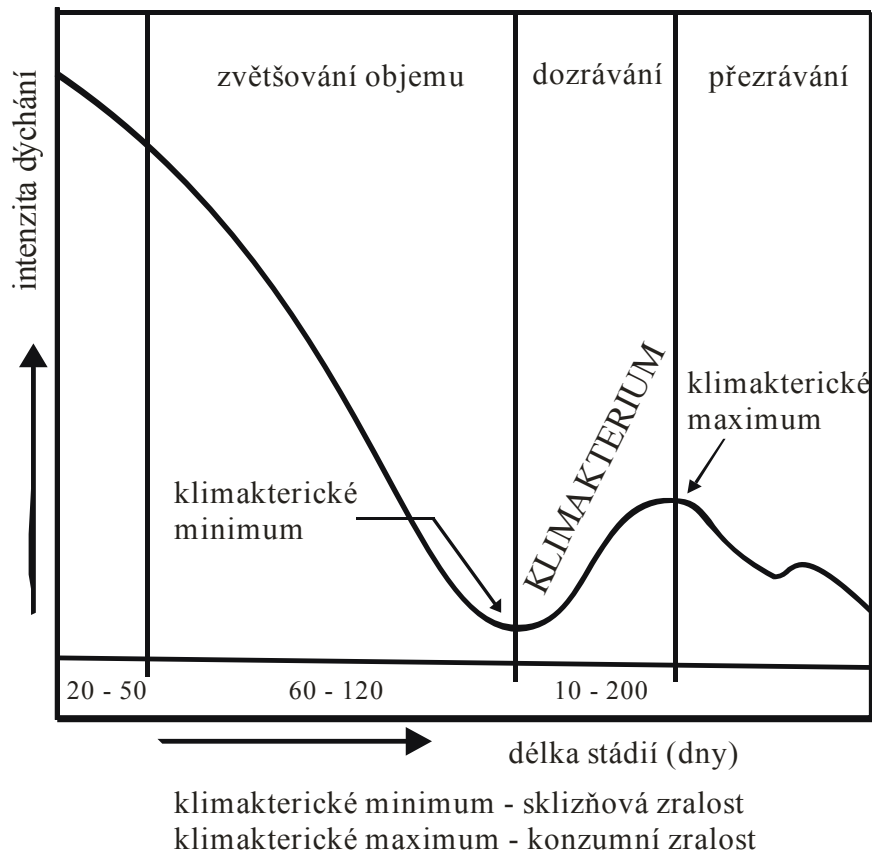
Živá rostlinná pletiva, která dýchají za normálního přístupu kyslíku a jako energetický materiál mají k dispozici jak cukry, tak organické kyseliny a třísloviny, spotřebovávají za nižších teplot přednostně cukry a třísloviny, kdežto ve vyšších teplotách nad $20\text{ }^\circ\text{C}$, prodýchávají přednostně kyseliny. V předklimakterickém období se u jádrového ovoce pohybuje kolem 1 a s postupujícím zráním dosahuje hodnot 1,2–1,5. [12]

2.1.2 Intenzita dýchání

Intenzita dýchání závisí na řadě faktorů – kromě přirozených rozdílů mezi ovocnými a zeleninovými druhy a odrůdami je regulována vnějšími faktory – teplotou, složením atmosféry, ale i vnitřními faktory – chemickým složením, strukturou pletiv, stupněm zrání a dalšími činiteli, které druhotně tyto ovlivňují. [12]

Během vegetace, bezprostředně po opylení (u plodů) dýchají mladé rostlinné organismy velmi intenzivně. Rychlost produkce CO_2 se postupně tlumí až k určité minimální hodnotě, která se časově shoduje se závěrem růstové fáze (tzv. klimakterické minimum). V následující fázi vybarvování plodů, sládnutí a měknutí dužniny tvorby vonných látek, tedy typických projevů zrání, se produkce CO_2 na přechodnou dobu nápadně zvýší. Tento první příznak stárnutí nebývá zpravidla spojen s větší spotřebou kyslíku, což vede ke zvýšení respiračního kvocientu. Po dosažení tzv. klimakterického maxima, tedy maximální hodnoty intenzity dýchání, které splývá s konzumní zralostí, pak rychle následuje pokles intenzity dýchání, který je u hrušek mnohem větší než u jablek. Tento zlom charakterizuje úplnou fyziologickou zralost, resp. počátek přezrávání plodů, tj. období, kdy plody jsou právě nejvhodnější ke konzumaci, avšak kdy se už nehodí ke skladování při nízkých teplotách a nebo v atmosféře obohacené CO_2 . Časový úsek mezi oběma charakteristickými znaky v dýchačí aktivitě – tzv.

klimakterium, je obdobím, které je předmětem uchování plodů, především chladírenského skladování. [12]



Obrázek 4: Průběh dýchání plodů během vývoje a zrání [12]

Ovoce sbírané v klimakterickém maximu je plně zralé a má skvělou organoleptickou kvalitu. Bohužel vhodnost pro skladování je značně limitována. Proto se ovoce obvykle sbírá zrající, ale nezralé, aby vydrželo skladování delší než šest měsíců. Naopak pokud je ovoce sebrané předčasně je pravděpodobné, že bude malé, bez barvy a nebude se vyvíjet plná chuťová paleta. Ovoce sebrané příliš měkké je velice citlivé na vnitřní rozklad. [30]

Je vhodné optimální periodu sklizně stanovit přesně. Tato optimální perioda sklizně pro dlouhodobé skladování odpovídá periodě, v které aktivita dýchání je minimální nebo trochu dříve. Předpověď optimální sklizňové periody je založeno na změnách několika chemických a fyzikálních změnách před sklizní. Hlavní charakteristiky ovoce popisující správnou dobu sklizně jsou tuhost, barva, stupeň změny škrobu, komponenty chuti (obsah cukrů, kyselost) aroma (estery a alkoholy) a produkce ethylenu. [30]

Bylo prokázáno, že u většiny plodin předchází vzestupu respirace vznik fyziologicky aktivních koncentrací olefinických olejů, jako je ethylen, v mezibuněčných prostorách plodu a že exogenní aplikace ethylenu nejenže zahájí období klimakteria u nezralých plodů, ale indikuje autokatalytický proces syntézy vlastního ethylenu. [12]

Ovoce je kategorizováno na základě jejich vlastností týkajících se zvýšené produkce ethylenu a zvýšení dýchací rychlosti na počátku zrání. [32]

Ovoce s rozdílným mechanismem zrání může být rozděleno do dvou skupin:

- klimakterické – jablka, banány, broskve, ve kterém je zrání doprovázeno rychlým vzrůstem dýchání za samovolného vzniku ethylenu. Malé množství ethylenu iniciuje klimakterický vzestup, ale nemá vliv na rychlost dýchání jakmile je klimakterium zahájeno.
- neklimakterické – citrusy, grepy, jahody, ve kterém nedochází k dramatickým změnám dýchání a produkce ethylenu zůstává na velmi nízké hladině. Rychlost dýchání se vyvíjí v závislosti na koncentraci ethylenu. To znamená, že rychlost dýchání vzrůstá se zvýšením koncentrace ethylenu a klesá když je ethylen odstraněn [14, 39]

Ale toto rozdělení nemusí být absolutní, třeba meloun může být klimakterický i neklimakterický a některé ovoce nazývané neklimakterické vykazuje zvýšené zrání v důsledku exogenního ethylenu. [32]

Vliv teploty

Snížením teploty se výrazně sníží dýchací rychlost produktu. [33]

Zvyšující se teplota může dýchání plodů podstatně urychlovat, zejména v klimakterickém období, neboť ovlivňuje jednak výšku klimakterického vrcholu, ale i časový interval mezi klimakterickým minimem a maximem, který se vlivem vyšší teploty během uložení zkracuje. U plodin, sklizených v předklimakterickém období, nebo těsně na jeho začátku, se klimakterické minimum projeví teprve po chladírenském skladování; plody z pozdějších sklizní, protože už klimakterickou fází zahájili během vegetace, reagují na nízkou teplotu, která ovšem nemá vedlejší účinky, klimakterickým vzestupem intenzity dýchání. [12]

Vliv okolní atmosféry

Každá plynná složka samostatně, v koncentraci odlišné od normálního složení vzduchu, a nebo při jejich souběžném účinku, zpomaluje proces dýchání a látkové výměny. K tomu, aby plod dozrál, potřebuje konstantní množství kyslíku, ať zraje pomalu či rychle. Také celkové množství CO₂, uvolněné od klimakterického minima do období klimakterického maxima, je stálé. [12]

Obsah kyslíku v okolní atmosféře pod 10 % úroveň dýchání ovlivňuje méně výrazně; další jeho snižování je účelné do 2–5 % koncentrace, neboť pak pod touto hladinou je koncentrační diference mezi vnější atmosférou a mobilní zásobou kyslíku v bezprostřední blízkosti dýchacích center zmenšena do té míry, že difúze kyslíku z vnější atmosféry zpravidla nestačí k aerobnímu průběhu dýchání. V této kritické koncentraci O₂, která v některých případech může být pokládána i za fyzicky škodlivou za příliš vysoké koncentrace CO₂, dosud nezatelně, ale přesto se aktivuje metabolický cyklus anaerobního dýchání, jehož podíl na celkové produkci dýchání je zřejmý z obsahu etanolu v pletivu. [12]

Jedním z projevů vyššího parciálního tlaku CO₂ je jeho nepřímý inhibiční účinek, který se projevuje začleněním atmosférického CO₂ do substrátů dýchání. Tímto mechanismem je plod schopen ve tmě karboxylační reakcí vázat volný CO₂ na kyselinu pyrohroznovou, kterou přímo vzniká kyselina jablečná reverzibilní katalyzovanou malátovou hydrogenasou podle rovnice:



Schopnost plodu poutat CO₂ a prostřednictvím kyseliny jablečné jej včlenit do látkové výměny, má význam pro uchovatelnost během skladování. [12]

Vyšší obsah CO₂ v prostředí inhibuje karboxylační reakce některých kyselin Krebsova cyklu, což vede k nadměrnému hromadění kyseliny oxaloctové v teplotním rozmezí 0–5 °C. Její zvýšená koncentrace tlumí činnost enzymu sukcinooxidasy, kterým se dehydrogenuje kyselina jantarová na kyselinu fumarovou. Tento biochemický stav má dva důsledky:

- jednak se v pletivu akumuluje kyselina jantarová – vyvolává následně poruchy výměny látkové a je příčinou tzv. poškození pletiv vysokým obsahem CO₂
- současně se zbrzdí přenos vodíkových iontů. [12]

Třetím biochemickým důsledkem vyššího obsahu CO₂ je inhibice transaminačních reakcí, která ovlivňuje syntézu proteinů. Tím se také vysvětluje zpomalení nástupu klimakteria a vzestupu intenzity dýchání, které, jak už bylo uvedeno, je symptomem klimakterické fáze. [12]

Vnitřní atmosféra plodu

Pro pochopení účinku teploty, koncentrace CO₂ a O₂ na látkové výměně je třeba znát i vztah mezi vnější atmosférou a jejich koncentracemi v mezibuněčných prostorách, jednak v plynné fázi, příp. rozpuštěné v buněčném roztoku. Výměna obou plynů s vnějškem je regulována propustností slupky, odpor parenchymatických pletiv je zanedbatelný, avšak velikost buněčných prostor ovlivňuje především vnitřní koncentraci, čím těsněji jsou buňky k sobě přimknuty, tím bude volný prostor menší. Dalším činitelem, který ovlivňuje složení vnitřní atmosféry, je teplota plodu, jenž úzce souvisí s intenzitou dýchání. [12]

Účinek ethylenu

Ethylen je jeden několika rostlinných hormonů, které ovlivňují růst a vývoj jako je zrání a stárnutí ovoce. Je to jednoduchý uhlovodík, který může difundovat z a do rostlinné tkáně z endogenních i exogenních (biologické, nebiologické) zdrojů. [38]

Všechny rostlinné buňky produkují malé množství ethylenu, nicméně cokoli co způsobuje stres v rostlinných tkáních bude stimulovat syntézu ethylenu. Mezi stresory se může zahrnout nadměrná ztráta vody, fyzikální poškození nebo mikrobiologické napadení. Klimakterické ovoce produkuje velké množství ethylenu během iniciace zrání a hormon pravděpodobně stimuluje a koordinuje fyziologické a biochemické změny, které se dějí v průběhu zrání. Expozice exogennímu ethylenu může vést k zrychlení zrání i stárnutí. [15]

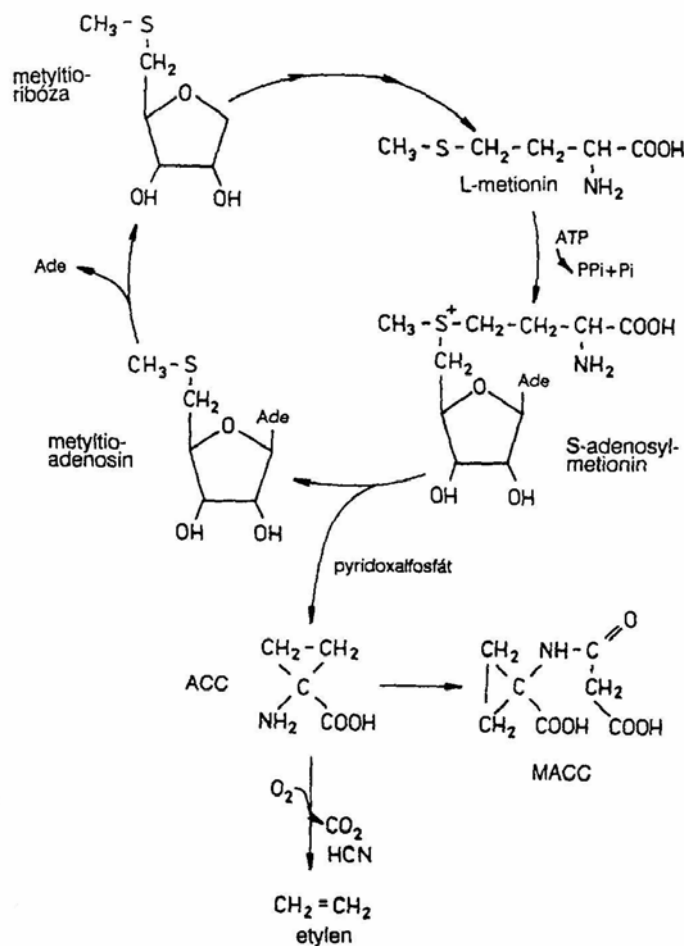
U klimakterického ovoce může ethylen indukovat velké a nevratné navýšení dýchání, které vede k zrání a měknutí. U neklimakterického ovoce ethylen indukuje vratné zvýšení dýchání. I velmi malé množství ethylenu vede k nárůstu dýchání a kažení. [33]

V rostlinách jsou definovány dva systémy produkce ethylenu. Funkce prvního systému je během růstu a vývoje a jako stresová odezva. Naproti tomu druhý systém funguje během stárnutí květů a zrání ovoce. První systém je autoinhibiční. Exogenním ethylenem inhibuje syntézu a inhibitory činnosti ethylenu může stimulovat produkci ethylenu. Na druhou stranu systém druhý je stimulovaný ethylenem a je proto autokatalytický. Inhibitory činnosti ethylenu brání produkci ethylenu. [32]

Biosyntéza ethylenu je pevně stanovena u vyšších rostlin. Ethylen vzniká z methioninu přes S-adenosyl-L-methionin (SAM) a cyklickou amino kyselinu 1-aminocyklopropan-1-karboxilovou kyselinu (ACC). ACC je tvořena z S-adenosyl-L-methioninu za přítomnosti ACC-syntasy a přeměna z ACC na ethylen se uskuteční za pomoci ACC-oxidasy. Při přidání ACC-syntasy a ACC-oxidasy se produkuje 5-methyltioadenosin, který je využit pro syntézu nového methioninu přes modifikovaný methioninový kruh. [14]

Vzrůst dýchání poskytuje ATP potřebné do methioniového kruhu a vede ke zvýšení rychlosti tvorby ethylenu bez zvýšení množství intracelulárního methioninu. SAM je důležitý methylový donor a je zapojen několikrát v celulárním metabolismu. Kroky doprovázející syntézu ethylenu jsou tvorba ACC a konverze na ethylen. [32]

Studie o mechanismu syntézy ethylenu podtrhují vliv atmosférického O₂, jehož přítomnost, bez ohledu na další reagující složky, je nezbytná. [12]



Obrázek 5: Schéma biosyntézy ethylenu [10]

Bylo vyvinuto několik sloučenin, které můžou blokovat činnost ethylenu v ovoci. A to tak, že se navážou na receptory ethylenu. 1-methyl-cyklopropen (1-MPC) je silný inhibitor ethylenu. Transgenní manipulace syntézy ethylenu přes vnitřní regulaci exprese ACC-syntasy a ACC-oxidasy bylo dosaženo v melounech a jablkách. [32]

2.2 Transpirace

Uvolňováním vodní páry vznikají spolu s ostatními látkovými složkami v plynné podobě i ztráty hmotnosti. Přenos hmoty z plodu do okolního prostředí je podmínkou zachování dynamické rovnováhy metabolismu a pouze regulací intenzity tohoto sdílení lze významněji ovlivňovat přirozené vlastnosti skladovaného produktu. Tedy ztráty transpirační voda, narušující dynamickou rovnováhu látkového systému, mohou být podle hloubky intenzity buď únosnou alternativou dalšího vývoje, v němž k odpovídajícím hlubokým změnám

v látkovém systému dochází jen zvolna, někdy až po dlouhodobém období, odpovídajícím přirozené uchovatelnosti druhu (biochemicky podmíněny a vhodně regulovatelný odvod vodních par), nebo rozhodujícím faktorem, který v pokročilejší fázi znamená biochemickou smrt pletiva, zřetelnou výrazným zhoršením jakosti. [12]

Velikost ztrát výparem vody ovlivňují jednak chemické a histologické vlastnosti plodu, zejména epidermálních vrstev, ale také mikroklimatické podmínky okolního prostředí. Samotný obsah v pletivu nemusí být rozhodujícím činitelem, neboť pro intenzitu výparu má význam jednak voda volná jednak voda imobilizovaná, nacházející se ve vnější části vodního obalu látkových koloidů. [12]

Významný difúzní odpor a tedy bariérové vlastnosti má slupka, zejména pak kutikula, její chemická a histologická stavba řídí únik transpirační vody z plodu během skladování. V závislosti na druhu a odrůdě se na sdílení vodní páry, ale i ostatních plynů podílí průduchy – jako vysoce specializované ústrojí v pokožce, umožňující komunikaci plynů mezibuněčných prostor přímo s okolní atmosférou, neboť průduchová štěrbina vede do větší intercelulární dutiny pod průduchem, která dále navazuje na soustavu intercelulár v pletivu. [12]

Z vnějších činitelů pak rychlost uvolňování vody z pletiv řídí parametry okolního vzduchu. Vodní pára odpařená v časovém intervalu, nezávisí na relativní vlhkosti, která se sice pro dané produkty uvádí nominálním rozsahem hodnot spolu s odpovídající hodnotou uložení, ale na koncentrační nebo tlakové diferenci vodní páry. Na styčné ploše povrchu produktu a okolní atmosféry se ustavuje téměř nasycený vzduch, který je zředován sací schopností suššího vzduchu vzdálenějších vrstev. Rychlost odvádění vodní páry v čase difúzním efektem, vyjadřuje sytostní doplněk (obecně definovaný jako rozdíl mezi maximálním nasycením vzduchu vodní parou tzv. nasycený vzduch a obsahem vodní páry daného vzduchu tzv. vlhký vzduch), který nabývá se stoupající teplotou vyšších hodnot. [12]

2.3 Tvorba těkavých aromatických látek

Pojmem aromatické látky rozumíme přirozenou směs těkavých organických látek potravinářských surovin a výrobků, které jim dávají charakteristické aroma, tedy subjektivní vjem, zprostředkovaný čichovými orgány. Z chemického hlediska to jsou alkoholy, estery, karboxylové sloučeniny, uhlovodíky, terpeny a nižší mastné kyseliny, aminy, acetaly a sirné sloučeniny. Typické aroma je integrující odezva širokého spektra složek, přičemž každá jednotlivá složka sama o sobě zcela nevyjadřuje dané aroma. [12]

Přirozené aroma ovocného druhu se tvoří v období typického zrání. Aromatické látky, přítomné v ovoci, jsou meziplodinami látkové výměny nebo jejich konečným produktem. [12] Mnoho plodů produkuje více než 100 těkavých aromatických látek, i když obecně velmi malé procento z nich je považováno za hlavní složky jedinečné vůně pro jednotlivé druhy ovoce. Těkavé aromatické látky jsou odvozené hlavně z metabolitů od mastných kyselin, aminokyselin a sacharidů. Minoritní, ale často důležité další sloučeniny pocházejí z šikimatové, fenylypropanoidové a isoprenoidové cesty. [36]

Sloučeniny, které vznikly přímo z metabolismu sacharidů, se mohou rozdělit na dvě skupiny: terpeny a furanony. Těkavé terpeny jsou hlavní složkou mnoha esenciálních olejů a furanony mají příjemné sladké aroma. Biosyntéza terpenů je spojována s isoprenoidovou cestou. Monoterpeny jsou pravděpodobně nejdůležitější třída sloučenin tvořící ovocné aroma odvozené od isoprenoidové cesty. Mnoho ostatních látek, jako jsou norisoprenoidy, jsou

odvozené od degradace karotenoidů produkované jako primární metabolity této cesty. Zdá se, že furanony vznikají z meziproductů sekundární cesty metabolismu sacharidů jako je pentosafosfátový cyklus.[36]

Mastné kyseliny jsou hlavními prekurzory těkavých sloučenin zodpovědných za aroma mnoha rostlinných produktů. Jsou katabolizovány dvěma hlavními oxidačními cestami: β -oxidace a lipoxygenasová (LOX) cesta. β -oxidace je hlavní metabolickou cestou tvorby primární vůně v ovoci, zatímco LOX cesta může vysvětlit vznik širokého spektra aromatických sloučenin u porušeného ovoce. Výsledné produkty β -oxidace acyl-CoA jsou později použity pro tvorbu esterů. Mnoho alkoholů, aldehydů, kyselin a esterů jsou produkovány z oxidační degradace linolenové a linoleové kyseliny, které slouží jako hlavní substráty pro LOX. [36]

Aminokyseliny mohou být, buď přímým prekurzorem aromatických sloučenin nebo nepřímým prekurzorem tvořící netěkavé látky, které potřebují sekundární enzymatickou transformaci. Metabolismus aminokyselin produkuje alifatické, rozvětvené nebo aromatické alkoholy, karbonyly, kyseliny a estery. [36]

V ovoci jsou zastoupeny alifatické a aromatické alkoholy. Metanol, odštěpený z pektinových látek zmýdelněním, je z části volný, jinak se váže esterovou vazbou na příslušnou kyselinu. Podobně i původ etanolu je dostatečně znám. Je produktem aerobní glykolysy, která souběžně probíhá s aerobní přeměnou, i když méně intenzivně. To vysvětluje přítomnost etanolu téměř ve všech ovocných druzích. Normální alkoholy – propanol, butanol, hexanol se tvoří z alifatických kyselin o stejném počtu uhlíků. Z vyšších mastných kyselin od C₆ (kapronová) do C₁₂ (laurová) je jedním ze štěpných produktů butanol a hexanol; z mastných kyselin o lichém počtu uhlíků vzniká pentanol a propanol, další produkce alkoholů z kyselin je velmi slabá. Metabolizací nenasycených mastných kyselin olejové a linolové byla zaznamenána tvorba hexanolu. [12]

Přítomnost aldehydů zřejmě závisí na konkrétních fyziologických podmínkách, zde reakce probíhají ve směru redukce aldehydů na alkoholy či naopak. Také aminokyseliny jsou prekurzory aldehydů prostřednictvím α -ketokyselin. [12]

Ketony jsou zastoupeny především acetonem, který bývá odvozován z acetoacetátu reakcí dvou molekul acetylkoenzymu A. [12]

Rozmanitost dosud identifikovaných esterů byla podnětem k řadě úvah o mechanismu jejich tvorby. Jedná se o spontánní vzájemnou reakci příslušného alkoholu a organické kyseliny. Pravděpodobně jsou reakce příslušného alkoholu s aktivovanou kyselinou ve formě acylCoA podle obecné reakce:



Příslušné acylCoA mohou mít např. biochemický původ přímo z mastné kyseliny, z dekarboxylované α -ketokyseliny a částečně i z lipidů. Alifatické kyseliny syntetizované metabolickým cyklem mastných kyselin se snadno esterifikují, méně aktivní jsou kyseliny s rozvětveným řetězcem. U alkoholové řady jsou dobrými substráty metanol, etanol a další normální alkoholy. [12]

Těkavé uhlovodíky, izolované z ovoce, můžeme rozdělit na 3 skupiny: alifatické, aromatické uhlovodíky a terpeny. [12]

Z jablek bylo izolováno přes 300 těkavých aromatických látek. Zrání jablek je spojeno s dramatickými změnami produkce těchto látek. Nejdůležitějšími složkami zralých jablek jsou ethyl, butyl a hexyl estery kyselin octové, butanové a hexanové. Tři estery jsou považovány za hlavní složky charakteristického jablečného aroma a vůně mnoha druhů, jsou to

butylacetát, 2-methylbutyl acetát a hexyl acetát. Biosyntéza esterů těkavých aromatických látek vyžaduje činnost ethylenu, ale i jeho vysokou produkci. [20]

Mastné kyseliny a lipidy často slouží jako prekurzory těkavých aromatických látek. Volné mastné kyseliny nebo uvolněné lipasami a metabolizovány enzymy z β -oxidace nebo lipoxygenasou jsou považovány za hlavní prekurzory esterových, alkoholových a aldehydových těkavých aromatických látek vznikajících během vývoje a zrání jablečných plodů. [21]

Lipoxygenasa může být hlavním mostem mezi ethylenem a biosyntézou těkavých aromatických látek v jablkách. Z linoleové a linolenové kyseliny lipoxygenasa vytvoří 13-hydroperoxydy ve slupce. Ty jsou dále štěpeny hydroperoxydlyasou za vzniku velkého množství hexanalů. Hexanal je oxidován lipoxygenasou na kyselinu hexanovou, která je přístupná pro syntézu ethylenu, kyseliny jasmonové nebo esterů. [20]

2.4 Metabolismus lipidů

I když u mnoha druhů ovoce jsou sloučeniny lipidů přítomny v relativně nízkém množství, jejich metabolismus je důležitý během posklizňového skladování, obzvláště když podmínky přepravy nejsou ideální. Změny lipidů v membránách jsou důležité v ontogenních procesech jako je reakce na stres, zrání a stárnutí. Nárůst lipidů s rychlostí dýchání u klimakterického ovoce je doprovázené nárůstem fosfatidylcholinu a fosfatidové kyseliny, a během postklimakterického stádia dochází k náhlému rozpadu (peroxidace) celkového množství lipidů. Proces stárnutí rostlinné tkáně je spojován s poklesem polynenasycených mastných kyselin, a každá taková změna je pravděpodobně doprovázená autolýzou membrány a ztrátou buněčné celistvosti. [39]

Fosfatidyllinoleové (-nové) kaskády v rostlinách vedou ke vzniku jasmonové kyseliny. Volné radikály vzniklé oxidací lipidů jsou na senzitivních subcelulárních místech a hrají esenciální roli v normálním vývoji rostlin. Oxidační enzymy, jako je lipoxygenasa, hydroperoxidlyasa, a hydrolytické enzymy, jako je lipasa a fosfolipasa, jsou velmi důležité v posklizňovém metabolismu. U ovoce hydroperoxidlyasa degraduje specifické hydroperoxydy a tvoří těkavé aromatické C_6 a C_9 aldehydy a další produkty. [39]

2.5 Změna zásobních látek

V průběhu vegetace se sacharidy, vytvořené asimilací listů, ukládají v plodech jednak ve formě jednoduchých cukrů, jednak polysacharidů. Tím že se přeměňují na nerozpustné složky, které nezvyšují osmotický tlak, se usnadňuje jejich přísun a snadné nahromadění. Za hlavní cukr, transportovaný z listů do plodů, se pokládá kromě jiných cukerných složek především sacharosa. Kromě pentos (arabiny, xylozy, ribózy) a hexos (fruktózy, glukózy, manózy, galaktózy) jsou přítomny disacharidy (sacharosa), polysacharidy (škrob, celulóza, hemicelulóza), jakož i deriváty cukru (sorbitol) a také kyselina galakturonová a pektinové látky. [12]

Po oddělení plodů od mateřské rostliny se přeruší přívod asimilátů a energie nutná pro další udržení rovnováhy látkové výměny se získává postupným odbouráváním dříve akumulovaných substrátů, zejména glycidové povahy a to v závislosti na podmínkách uložení. [12]

2.5.1 Škrob

Škrob se během růstové fáze akumuluje v ovoci a v pozdějších fázích zrání a vývoje je hydrolyzován na cukry. [30]

Škrob se nejprve usazuje v parenchymu těsně pod slupkou; postupně se rozšiřuje do centrální zóny. Dispozičně v obráceném smyslu se pak i enzymaticky rozkládají. α -amylasou a β -amylasou se štěpí vazby 1→4, působením α -amylasy vznikají dextríny, β -amylasou se odštěpují maltosové molekuly na konci řetězce. Po úplné degradaci škrobu jsou nutné nejméně dva další enzymy, z nichž jeden působí na vazbu 1→6 a druhý uvolňuje molekuly glukosy. Rychlost hydrolyzy závisí na počtu, velikosti a povrchu škrobových zrn, jakož i teplotě dozrávání. [12]

Koncentrace škrobu a míra degradace je odlišná mezi zónami tkáně. Koncentrace je největší na vnější slupce a nejnižší v dužnině. Degradace škrobu nastává ve stejný čas ve všech částech, ale je pomalejší v dužnině než ve vnějším slupce. [30]

Koncentrace škrobu u jablek klesá do 30ti dnů od kvetení, pak stoupá a to do 100 dní od kvetení. Další pokles škrobu je kolem 170 dne od kvetení. [31]

2.5.2 Buněčná stěna

Během zrání dochází ke změnám struktury materiálu buněčné stěny. Pektin a hemicelulosa jsou postupně rozpouštěny a depolarizovány na nižší molekulovou hmotnost. Vazby mezi rozdílnými složkami buněčné stěny jsou oslabovány, snižuje se jejich mechanická pevnost a to vede k měknutí. Měknutí se nemůže vyvíjet v plodu homogenně. Velké rozdíly v pevnosti jsou mezi různými místy ve stejném plodu. [36]

Měknutí může být způsobeno nedostatečným napětím, ale u mnoha druhů ovoce je výsledkem změn sacharidů v buněčné stěně zapříčiněné depolymerizací, demethylací, nebo ztrátou vápníku. Zpevnění může být výsledkem tvorby ligninu v buněčné stěně. [39]

Toto je výsledkem kombinované činnosti modifikačních enzymů buněčné stěny. Rozrušení strukturální sítě buněčné stěny zahrnuje současnou a synergickou činnost několika odlišných enzymů, kde jedna skupina enzymů může zprostředkovat aktivitu jiné. A výsledkem je modifikace buněčné stěny. [40]

Modifikační enzymy buněčné stěny jsou obvykle rozděleny na pektolytické a nepektolytické, podle specifického druhu polysacharidů, které využívá jako substrát. Mezi pektolytické enzymy patří endo- a exopolysacharidasa, pektátlyasa, pektinmethylesterasa, pektinacylesteraza, β -galaktosidasa nebo α -L-arabinofuranosidasa. Tyto enzymy jsou schopny štěpit nebo modifikovat přírodní polysacharidový hlavní řetězec nebo přemístit neutrální cukry z rozvětvené strany řetězce. Nepektolytické enzymy jsou zodpovědné za modifikaci hemicelulosa a patří sem endo-1, 4-glukanasa, endo-1, 4-xylanasa, β -xylanasa, xyloglukanendotransglykosilasa/hydrolasa a expansin. [40]

Hemicelulosa je komplexem glykozidicky spojených xylanů, galaktanů, glukomanonů, arabanogalaktanů a některých dalších podobných látek. Obdobně jako škrob i hemicelulosa je zásobní složkou glycidů, která má nejvyšší obsah v nejranějším období vývoje plodů. [12]

Pektinové látky se v rané vývojové fázi nacházejí ve formě pektocelulosa, zráním se enzymaticky štěpí, nebo naopak, při stárnutí některých morfologických částí rostliny se mohou přetvářet na sloučeniny ještě pevnější (dřevnatění). Enzymatickým štěpením pektocelulosa, které obstarává enzymový komplex – protopektinasa – se uvolňují protopektiny a celulosa. Nerozpustnost a pevnost protopektinu je zvyšována vedlejšími vazbami na

celulosu, další cukerné složky a kyselinu fosforečnou, čímž se vytváří pevná, trojrozměrná mřížka. Teprve další štěpné produkty protopektinu – vlastní pektiny, už koloidně rozpustné a v kratších řetězcích dosahují rozpustnosti pravých roztoků, pozbývají výstužnou funkci. Makromolekula vlastního pektinu je různě dlouhým axiálním řetězcem jednotek kyseliny D-galakturonové, více nebo méně esterifikované metanolem, s bočními řetězci arabinosy, xylosy a galaktosy, do nichž jsou včleněny bloky L-arabinosy. Tyto doprovodné cukerné složky se uvolňují z komplexu souběžně s depolymerizací a s deesterifikací vlastního pektinu. [12]

Morfologický a fyziologický význam pektinových látek spočívá v tom, že jako inkrustovaná složka střední lamely a částečně i primární stěny přejímá výstužnou a zpevňující funkci v pletivu a ve svojí koloidní podobě reguluje prostřednictvím hydrofilních –OH a –COOH skupin také vodní režim pletiva. [12]

2.5.3 Kyseliny

Organické kyseliny se obvykle akumulují v raných stádiích vývoje a jsou využity jako substráty pro dýchání během zrání ovoce. Konečná koncentrace organických kyselin ve zralém ovoci je dána rovnováhou mezi biosyntézou, degradací a uložením ve vakuole. [41]

V období vlastního zrání, kdy se plody již nezvětšují, nebo se zvětšují jen poměrně málo, ale přibývá jim na specifické hmotnosti, se úhrnný obsah organických kyselin, vyjádřený titrační kyselostí, postupně zmenšuje téměř u všech druhů ovoce; pouze u broskví se maximum titračních kyselin časově shoduje s prvními příznaky typického vybarvování a měknutí pletiva. [12]

Převládajícími kyselinami jsou jablečná a citrónová. Ostatní jsou přítomné ve velmi malém množství – chinová, jantarová, šikimová. [36]

Enzymy potenciálně zapojené v biosyntéze a degradaci organických kyselin jsou fosfoenolpyruvátkarboxylasa (PEPC), NAD – malátdehydrogenasa (NAD – MDH), NADP – jablečný enzym (NADP – ME), citrát syntasa (CS), NAD – isocitrátdehydrogenasa (NAD – IDH) a akonitasa (ACO). Syntéza jablečné kyseliny probíhá hlavně v cytosolu a je katalyzována pomocí PEPC a NAD – MDH. Velký pokles koncentrace jablečné kyseliny během zrání je obvykle přisuzován její degradaci pomocí NADP – ME v cytosolu. Biosyntéza a degradace kyseliny citrónové je zprostředkována CS, NAD – IDH a ACO v mitochondriích a ACO v cytosolu. [41]

2.6 Změny barviv

Barva ovoce je dána složením přírodních pigmentů a to hlavně třemi skupinami. Jsou to chlorofyly a karotenoidy nacházejících se v chloroplastech a chromoplastech a ve vodě rozpustné fenolické sloučeniny, anthocyaniny, flavonoly a proanthocyaniny, nacházející se ve vakuole. [34]

Chlorofyly a jejich deriváty jsou zodpovědné za zelenou, modrozelenou a olivově hnědou barvu. Karotenoidy jsou zodpovědné za červenou a žlutou barvu a anthocyaniny za oranžovou, červenou, modrou, purpurovou a černou barvu. [34]

Během zrání jsou chloroplasty postupně vyměněny za chromoplasty, které obsahují pouze karotenoidy. Pouze výjimečně některé druhy ovoce, jako je avokádo, chlorofyly zůstávají v dužině zralého ovoce. Ale u mnoha plodů se karotenoidy odhalují, když chlorofyly zmizí během zrání a často ukrývají biosyntézu karotenoidů. Zrání je spojováno s intenzivní

biosyntézy karotenoidů u mnoha druhů ovoce. I když všechny tyto barvy a pigmenty se vyvíjejí ve stejnou dobu, pro každou skupinu pigmentů je jiná biochemická cesta. [34]

Od počátku zrání se uskutečňuje mnoho biochemických změn včetně vzniku pigmentů a barevné změny, které zahrnují biosyntetické i katabolické procesy. Biosyntéza chloroplastových pigmentů je pozorována během růstu ovoce, který končí na počátku zrání a od této chvíle probíhají katabolické dráhy chlorofylu a biosyntéza karotenoidů a anthocyaninů. [4]

2.6.1 Chlorofyl

Struktura chlorofylu přítomného v ovoci je ovlivněna během vývoje, zrání, stárnutí, a posklizňovém ošetření. [34]

Biosyntéza

Chlorofyl je vytvářen tou samou cestou pro všechny žijící organismy produkující porfyrin. Pro lepší porozumění biochemických změn, probíhající při tvorbě chlorofylu, je vhodné vzít v úvahu důležité kroky:

- utvoření δ -aminolevulinové kyseliny
- utvoření monopyrolu (porfobilinogenu)
- utvoření uroporfyrinogenu (první makrocyclický tetrapyrrol)
- utvoření protoporfyrinogenu reakcemi vedlejších řetězců
- utvoření protoporfyrinu IX dehydrogenací makrocyccku
- chelatace s Mg^{2+} dávající hořčík protoporfyrinu IX
- utvoření isocyclického kruhu a protochlorofylidu a
- redukce protochlorofylidu na chlorofylid a jeho esterifikace
- utvoření chlorofylu *a*
- biosyntéza chlorofylu *b*. [4]

Degradace

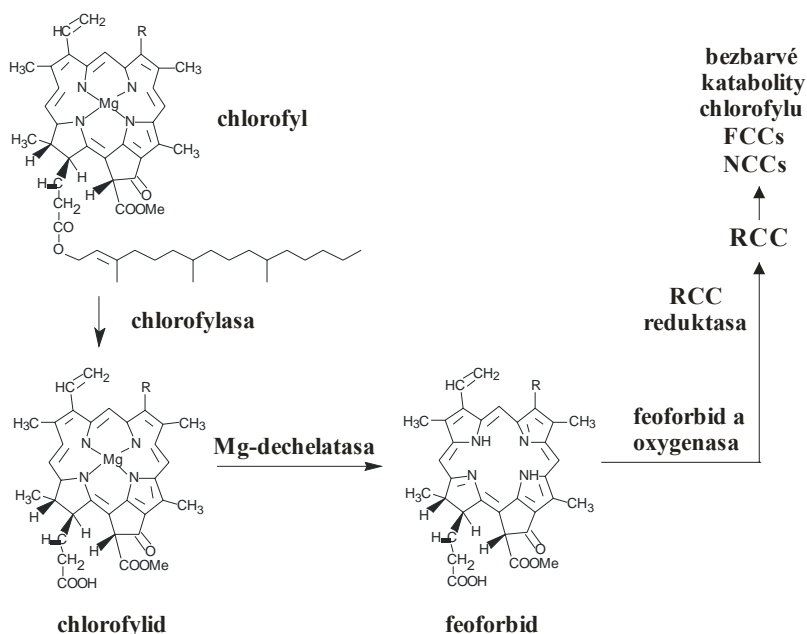
Během zrání a stárnutí probíhají katabolické procesy chlorofylu. Během zrání ovoce chlorofyl obvykle mizí a následně degraduje chloroplast na gerontoplast. V zelených tkáních mnoha rostlin se chloroplasty rozpadají, ale některé zůstávají maskované za žluté karotenoidové barvy. Ve zralém ovoci chloroplasty degenerují na chromoplasty, tento proces je obvykle doprovázený masivní biosyntézou karotenoidů. Obsah chlorofylu a poměr chlorofylu *a/b* v ovoci závisí na rostlinných genech, druhu a kultivaru stejně tak na životních podmínkách a vývojovém stádiu. [4]

U klimakterického ovoce se maximum degradace chlorofylu odehrává během klimakterického vzestupu, ale malé množství chlorofylu je vždy přítomné ve vnitřní tkáni. Neklimakterické ovoce nezraje po sklizni a mělo by být sbíráno, když je plně zralé. Tím se zaručí jejich nejlepší chuť. Proces změny zelené barvy na typickou oranžovou, žlutou nebo červenou probíhá velmi pomalu. Během ztráty chlorofylu dochází k jeho ukládání v chromoplastech pokožky a biosyntéza karotenoidů probíhá velmi pomalu. [34]

Cesta rozpadu chlorofylu zahrnuje tři hlavní kroky doprovázené třemi různými enzymy, chlorofylasa, Mg-dechelataasa a feoforbid *a* oxygenasa. První krok je zprostředkován chlorofylasou, která katalyzuje hydrolýzu chlorofylu na chlorofylid a fytol. Mg-dechelataasa je zodpovědná za odstranění Mg iontu a vzniku derivátů feofytiny a feofarbidy, z chlorofylu

respektive chlorofylidu. Feoforbid *a* oxygenasa je aktivována zráním a stárnutím, oxidací vznikají primární fluorescentní produkty bez barvy, tato aktivita je zprostředkována molekulárním kyslíkem a redukujícím ferredoxinem. Feoforbid *a* oxygenasa katalyzuje otevření porfyrinového makrokruhu a zastupuje důležitou část katabolismu chlorofylu, je odpovědná za ztrátu zelené barvy a vznik bezbarvých produktů. [4]

Ethylen zvyšuje rychlost degradace chlorofylu u ovoce a přítomnost malého množství může způsobit změny. [33]

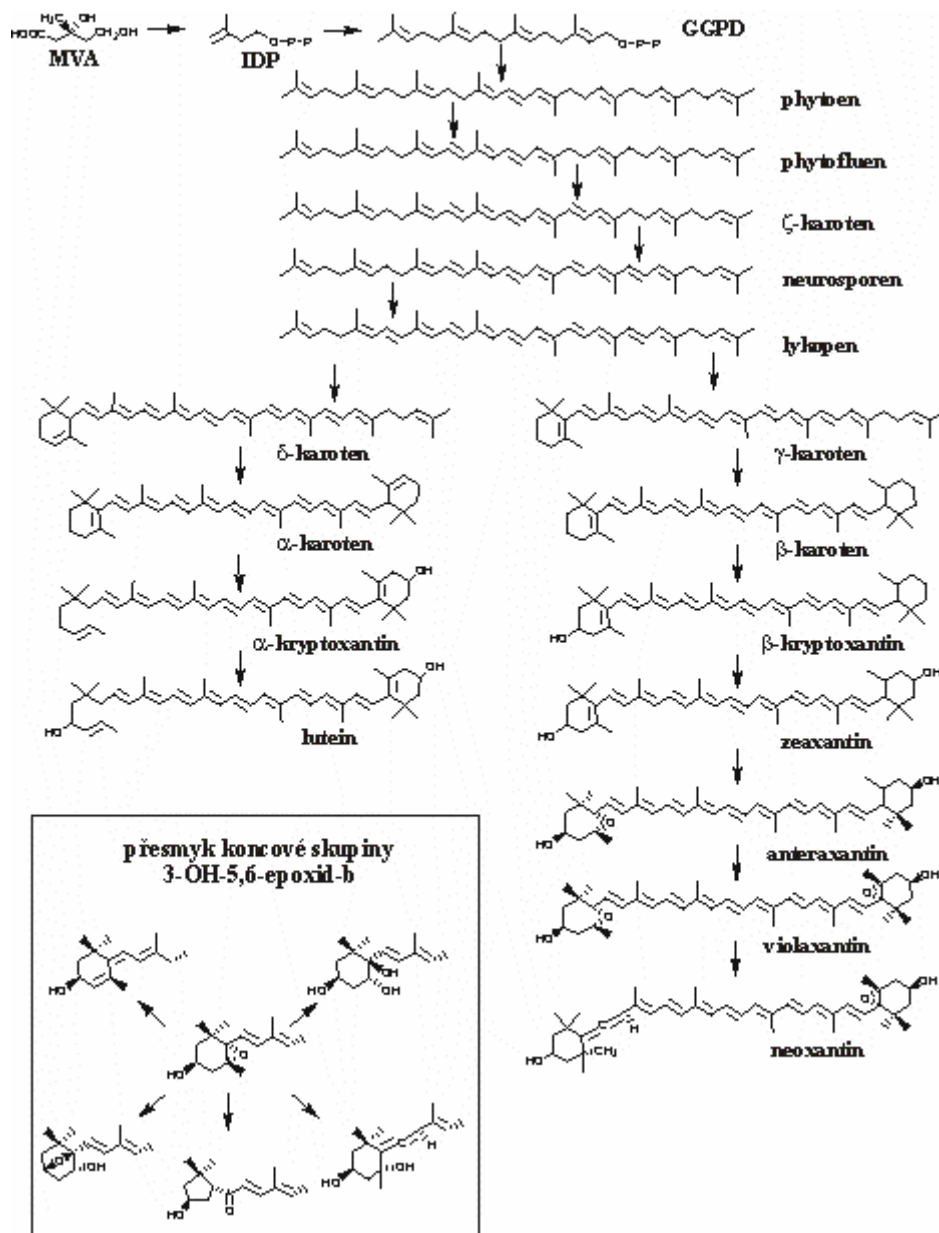


Obrázek 6: Degradace chlorofylu [4]

Rychlost degradace chlorofylu může být zpomalena několika prostředky. Jejich kombinace je mnohem efektivnější než použití jen jednoho. Velmi důležitým nástrojem je chlazení, ale je limitováno teplotou. Některé druhy ovoce jsou citlivé na nižší teploty než je jejich teplota tuhnutí. Ovoce je pak poškozeno a dochází k nežádoucím barevným změnám. [34]

2.6.2 Karotenoidy

Celá biosyntéza se uskutečňuje v chloroplastech (v zelené tkáni) nebo chromoplastech (ve žluté nebo červené tkáni). U karotenoidů jsou isoprenové řetězce vystavěny z mevalonové kyseliny (MVA) prenyltransferasou jako geranylgeranyldifosfát a dvě molekuly této sloučeniny jsou spojeny pata – pata na 15-cisphytoen jako první produkt s čtyřicetiuhlíkatým skeletem karotenoidů, který je katalyzovaný phytoensyntasou (PSY). Phytoen je bezbarvý, ale podstoupením sérií desaturačních reakcí, každé vytvoří novou dvojnou vazbu a rozšíří chromofor o dvě konjugované dvojně vazby. Konečný produkt je lykopen. Lykopenové molekuly projdou cyklizací, konce řetězců se formují do šestičlenných kruhů na jednom nebo obou koncích molekuly. Tyto reakce jsou katalyzovány dvěma lykopenovými cyklasami. Zavedení konečné funkční skupiny vede ke konečné fázi biosyntézy. Zeaxanthin a lutein jsou formovány zavedením dvou hydroxylových skupin. Protože je mnoho kombinací těchto reakcí, které jsou možné na dvou koncích molekuly, tradiční cesta může být velmi komplikovaná. [4]



Obrázek 7: Biosyntéza karotenoidů [4]

2.6.3 Anthocyaniny

Biosyntéza

Prekurzory, při biosyntéze anthocyaninu, jsou malonyl-CoA (tvořený z 3 acetyl-CoA) a p-coumaroyl-CoA fenylalaninu. Postupná kondenzace tří acetátových jednotek z malonyl-CoA s p-coumaroyl-CoA vytváří tetrahydrochalcon, který je katalyzován chalkonsyntasou. Potom chalkonisomerasa katalyzuje isomeraci tetrahydrochalkonu (žluté) na naringenin (bezbarvý), který je transformován na dihydrokaempferol (DHK) enzymem flavanon-3-hydroxylasou. Následně DHK může být hydroxylováno na dihydroquercetin (DHQ) nebo dihydromyricetin (DHM). DHQ by mělo být transformováno na DHM. Později bezbarvé dihydroflavony (DHK, DHM, DHQ) jsou transformovány na anthocyaniny

pomocí tří specifických enzymů. Následuje oxidace, dehydratace a glykosylace na rozdílné leucoanthocyanidiny vedoucí na odpovídající pelargonidin (cihlově červená), cyanidin (červená), a delphinidiny (modrá) anthocyanidinové pigmenty. [4]

Degradace

Anthocyaniny jsou velmi nestabilní pigmenty. Obzvláště sklizení z přirozeného prostředí a chránění ostatními pigmenty vede k neatraktivním nažloutlým a hnědým pigmentům. Je velmi známé, že barva způsobená anthocyaniny je zvláště degradována enzymatickou hydrolyzou ve sklizených produktech. Anthocyaniny jsou oxidovány ve vakuole rostlinných buněk za přítomnosti O₂, vhodných podmínek pH, teploty a vodní aktivity a činnosti enzymu tyrosinasy nebo polyfenoloxidas (PPO). Ale anthocyaniny nejsou přímými substráty pro PPO. PPO katalyzují hydroxylaci monofenolů na o-difenoly (krezolásová aktivita) a oxidaci o-difenolů na o-quinony (katecholásová aktivita). Katecholasy jsou považovány za hlavní PPO enzymy zodpovědné za hnědnutí ovoce. Tyto o-quinony jsou velmi reaktivní molekuly a rychle kondenzují v kombinaci s amino nebo sulfhidril skupinami proteinů a s redukujícími cukry. Vytváří různé hnědé, černé nebo červené polymery o vysoké molekulové hmotnosti a neznámé struktuře známé jako melaniny. [34]

Zvýšení pH a snížení titrační kyselosti indukované zvýšením CO₂ během skladování ovoce v kontrolované atmosféře má silný efekt na expresi a stabilitu. Červený flavylium-kationt zůstává stabilní pouze v kyselém prostředí. Změny v anthocyanové stabilitě mohou být způsobena nukleofilním atakem molekuly vody na anthocyanovou molekulu a vzniknou bezbarvé pseudobáze, hemiacetal a karbinol. Flavylium forma může být obnovena okyselením. Bezbarvý karbinol může vytvořit chalkon (žlutý pigment) otevřením kruhové struktury. Když se pH dostane na hodnotu 4 je tvořena modrá quinonoidalová báze. Dostane-li se pH k 7 může dojít ke ztrátě protonu z hydroxylové skupiny za vzniku sekundární quinonoidalové báze. [34]

2.6.4 Hnědnutí

Hnědnutí je výsledkem změn, které se velmi často vyvíjejí u ovoce. První krok tohoto procesu probíhá ve vakuole a je to deaminace aminokyseliny fenylalanin pomocí fenylalaninamoniaklyasa (PAL). Produktem této reakce je kyselina skořicová, která je hydroxylována za vzniku různých fenolických sloučenin. Když je přítomný kyslík a PPO v cytoplasmě (plastidy) oxiduje sloučeniny na o-quinony, které polymerizují na hnědé sloučeniny. [34]

2.7 Syntéza proteinů

Fyziologické procesy, jako je i zrání ovoce, jsou vývojové kaskády vyplývající z transkripce DNA a translace mRNA na proteiny (enzymy). Vzdávající množství specifických enzymů je zaznamenáno při vývoji mnoha rostlinných orgánů, které jsou určeny ke sklizni. Například, aldolasa, karboxylasa, chlorofylasa, fosforylase, peroxidasa, fenolasa, transaminasa, invertasa, fosfatasa, o-methyltransferasa a katalasa jsou enzymy známé při zrání ovoce. Mnoho těchto enzymů je vytvořeno jako produkt nové syntézy a má relativně krátký poločas rozpadu na původním místě. Stárnutí rostlin je doprovázeno nárůstem syntézy RNA a rychlosti transkripce. Z toho vyplývá požadavek na kontinuální syntézu proteinů pro zrání ovoce. Nárůst syntézy proteinů a nukleových kyselin oznamuje blízké stádium, kterým je zrání. [39]

3. SKLADOVÁNÍ OVOCE

Skladování jednotlivých plodů je ovlivněno specifickými předsklizňovými podmínkami. Tak například, umístění plodu na stromě bude udávat jeho nutriční hodnotu a obsah vody. Plod je vystaven vlivům okolního prostředí jako je sluneční světlo nebo škůdci a nemoci. Všechny tyto faktory mohou ovlivnit posklizňovou trvanlivost. [16]

Trvanlivost je schopnost plodin udržet si i po sběru rovnováhu látkové přeměny. Dobrou trvanlivostí se vyznačují ty plodiny, v kterých je průběh všech životních procesů pomalý a i stárnutí a odumírání pletiv je pozvolnější. Rychlost poklesu jakosti závisí na rychlosti biochemických procesů souvisejících s látkovou přeměnou. Tyto procesy vyvolávají postupně nežádoucí změny, které se nakonec projeví jako snížení jakosti plodin. V poslední fázi ztrácí protoplazma schopnost regenerace, stává se propustnou, roztoky pletiv se navzájem smísí, dochází k autolýze buněk a k odumírání živého pletiva. Rozpad se dovršuje působením mikroorganismů. [17]

Trvanlivost je možné definovat jako období, během kterého se produkty udržují v takové kvalitě, která je přijatelná pro spotřebitele. Standardní kvalita, která je limitní pro skladování a trvanlivost, je dána faktory:

a) vzhled

Vzhled je při nakupování čerstvých produktů klíčový faktor. Charakteristická je jednotná velikost, tvar a barva. Zásadní součástí vizuální kvality je barva a barevná jednotnost, lesk a žádné defekty tvaru na povrchu způsobené nemocemi. V některých případech je barva ovoce indikátorem pro sklizeň a následné skladování (rajčata, banány). Pro mnoho jiných je barva nespolehlivým ukazatelem. [16]

Další hlediska vzhledu, která ovlivňují trvanlivost zahrnují ztrátu čerstvosti jako vadnutí, ztráta lesku nebo zvrásnění povrchu a rozvoj skvrnitosti, které charakterizují stárnutí nebo onemocnění organismu. [15]

b) struktura

Konzumní jakost zahrnuje komplex strukturních vlastností, které se nedají snadno definovat nebo měřit. Některé aspekty struktury mohou být popsány podle vzhledu a to, když plod začíná vadnout nebo se scvrkává. I když je u ovoce požadován určitý stupeň měkkosti, přílišné změknutí je považováno za signál stárnutí a vnitřního rozkladu. Vnitřní rozklad u některých druhů ovoce vede k moučnatění. [15]

c) chuť a vůně

Chuťovými složkami u čerstvého ovoce je sladkost, kyselost, trpkost a hořkost. Sladkost ovoce vzrůstá výrazně během zrání následkem změny škrobu na cukr. Stupeň kyselosti obvykle klesá během skladování. Hořké složky se mohou vyvinout v různém ovoci za působení skladovacích podmínek. [16]

Aroma se může měnit výrazně i po sklizni. U klimakterického ovoce mohou být dominující látky rozdílné u nezralého, zralého i přezralého ovoce. Neočekávané nebo nepříjemné aroma může učinit produkt neprodejný, i když ostatní faktory kvality jsou zcela v pořádku. [16]

d) nutriční kvalita

Čerstvé ovoce je důležitým zdrojem živin, vitamínů, minerálů, vlákniny a významného množství fytochemikálií, které hrají důležitou roli v zdraví člověka. Posklizňová ztráta nutriční kvality, hlavně vitamínu C a některých fytochemikálií, může být podstatná. [23]

e) bezpečnost

Nebezpečné faktory zahrnují přirozeně působící toxické látky, kontaminanty jako jsou chemická rezidua a těžké kovy a mikrobiální kontaminace. Správná hygienická opatření a zacházení mohou pomoci zmenšit potenciální rizika kontaminace. [23]

3.1 Příčiny zhoršení kvality při skladování

3.1.1 Dýchání

Je pozorován vzrůst respirace u plodů a pokles při skladování. Nadměrné dýchání může vést až k metabolickému kolapsu. Buněčná membrána se zhroutí a dojde k úniku obsahu. Saprophytické bakterie mohou růst v této tkáni a způsobovat nepříjemný zápach. Určité druhy ovoce (známé jako klimakterické) se mohou sklízet nezralé a uměle dozrávají později při uskladnění (banány, rajčata). U tohoto ovoce dýchání výrazně vzroste za velmi krátký čas. [16]

3.1.2 Ethylen

V posklizňovém skladování vyvolává ethylen nežádoucí odezvy ovocných a zeleninových druhů, které se projeví zrychleným stárnutím, jako je ztráta chlorofylu, žloutnutí listů špenátu, petržele, brokolice, plodů okurek a dalších plodin s vyšším podílem zeleného barviva, neboť se projevuje v koncentracích do 10 ppm ethylenu a teplotě 20 °C. Vznik hnědých skvrn na vybělených částech je výsledkem zániku celých ploch pletiv a důsledkem vytvořených fenolických sloučenin, bude-li obsah ethylenu do 10 ppm. Klimakterické plodiny s vyšší vlastní tvorbou ethylenu jako je jádrové ovoce, se pokládaly za relativně málo citlivé vůči vyšší koncentraci etylénu v chladírenské komoře. [18]

3.1.3 Ztráta vody

Strukturní a tkáňové vlastnosti čerstvého ovoce jsou závislé na udržení určitého tlaku v buňce. Jestliže je z tkáni odstraněno příliš mnoho vody, tlak bude klesat, dojde k vadnutí a skvrnatění plodů. Rychlost posklizňové ztráty vody je závislá hlavně na vnějším tlaku vodní páry. [16]

3.1.4 Houbové a bakteriální patogeny

Většina patogenů spoléhá na poškození tkáně a tím vytvoření vstupu do čerstvého ovoce. Například *Penicillium*, které způsobí modrou a zelenou formu infekce na citrusových plodech a jiného ovoce, je klasické zasažení patogeny, které jsou neschopné zasáhnout neporaněné ovoce. Fyzikální bariéra a přítomnost antimikrobiálních složek v pokožce a dužnině poskytuje dostatečnou ochranu. Některé patogeny mohou prostupovat skrz přirozené otvory jako průchody. Bakterie používají tuto penetrační cestu. Nejběžnější skupinou bakterií působící na významné snížení skladovatelnosti jsou druhy z rodů *Erwinia*. Pouze malé množství houbových patogenů je schopné přímo proniknout do plodu přes nepoškozenou pokožku. Tyto patogeny jsou problematické kvůli tomu, že nakazí plod před sklizní, ale zůstávají v klidovém stádiu na tkáni až do té doby než se podmínky stanou příznivé pro jejich růst. Když je ovoce zralé, následuje porušení a patogen může obsadit tkáň ovoce. [16]

Houbové a bakteriální infekce jsou podmíněny vysokou vlhkostí a částečně i přítomností volné vody. Patogeny ovoce a zeleniny jsou velmi přizpůsobivé co se týče růstu a množení se při různých teplotách, mnoho jich roste mezi 6 až 35 °C. Některé přežijí a pomalu rostou při 1 °C. [15]

3.1.5 Fyzická zranění

Fyzická zranění je možná nejvýznamnější příčina ztráty čerstvosti ovoce. Zranění je ideálním místem pro vstup mnoha patogenů. Poranění také usnadní ztrátu vody, které snižuje kvalitu ovoce. Mimoto fyzická zranění podporují produkci ethylenu v rostlinných pletivech, která může způsobit předčasné žloutnutí nebo zrání složek. [16]

Fyzická zranění mohou vzniknout v různých stupních sklizně, při posklizňovém napadení hmyzem nebo při špatné manipulaci. Mnoho hub napadá plod v oblasti stopky, kde je plod odtržen od mateřské rostliny. Špatné balení může vytvořit problém u krájeného ovoce. [16]

3.1.6 Fyziologická onemocnění

Fyziologická onemocnění jsou nepříznivé změny kvality, které se vyskytují na čerstvém ovoci v důsledku metabolických poruch. Tyto poruchy mohou být zapříčiněny vnitřními faktory jako je nevhodná skladovací teplota nebo složení atmosféry. Příznaky mohou být různé při různých podmínkách, nicméně příznaky v mnoha případech jsou podobné v rozpětí podmínek s rozdílnou základní příčinou. [16]

Málo živin způsobí malý vzrůst a nízké množství symptomů. Jedno z nejdůležitějších živin je kalcium, které hraje důležitou roli při udržování stability buněčné stěny. Je velké množství poruch související s expozicí teplotě, která je příliš vysoká nebo příliš nízká. Vysoká teplota způsobená slunečním zářením, například, nebo nepřiměřené tepelné zacházení po sklizni, mohou zapříčinit poškození pokožky a nestejně zrání ovoce. Ovoce a zelenina nemohou vůbec tolerovat mrazení. Ledové krystaly uvnitř buněk protrhnou membránu a tkáň se rozpadne při rozmrazování. Zranění způsobená chlazením jsou zcela odlišná od zranění způsobená mražením. Spadají sem rozmáčení, vytváření d'olíčků, vnitřní odbarvení, poruchy zrání, urychlení stárnutí a vzrůstající citlivost na rozklad. Pokud jsou plody skladovány v atmosféře s nedostatkem kyslíku a nadměrným množstvím oxidu uhličitého, ve špatně ventilovaných skladech, může se rozvinout porucha dýchání. Velmi nízké množství kyslíku může způsobit alkoholové kvašení za vzniku nepříjemného zápachu. [15]

3.2 Podmínky skladování

Úpravou vegetačních a skladovacích podmínek je možné značně zpomalit, a nebo potlačit průběh nežádoucích změn uložených plodin, a tak prodloužit čas možné uchovatelnosti. V průběhu skladování je potřebné nároky plodin, skladovací prostředky a cíl skladování dát do souladu tak, aby se ovoce a zelenina uchovali živé a bez poruch a bez zhoršení kvality i nutriční hodnoty. Důležitým předpokladem uchovatelnosti plodin je objektivní určení nároků na prostředí v průběhu celého skladování. [2]

3.2.1 Teplota

Regulací uskladňované teploty můžeme ovlivňovat přirozenou uchovatelnost uskladněných plodin. Aktivní životní procesy jsou možné jen v určitém teplotním rozpětí. Pro vegetaci

našich zahradních plodin je optimální teplota od 15 do 35 °C. V nižších teplotách se životní činnost zpomaluje. Další snižování teploty vyvolává už fyziologické poruchy a nakonec odumření organismu. Zvyšování teploty vede k rychlejšímu vypařování vody z plodin a urychluje fyziologické procesy. Dalším zvyšováním teploty vznikají fyziologické poruchy, postupně se denaturují živé bílkoviny, až následuje smrt organismu. [17]

Chlazením se zpomaluje dozrávání, ubývání cukrů, kyselin a vitamínů. Nízká teplota též zvyšuje mechanickou pevnost plodin. Nízká teplota značně omezuje klíčení, vyrůstání spor a rozvoj původců rozkladu. Mikrobiální rozklad se však nízkou teplotou úplně nezastavuje. [17]

Snížením uskladňovací teploty pod bod mrznutí se mění voda v plodinách na led v množství, které odpovídá výšce teploty. Hranice, za kterou se změny způsobené tvorbou ledových krystalků biologicky ireverzibilní (nevratné) tím, že zamrzne i voda potřebná pro biologické funkce organismu, je současně bodem odumření. Toto je i teoreticky nejnižší teplota při uskladnění čerstvých plodin. Bod odumření kolísá v rozpětí teplot od 0 až -6 °C. Zmrznuté a opět rozmražené ovoce však už často vykazuje poruchy látkové přeměny, především snižuje absorpci kyslíku a zvyšuje intramolekulární dýchání. Nejnižší vhodnou teplotu pro uskladnění obvykle neurčuje teplota bodu odumření, ale teplota bodu mrznutí pletivového roztoku, která se pohybuje od -0,5 do -4 °C. Dlouhodobé působení při bodě mrznutí může v choulolistivých plodinách způsobit fyziologické poruchy. [17]

Kolísání teploty při uskladnění způsobuje vždy zesílení látkové přeměny a následkem jsou zvýšené ztráty a zkrácení uchovatelnosti. [17]

3.2.2 Vlhkost

Regulace vlhkosti vzduchu ve skladech je druhým nejdůležitějším činitelem ovlivňující výsledek. Atmosférický vzduch je vždy směsí vzduchu a určitého množství vodních par. Schopnost suchého vzduchu přijímat vodní páru závisí na teplotě a barometrickém tlaku. [17]

Při určování optimální relativní vlhkosti vzduchu ve skladech vycházíme z náchylnosti plodin k vadnutí a z odolnosti proti mikroorganismům. Dále respektujeme teplotu a rychlost vzduchu. Pro plodiny s intenzivním vypařováním musí být vzduch co nejvlhčí. Plodiny s malým vypařováním se lépe uskladňují v sušším vzduchu. Nejvyšší použitelná relativní vlhkost vzduchu je 100 %, v kterém by bylo vypařování v celku zastaveno. Úplně nasycený vzduch by však způsobil velké rozšíření mikroorganismů. Všeobecně můžeme tedy říci, že při relativní vlhkosti nižší než 80 % nastávají příliš velké ztráty vody a aromatických látek a při vlhkosti vyšší jak 95 % dochází k zvýšení činnosti mikroorganismů a k fyziologickým poruchám. [17]

Relativní vlhkost vzduchu ve skladech zahradních plodin bývá vysoká a při kolísání teplot často nastávají podmínky pro kondenzaci vodní páry. Tato kondenzace je nežádoucí, protože zvyšuje povrchovou vlhkost a podporuje klíčení spor a rozvoj mikroorganismů. Ochrana proti kondenzaci vodní páry je vhodná úprava teploty, vlhkosti a systému větrání. [17]

3.2.3 Složení atmosféry

Složení vzduchu v bezprostředním okolí uskladněných plodin se zúčastňuje jejich životních procesů a ovlivňuje jejich uchovatelnost. Z jednotlivých složek atmosféry tu má největší úlohu kyslík, oxid uhličitý a další plyny. Lepší výsledky se dosáhnou, když se sníží obsah O₂ nebo zvýší obsah CO₂. Na tomto principu je založené skladování zahradních plodin v upravené atmosféře. Obsah kyslíku ve vzduchu ovlivňuje rychlost metabolických procesů a

tím i rychlost změn jakosti plodin. Enormně vyšší obsah O₂ urychluje látkové přeměny plodin a naopak, nižší obsah O₂ je zpomaluje. V praxi se používá atmosféra s obsahem 2 až 5 % O₂. Vyšší koncentrace CO₂ utlumuje dýchací procesy, snižuje hmotnostní ztráty a zpomaluje dozrávání. Působí především na oxidační enzymatický systém a zpomaluje průběh dýchacích reakcí. Vysoká koncentrace CO₂ též zpomaluje přijímání O₂ ze vzduchu. Účinek CO₂ na dýchání závisí na druhu plodiny. [17]

3.2.4 Větrání

Přiměřený pohyb vzduchu zabezpečuje potřebnou výměnu plynů v pletivech uskladněných plodin a omezuje rozvoj plísní ve skladech. Rychlost proudění vzduchu okolo uloženého ovoce má vliv na fyziologické poruchy. Nejdůležitější je však účinek vzduchu na mikroklimatické podmínky uskladňovacích prostor. Tím se vyrovnávají rozdíly mikroklimatu na rozličných místech skladu, aktivně se upravuje teplota, vlhkost i složení atmosféry. U skladování zahradnických plodin rozeznáváme dva systémy pohybu vzduchu: vnitřní proudění (cirkulace) vzduchu je uzavřený systém, a výměna vzduchu mezi uskladňovacím prostorem a vnějším prostředím (větrání) je otevřený systém. [17]

3.2.5 Dezinfekce

Dezinfekčními zákroky při uskladnění zahradnických plodin se účinně snižuje množství mikroorganismů a nebo alespoň oslabuje jejich životaschopnost. Jejich hlavním cílem je chránit zahradnické plodiny před vznikem druhotné nákazy ve skladech. Jde tedy o preventivní opatření. Dezinfekční přípravky musí být účinné především proti houbám a bakteriím. Na ošetření uskladněných plodin je třeba vybírat takové látky, které neovlivňují živé pletivo plodin, ani jejich organoleptické vlastnosti. Současně je třeba brát v úvahu i vliv chemických látek na zařízení skladů. [17]

3.2.6 Retardátory

Retardátory mohou být látky nejrozmanitější chemické povahy. Mají společné to, že zpomalují fyziologické procesy živého rostlinného pletiva. Zpomalují dýchání, vyrůstání a přežívání plodin. Ovlivňují též hmotnostní ztráty. Je však nevyhnutelné pokládat retardaci jen za součást celkového komplexu podmínek, které při uskladnění působí na plodiny. [17]

Rychlost dozrávání se snižuje jen u plodin ošetřených před klimakterickým maximem. U jahod se zpomalení dozrávání po retardaci projevuje především v uchování vysoké konzistence plodů. Zpomalení dozrávání po retardaci je známé i u citrusového ovoce, jablek a u některých dalších plodin. [17]

1-methylcyklopropen (1-MPC)

1-MPC je silný inhibitor činnosti ethylenu a může být použit jako prostředek k prodloužení doby zrání a skladovatelnosti. Potlačuje působení ethylenu stálou vazbou na vhodný receptor. Při standardní teplotě a tlaku je 1-MPC plynný. [37]

Účinná koncentrace 1-MPC je velmi nízká, v rozmezí 2,5 nl/l – 1 μl/l, odvíjí se od komodity, času, teploty a použité metody aplikace. [37]

Jak dlouho bude 1-MPC působit je dané odrůdou, kultivarem, tkání a způsobu indukce biosyntézy ethylenu. Ze závislosti koncentrace a času je jasné, že dlouhá perioda expozice s použitím nízké koncentrace má stejný fyziologický efekt. [38]

Syntéza nových vazebných míst může být ovlivněna teplotou. Aplikace 1-MPC při 2,5 °C je méně efektivní než při 15 až 20 °C, protože vazba při nižší teplotě je neúplná. [38]

Rychlost dýchání v klimakteriu je snížena. Degradace škrobu je někdy zpožděna u ošetřeného ovoce. U mnoha produktů je ztráta zelené nebo žluté barvy inhibována. Úspěšné použití 1-MPC vyžaduje zpoždění, ale ne nevratnou inhibici procesů spojenou s metabolismem pigmentů. U mnoha produktů je zpoždění měknutí víc žádoucí než celková inhibice měknutí. U mnoha neklimakterických druhů ovoce je efekt 1-MCP na měknutí obvykle nezjistitelný. U klimakterické ovoce silně potlačuje biosyntézu aromatických těkavých látek, hlavně estery. 1-MCP může redukovat stárnutí, hnědnutí dužniny a ztrátu měkčnosti. [38]

1-MCP je povolen jen v několika zemích a jsou registrované plodiny pro které se může používat. Jsou to například jablka, avokádo, kiwi, mango, meloun, nektarinky a další. [38]

3.2.7 Záření

Ozařování způsobuje změny látkového složení biologického materiálu i změny v struktuře živé hmoty a v jejich funkcích. Všechny tyto změny, pokud jsou vyvolané nízkými dávkami ozáření, zpomalují životní procesy plodin. Malé dávky ozáření podporují růst, střední ho zpomalují a vysoké dávky rostlinné pletivo usmrcují. [17]

3.3 Způsoby prodloužení trvanlivosti během skladování

3.3.1 Ošetření před skladováním

Potahování

Ovoce a zelenina získá díky potažení pomalejší úbytek vody. To je podstatné zvláště pro ovoce, které bylo umyto, protože horká voda nebo použité detergenty mohou odstranit ochranou voskovou vrstvu z povrchu ovoce. Potahování může omezovat pohyb O₂ a CO₂. Tato vnitřní modifikovaná atmosféra může zpomalovat dýchání, nicméně vrstva nesmí být příliš tlustá, protože hladina O₂ může klesnout příliš nízko a nastane fermentace. Mnohé z používaných látek na potahování jsou deriváty rostlinných extraktů, například vosky cukrové třtiny nebo polymery esterů cukrů, přesto petrolejový základ produktů jako parafinové vosky se mohou přidávat pro zlepšení kontroly výparu vody. Dalším přístupem ke zlepšování nepropustnosti vody je smrštitelný obal na každý produkt, který vytváří plastický film. Vysokohustotní polyethylen je velice vhodný pro toto použití ve velmi malé vrstvě, která je dobrou bariérou pro vodní páru, ale neovlivní pohyby plynů při dýchání a nebezpečí rozvoje off – flavouru. [16]

Obvykle používanými materiály jsou biopolymery jako jsou proteiny, polysacharidy, lipidy a pryskyřice. Mohou být použity samostatně nebo v kombinacích. Fyzikální a chemické vlastnosti biopolymerů velmi ovlivňují výslednou funkčnost potažení. Výběr potahovaného materiálu je ovlivněn jejich rozpustností ve vodě, zda jsou hydrofilní nebo hydrofobní, jednoduchou tvorbou potahu a senzorickými vlastnostmi. [23]

Jedlé lipidy zahrnující neutrální lipidy, mastné kyseliny, vosky a pryskyřice jsou tradičními materiály pro potahování čerstvých produktů. Poskytují dostatečnou bariéru pro vlhkost a zlepšují vzhled. Polysacharidy, které se používají pro tvorbu filmů a potahování, jsou škroby a deriváty škrobů, deriváty celulosy, algináty, karagenany, různé rostlinné a mikrobiální gummy, chitozan a pektináty. Redukují dýchání a používají se jako bariéra pro plyny. Pro jedlé

potahování se také využívají proteiny. Z rostlinných proteinů to jsou zein, sojový protein a pšeničný gluten. Z živočišných proteinů se používají mléčné proteiny jako je syrovátkový a kasein. Proteiny vykazují výbornou schopnost bariéry pro kyslík, oxid uhličitý a tuky. [23] Nejvhodnějším materiálem pro jablka je kasein a syrovátkový protein. Jsou dobrými nosiči antioxidantů a vhodnou bariérou pro kyslík. [23]

Chemická regulace houbových a bakteriových patogenů

V mnoha případech jsou čerstvé produkty umývány před tříděním, zpracováním a balením. Proto je kvalita vody nesmírně důležitá, obzvláště je – li opětovně použita. Spory bakterií a hub mohou být vytvořeny ve vodě a stávají se původem nákazy pokud nedochází ke kontrole. [16]

Jako tepelné ošetření ovoce se používá horká voda od 40 °C do 60 °C po dobu 30 sekund až 10 minut nebo horký vzduch o teplotě 43 °C až 54 °C po dobu 10 až 60 minut nebo horkou vodu obsahující fungicidy, které se používají k redukci hub u některých druhů ovoce. Hlavní antibakteriální prostředek používaný po sklizni je chlor používaný ve vodě na mytí. [19]

Používání antibiotik proti bakteriím je v mnoha zemích nepřipustné, kvůli obavám, že rezistence antibiotik vyplývá z aplikace transformované na lidský organismus. [15]

Po sklizni je mnoho plodin, které jsou skladovány, ošetřeno jedním nebo mnoha fungicidy. Rezistence hub na benzimidazolový základ fungicidů, takové jako benomyl, thiabendazol, je extrémně rozšířená a vede k používání inhibitorů ergosterolové syntézy, takové jako imazalil, etaconazole a bitertanol. Metody jsou velmi závislé na typu fungicidu a druhu plodiny. Ovoce jako jablka, hrušky, mango, citrusové plody jsou často sprejovány nebo máčeny ve fungicidních lázních. Některé fungicidy mohou být začleněny do voskových vrstev na povrchu, například u citrusových plodů. Kde jsou tyto metody nevhodné, používají se plynné prostředky. U mnoha plodin se nepoužívají žádné chemikálie i přes jejich citlivost na patogeny, například jahody. [16]

Chemické ošetření proti nemocem

Skvrnitost je povrchová nemoc jablek, která se projevuje během skladování a je způsobena oxidací přírodních složek v pokožce nazývané α -farnesen. Komerčně jsou používány antioxydanty difenylamin a ethoxyquin. Difenylamin může být aplikován jako voskový preparát nebo impregnace obalů. Další důležité ošetření jablek je použití vápníku, a to jako sprej nebo lázeň. I když aplikace vápníku může zlepšit kvalitu ovoce, používání se nerozvíjí, protože vznikl problém s aplikací dostatečného množství vápníku a pronikání do tkání bez poškození ovoce. [16]

Záření

Při uskladňování zahradních plodin můžeme využít rozličné biologické účinky záření, a to na povrchovou sterilaci, na ničení mikroorganismů a na řízení fyziologických procesů plodin. [17]

3.3.2 Předchlazování

Předchlazování je rychlé odvedení tepla po sklizni, což je podstatné pro zpomalování kažení u netrvanlivých produktů. [16]

Předchlazování vzduchem

Pro rychlé a účinné zchlazení musí vzduch proudit po povrchu produktů, a pokud možno i ve vnitřních vrstvách. [12]

Sesbírané produkty jsou umístěny v chladících místnostech. Chlazený vzduch je vháněn horizontálně pod stropem směrem dolů přes kontejnery s produkty. Zefektivnění chlazení pomocí tlakového chlazení nebo přechlazování v tunelu. Chladný vzduch prochází skrz otvory v obalu a proniká dovnitř. [16]

Přechlazování vodou

Voda je pro přenášení tepla lepší než vzduch. Produkt je obvykle přechlazen tekoucí vodou ve velkoobjemových zásobnících a málokdy se tato operace provádí po balení. Některé druhy ovoce nemohou být chlazeny touto cestou (jahody), protože voda na povrchu způsobuje větší riziko nemoci. Produkty jsou do chladné vody buď ponořeny, nebo jsou postříkávány. [12, 17]

Chlazení nastříkáváním, smáčením a ponořením se používá pro ovoce jako jablka, broskve a melouny, i když předchlazení vzduchem se používá častěji. [19]

Předchlazování ledem

Aplikace drceného ledu může být vhodná pro několik druhů. Hlavně se používá pro dočasné zchlazení během transportu a expedici do prodeje. [16]

Vakuové chlazení

Jednou z nejrychlejších a ucelených metod chlazení je vakuové chlazení. Znamená snížení tlaku okolo produktu až na takovou hodnotu, kdy bod mrznutí vody se sníží. Následné vypařování vody absorbuje teplo. [16]

3.3.3 Chlazení

Při chladírenském skladování musí být uvedeny do souladu nároky uložených plodin s vnějším okolím tak, aby se zpomalily nebo potlačily nežádoucí změny a prodloužila uchovatelnost. Výchozím hlediskem jsou objektivní nároky plodiny na teplotu a vlhkost vzduchu, složení atmosféry a vnitřní pohyb vzduchu v chladírně. [12]

Chlazení by se mohlo používat během transportu i skladování a v maloobchodním prodeji i při domácím skladování. Hlavně je používáno zařízení pro export, import a v prodejních centrech. [16]

Nejchladnější sklady nebo chlazené kontejnery jsou chlazeny přímým expanzním systémem. Ventilátory jsou obvykle nutné k cirkulaci vzduchu přes výparník, a pak do chlazené místnosti. Teplo je odváděno z chlazené místnosti, když chlazený plyn připustil expanzi ve výparníku. Teplotní rozdíl mezi výparníkem a produktem je doprovázený změnou tlaku par, který způsobí zvýšení ztráty vody z produktů. Proto pro produkty citlivé na ztrátu vody se používá nepřímý chladicí systém. Vzduch ve skladu je ochlazen na 1–2 °C a vlhkost přes 98 % za průchodu skrz sprchu chladné vody, která byla ochlazená mechanickým způsobem. [16]

Zrající ovoce se neuskładňuje s nezralým ovocem nebo jinými produkty citlivými na ethylen. Pro ovoce a zeleninu, které produkují pouze malé množství ethylenu, je ventilace čistým vzduchem obvykle dostačující pro udržení bezpečného množství ethylenu. Když není

ventilace dostačující, ethylen může být odstraňován oxidací. Vzduch může procházet přes oxidační sloučeninu, manganistan draselný. Eventuelně se používá na odstranění ethylenu UV záření. [15]

Zranění způsobená chlazením u tropických a subtropických plodin mohou omezovat používání chladicí teploty pod teplotu mraznutí. Zranění způsobená chlazením nezpůsobuje pouze teplota, ale i délka vystavení teplotě. [16]

tabulka 1: Typické skladovací podmínky ovoce [15]

druh produktu	teplota (°C)	vlhkost (%)	skladovací doba
jablka	-1-4	90-95	1-8 měsíců
banány (zelené)	13-15	85-90	10-30 dní
banány (zralé)	13-16	85-90	5-10 dní
ořechy	7-8	95-100	1-2 týdny
citrusové ovoce	4-8	90	3-8 týdnů
gřep	10-15	90	4-16 týdnů
kiwi	-0,5-0	90-95	2-3 měsíce
citrony	10-14	90	2-6 měsíců
pomeranče	2-7	90	1-4 měsíce
hrušky	-1-0	90-95	1-6 měsíců
měkké ovoce	-1-0	90-95	2 dny – 3 týdny
peckové ovoce	-1-1	90-95	1-7 týdnů

3.3.4 Skladování v kontrolované atmosféře (CA)

Technika pro změnu atmosféry okolo potravin je změna a udržení atmosféry přímo ve skladovacích místnostech nebo velkých kontejnerech. Jde o nepřetržitě kontrolované složení plyných komponentů, které se nazývá kontrolovaná atmosféra. Tento postup je pro ovoce používán již dávno. [19]

Dýchání může být regulováno u mnoha plodin snížením množství O₂ a zvýšením množství CO₂. Kontrolovaná atmosféra se již dlouho používá pro prodloužení doby skladovatelnosti místo chlazení. CA je užívána pro citlivé plodiny na chlazení, kde samotné chlazení nespĺňuje požadovanou dobu skladování. [16]

Skladování v kontrolované atmosféře má pozitivní účinky na redukci dýchání, ztrátu vody, změnu barviv, vnitřní rozklad, inhibici produkce ethylenu a zrání, podržení pevnosti, barvy a nutriční kvality. [42]

Typy kontrolované atmosféry:

- krátkodobé ošetření vysokou koncentrací CO₂ – při tomto ošetření se ovoce vystaví 10 – 20 % CO₂ po dobu čtyř až sedmi dní. Jestliže dojde ke kondenzaci vlhkosti na povrchu ovoce, může dojít k poškození působením CO₂.
- prudké CA – krátký čas mezi sběrem a zavedením žádaných CA podmínek. Pro dodržení prudké CA musí být skladovací prostory plněny a zabezpečeny během tří dnů nebo kratší doby od skladování.
- nízká koncentrace O₂ – doporučená koncentrace O₂ je obvykle 2 % a nižší. Je známé, že koncentrace O₂ mezi 1 – 1,5 % je velice efektivní k prodloužení skladovatelnosti

některých druhů ovoce. Pečlivé hlídání přesného množství O₂ je nezbytné, aby bylo možné se vyhnout anaerobnímu dýchání.

- nízká koncentrace ethylenu – ethylen je odstraněn z CA prostor. Koncentrace ethylenu by měla udržovat kolem 1 ppm, aby byl zaručen prospěšný účinek.
- hypobarické CA – snížení tlaku pod normální atmosférický tlak. Zvětšení difúze plynů a ulehčení ztráty CO₂ a ethylenu z plodů a redukce gradientu O₂ mezi vnitřkem a vnějším plodu. Tato skladovací technika kombinuje výhody nízké koncentrace O₂ a ethylenu. [42]

Transport banánů je stále více uskutečňován pomocí CA (typicky 3 % O₂ a 5 % CO₂), zamezuje předčasnému zrání a kontroluje zranění. Vysoké množství CO₂ může mít přímý inhibiční účinek na množství patogenů. Horní hranice množství CO₂ závisí na citlivosti plodiny. Mnoho bobulovitých plodů je velice tolerantní, například černý rybíz určený pro přípravu džusů je často držen pod 40 % CO₂. Množství okolo 15 % signalizuje šedé zbarvení jahod, malin, třešní a grepů a omezená CA skladovací struktura se více používá pro tyto plodiny. [16]

U citlivých odrůd jablek nemá koncentrace CO₂ překročit 5 % při 2–3 % O₂. Meruňky a broskve jsou tolerantnější k vysokým dávkám CO₂. Např. u meruněk 42 % CO₂ v teplotě 8 °C, která po dvou dnech klesá na 16 %, nevyvolává fyziologické poškození – srovnatelné jsou také hodnoty 20 % CO₂ během 5 dnů, které platí i pro broskve. Při 2,5 % obsahu O₂ se mohou broskve skladovat bez újmy na kvalitě v 10 % CO₂ při teplotě 3–4 °C. Takové zpomalení metabolických přeměn brzdí všechny znaky zrání, plody pak při distribučních teplotách obtížně mobilizují tvorbu aromatických látek. Údaje o dalších druzích udává tabulka. [12]

tabulka 2: Doporučené plynné směsi [12, 42]

druh	t (°C)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)
borůvky	0	40	1–2
hrušky	–1	0,5–7	0,5–4
broskve	–1–0	2–3	2
hrozny	–2–1	3	2
jahody	0–2	do 10	1–2
maliny	–1–0	do 16	5
meruňky	–1–0	2–5	2–3
víno	–1–0	1–3	2–5
třešně	0–2	5–10	2–3
višně	–1–0	5	3
kiwi	0	3–5	1–2
nektarinky	–0,5–0	3–5	1–2
banány	14	5–10	3–10
citrony	13	0–10	5–10
pomeranče	7	0–5	5–10
gropy	13	1–3	2–5

3.3.5 Balení

Ochranný účinek obalu je zásadně dvojího druhu. Především se uplatňuje jako zábrana proti mechanickému poškození, které má za následek další změny chemické a biologické povahy. K mechanickým změnám dochází například nešetrným zacházením při sklizni, dopravě a skladování porušením povrchových pletiv nebo hlubším poškozením hmyzem, samovolným pádem ze stromu apod. Zdálo by se, že tyto změny zhoršují nanejvýš tržní a dietetickou hodnotu, ale jsou impulsem k rychlejším nebo velmi rychlým biochemickým změnám a často vedou ke zkáze produktu. [12]

Tradiční balení

Nejběžnějším obalem je dřevovláknitá krabice, ale pro mnoho produktů se používá další vnitřní obal, například papírové obaly, misky nebo talířky, podložky, které jsou důležité pro zamezení poškození produktů. Malá balení s relativně nízkým množstvím ovoce jsou používány k zamezení poškození pro choulostivé ovoce. Jednotlivé kusy mohou být baleny ve tkanině nebo papíru. [16]

Balení v modifikované atmosféře (MAP)

Balení v modifikované atmosféře je balení produktů podléhajících zkáze. Atmosféra je upravená tak, že její složení je jiné než je složení vzduchu a konstantně se mění díky chemickým reakcím a mikrobiální aktivitě. [22]

Uměle vytvořená plynná směs (tzv. upravená atmosféra, někdy označovaná také jako kontrolovaná, modifikovaná atmosféra) je výsledkem optimalizace kumulativní inhibice obou plyných složek na metabolismus plodu, kdy ještě nejsou příznivé důsledky snížení intenzity dýchání rušeny nebo dokonce znehodnocovány produkcí ochromujících zplodin. [12]

Pro dosažení kvality baleného ovoce, musí být vysoké kvality už samotná surovina. Dále jsou požadavky na dodržování správné hygienické praxe a vhodné teploty při skladování. [22]

Využívají se hlavně tři plyny: kyslík, oxid uhličitý a dusík a to buď v kombinaci nebo samotné. Tyto plyny se obvykle používají k vyrovnávání nebezpečného skladování s optimálními organoleptickými vlastnostmi. [22]

Kyslík je toxický veškerému živému pokud je parciální tlak dostatečně vysoký. Vysvětlení toxicity zahrnuje následující: inaktivace obsahujících enzymů, vzrůst intracelulárního tvoření peroxidu vodíku, oxidace membránových lipidů a produkce peroxidových radikálů v živém organismu. Tyto efekty jsou rovnocenné, ale tvorba peroxidových radikálů má pravděpodobně hlavní důležitost. [19]

Oxid uhličitý má důležitý regulační vliv na žijící buňku. Všechny buňky vyžadují oxid uhličitý k růstu, ale jestliže parciální tlak oxidu uhličitého vzroste nad kritickou hranici, metabolická aktivita bude zpomalena. Efekt inhibice růstu oxidu uhličitého je silně ovlivněn teplotou. Inhibiční působení parciálního tlaku oxidu uhličitého v plynné fázi vzrůstá s klesající teplotou. [19]

Dusík nemá takový efekt, který vytvoří anaerobní prostředí. Ale zadržuje oxidační reakce nebo inhibuje růst aerobů. Proto se používá k výměně O_2 v prostoru obalu nebo jako výplňový plyn pro prevenci proti zhroucení obalu. [35]

Dalšími plyny, které měly experimentální úspěch jsou CO , SO_2 , N_2O , NO , He , H_2 , Ar , ethylenoxid, propylenoxid a Cl_2 . [35]

Argon potlačuje enzymatickou aktivitu a kontroluje nepříznivé chemické reakce, redukcí dýchání a má přímý vliv na prodloužení trvanlivosti. Ale zatím chybí jasný důkaz podporující to, že částečná nebo úplná výměna N_2 má užitečný efekt v MAP systému. [34]

Užití exogenního NO inicializované krátkodobou fumifací může prodloužit posklizňový život čerstvých produktů inhibicí produkce a činnosti ethylenu. Nežádané změny v barvě sklizeného ovoce mohou být zpožděny pomocí NO. NO je efektivnější u neklimakterického ovoce než u klimakterického. [34]

Komerční aplikace těchto plynů je limitována jejich vlastní nebezpečností, legalitou, organoleptickými a technickými problémy. Tyto problémy jsou způsobeny vlastním plynem. [35]

Balení ovoce v modifikované atmosféře zajistí úpravu dýchání pro prodloužení úchovy a zachování kvality. Dýchání může být sníženo snížením teploty, koncentrace O_2 , zvýšením koncentrace CO_2 a zkombinováním těchto faktorů. Pokud je koncentrace O_2 snížena pod kritickou koncentrací, která závisí na druhu a odrůdě, pak je zahájeno anaerobní dýchání. Anaerobní dýchání obvykle způsobí nežádoucí vůni a chuť a zhoršení kvality produktu. Nadměrným zvýšením koncentrace CO_2 mohou dojít k poškození produktu. [22]

Snížení koncentrace O_2 pod 5 % snižuje rychlost dýchání mnoha druhů. Některé kultivary jablek tolerují koncentraci O_2 pod 0,5 %. Ve všeobecnosti, koncentrace O_2 nižší než 3 % může způsobit anaerobní dýchání mnoha druhů čerstvých produktů. [22]

MAP může přinést snížení dýchání a produkci ethylenu, zpomalení zrání, stárnutí a ztráty vody, redukce výskytu fyziologických onemocnění a působení patogenů. MAP také ovlivňuje biochemické reakce související se syntézou a degradací pigmentů. [34]

Pro MAP se obvykle používají flexibilní polotuhé pláty nebo lamináty. Obvykle se používá polyethylen, polypropylen, polyamid, polyethylentereftalát, polyvinylchlorid, polyvinylidenchlorid a ethylenvinylalkohol. [22]

Modifikovaná atmosféra může být vytvořena uvnitř obalu dvěma způsoby. Aktivní modifikace zahrnuje natažení mírného vakua dovnitř obalu, a pak nahrazení atmosféry požadovanou plynou směsí. Absorbéry CO_2 , O_2 nebo ethylenu jsou zapuštěny v obalu a kontrolují koncentraci těchto plynů. U pasivní modifikace se atmosféra utvoří díky dýchání plodin v obalu. Výsledná rovnováha atmosféry je dána charakteristikami plodin a obalového filmu. V MAP je velice důležité sledovat teplotu, která ovlivňuje propustnost plynů, stejně tak jako rychlost dýchání produktů. Jednou z hlavních nevýhod MAP je potenciální snížení hladiny O_2 tak nízko, že vzniká nepříjemný zápach díky fermentaci tkání. [16]

Banány jsou obvykle transportovány v polyethylenových pytlích. Na tom je možné dokázat, že stabilní atmosféra, obsahující 2 % O_2 a 5 % CO_2 , může život banánů prodlužovat až pětinasobně. [16]

Aktivní balení

Aktivní obal mění podmínky zabalené potraviny, prodlužuje dobu skladování, zlepšuje bezpečnost nebo sensorické vlastnosti a udržuje kvalitu potravin. Aktivní obalová technika pro uchování a zlepšení kvality a bezpečnosti může být rozdělena do tří kategorií: absorpční systémy, uvolňující systémy a ostatní systémy. Absorpční systémy odstraňují nežádoucí komponenty jako jsou kyslík, oxid uhličitý, ethylen, nadměrné množství vody, nárůzy a jiné specifické komponenty. Uvolňovací systémy aktivně přidávají nebo odebírají komponenty do balené potraviny nebo do prostoru mezi potravinou a obalem jako jsou oxid uhličitý,

antioxydanty a konzervační látky. Ostatní systémy mohou mít různé úkoly jako zahřívání, chlazení a konzervace. [34]

Tyto systémy mohou být sáčky, štítky nebo filmy. Sáčky jsou umístěny volně v prostoru obalu. Štítky jsou připevněny na víčku obalu. Přímému kontaktu s potravinou se vyhýbá, protože to je snížení funkčnosti systému, a na druhou stranu, může způsobit migrační problémy. [34]

Filmy nebo materiály mající antimikrobiální vlastnosti mohou být rozděleny na dva typy:

- ty, z kterých aktivní substance emituje nebo migruje do prostoru obalu nebo na povrch potraviny. Nejprve systém nepotřebuje přímý kontakt s potravinou, ale později musí být v kontaktu.
- ty, které jsou efektivní proti mikrobiálnímu růstu bez emitace nebo migrace do prostoru obalu nebo na potravinu. Materiál tedy musí být v přímém kontaktu s potravinou. [34]

tabulka 3: Příklady absorbčního systému pro ovoce [34]

typ balení	příklady reagentů	význam
absorbéry ethylenu (sáčky, filmy)	Al_2O_3 , KMnO_4 (sáčky) Aktivovaný uhlík + kovový katalyzátor (sáčky) hlinka(filmy)	prevence před rychlým zráním a měknutím
absorbéry vlhkosti (absorbující čtverce, sáčky, filmy)	polyakryláty (čtverce) propylenglykol (film) silikagel (sáčky)	kontrola nadbytku vlhkosti v obalu, redukce aktivity vody na povrchu potraviny jako prevence před růstem plísní, kvasinek a bakterií

tabulka 4: Příklady uvolňujících systémů pro ovoce [34]

typ balení	příklady reagentů	význam
emitor CO_2 (sáčky)	kyseliny askorbová NaHCO_3 , $\text{NaHC}_6\text{H}_6\text{O}_6$	inhibice růstu gramnegativních bakterií a plísní
uvolňující se antimikrobiální konzervační látka (filmy)	organické kyseliny: sorbová extrakty z kořenu a rostlin allylisoithiokyanát enzymy: lysozom	inhibice kažení a růstu patogenních bakterií
emitor SO_2 (sáčky)	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ inkorporovaný v mikroporézním materiálu	inhibice růstu plísní

tabulka 5: Příklady dalších systémů aktivního balení pro ovoce [34]

typ balení	příklady principů	význam
teplocitlivé filmy	propustnost plynu skrz polymer je kontrolována obsahem náplně, zrnitost náplně a stupněm napínání filmu	vyvarování se anaerobnímu dýchání
nylonové filmy ošetřené UV zářením	přeměnění amidových skupin na povrchu nylonu na aminové skupiny pomocí excimer laseru 193 nm	inhibice nárůstu poškození bakteriemi

4. ANALYTICKÉ METODY

4.1 Stanovení redukujících cukrů

4.1.1 Extrakce

K dokonalé extrakci musí být materiál velmi jemně rozemletý. Extrakce cukrů se provádí ve vodě nebo ethanolu po vhodné době. Rozpustné sacharidy přecházejí do roztoku 80 %ního ethanolu. Důležitým krokem je odkyselení pomocí CaCO_3 . [28]

4.1.2 Deproteinace – čiření

Cukerné roztoky získané etanolovou extrakcí nejsou zpravidla ještě použitelné pro další stanovení. Ideální čiřící prostředek neexistuje, jeho použití se řídí druhem analyzovaného materiálu a zvolenou metodou stanovení cukrů. Jako čiřících prostředků se používá jednak látky, které srážejí koloidní látky, jednak se využívá adsorpce koloidních látek na vhodné sorbenty. [28]

4.1.3 Somogyi – Nelsonova metoda

Metoda využívá schopnosti vyredukovaného Cu_2O vytvářet modrozelenou komplexní sloučeninu s arsenmolybdenanovým činidlem. K oxidoredukční reakci se používá směs Somogyiho roztoků I a II. Barevná reakce je vyvolána smícháním reakčních roztoků s Nelsonovým činidlem. Vzorky jsou měřeny pomocí UV a VIZ spektrofotometru. Koncentrace roztoků analyzovaných cukrů se zjišťuje odečtením z kalibrační křivky, která je připravena s příslušným standardem. [24]

4.1.4 Spektrofotometrie

Podstatou ultrafialové a viditelné spektrofotometrie je absorpce ultrafialového a viditelného záření (200 až 800 nm) zředěnými roztoky molekul. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů, které jsou součástí molekulových orbitalů. Proto molekulová absorpční spektra v ultrafialové a viditelné oblasti jsou podstatou elektronového spektra. [25]

Na kyvetu obsahující roztok vzorku dopadá zářivý tok. Prošlý zářivý tok je ochuzen o odražené, rozptýlené a absorbované záření. Předpokládá se, že rozhodující část úbytku záření připadá na jeho absorpci. Odraz a rozptyl se zanedbává. [25]

Poměr intenzity záření vystupujícího Φ a vstupujícího Φ_0 se nazývá transmitance T . Pro výpočet koncentrace látky je výhodný pojem absorbance: $A = -\log T$. Pak platí zákon Lambertův – Beerův: $A = \varepsilon cl$, kde ε je molární absorpční koeficient, c je koncentrace látky a l tloušťka absorbující vrstvy. [28]

Při spektrofotometrickém měření se sleduje intenzita zeslabeného monochromatického záření při průchodu zkoumanou látkou ve vhodném roztoku. Absorpční spektrofotometr je tvořen čtyřmi základními částmi. Jsou to zdroj záření, monochromátor, absorpční prostředí a detekční systém. [29]

4.2 Stanovení obsahu organických kyselin

Ovoce má kyselou reakci, protože obsahuje kyseliny a kyselé soli. Celková kyselost odpovídá množství hydroxidu sodného, kterého je zapotřebí k neutralizaci všech kyselých součástí ovoce. Zjištěné množství hydroxidu sodného se přepočítává na tu kyselinu, která v druhu ovoce převládá. U jablek jako kyselina jablečná. [1]

4.3 Stanovení sušiny

4.3.1 Refraktometrie

Podstatou metody je měření indexu lomu. Dopadá-li paprsek na fázové rozhraní, mohou nastat dva jevy:

- reflexe (odraz) – úhel dopadu paprsku α se rovná úhlu odrazu α'
- refrakce (lom) – při průchodu paprsku do jiné fáze se paprsek láme v důsledku rozdílné rychlosti světla v obou fázích. Úhel lomu β je menší než úhel dopadu α tehdy, když paprsek přechází do fáze, ve které je proti původní fázi rychlost světla nižší (lom ke kolmici). V opačném případě nastává lom od kolmice. Úhly dopadu, odrazu i lomu se měří mezi paprskem a kolmicí spuštěnou na fázové rozhraní. [25]

Index lomu je poměr rychlostí světla v obou fázích. Aby bylo možné porovnávat látky podle jejich indexu lomu, volí se shodné prostředí, ze kterého paprsek dopadá. Z teoretického hlediska je ideálním prostředím vakuum, z praktického hlediska je účelnější vzduch. [25]

Množství rozpuštěných látek v roztoku ovlivňuje index lomu, který se zjistí refraktometrem. V příslušné tabulce se vyhledá odpovídající sušina. [26]

4.4 Stanovení škrobu

4.4.1 Škrobový test

Škrob obsažený v jablkách reaguje s roztokem jodidu draselného za vzniku tmavých skvrn. Zbarvení vzniká při vniknutí molekuly jodu do struktury amylosy. A vizuální vzhled jablka se srovná se stupnicí. [27]

Škrobový index, měřený škrobovým testem, je důležitý jako maximální index pro sklizeň a je různý pro různé odrůdy jablek. [30]

Škrobový test je levný a rychle proveditelný test, který ukazuje celkový obsah škrobu, ale množství škrobu není kvantitativně měřeno. [30]

V závislosti na odrůdě jablek dochází ke dvěma způsobům ubývání škrobu, buď cirkulární nebo radiální způsob. U jedné skupiny jablečných odrůd, radiální způsob, začíná degradace škrobu v dužnině a směřuje do vnějších částí. U druhé skupiny, cirkulární způsob, degradace začíná ve středu a vyvíjí se v kruzích. Každý z těchto způsobů má stupnici od 1 do 10. [30, 31]

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

1. CHEMIKÁLIE, PŘÍSTROJE A MATERIÁL

1.1 Chemikálie

80% ethanol

CaCO₃

5 % ZnSO₄

Ba(OH)₂

Somogyiho roztok I: 24 g bezvodého Na₂CO₃, 16 g NaHCO₃, 12 g vlnan sodno-draselný, 144 g Na₂SO₄ se rozpustí v 800 ml destilované vody

Somogyiho roztok II: 4 g CuSO₄ a 24 g Na₂SO₄ se rozpustí v 200 ml destilované vodě

Nelsonův roztok: 25 g NH₄MoO₃ se rozpustí v 450 ml destilované vody, poté se přidá 21 ml kyseliny sírové a 25 ml roztoku Na₂HAsO₄ (3 g). Před použitím se roztok nechá 48 h při 27 °C v tmavé lahvy.

Příprava standardního roztoku redukujícího sacharidu: 0,0114 g glukózy se rozpustí v 100 ml odměrné baňce v destilované vodě a doplní se po rysku.

NaOH

dihydrát kyseliny šťavelové

1 % fenolftalein

roztok jodidu draselného: 10g KI a 3 g I₂ se rozpustí v 1l vody.

1.2 Přístroje

Abbeho refraktometr

Spektrofotometr Unicam typ Hélios Epsilon

Dvojvaříč Eta 311901

Analytické váhy

1.3 Materiál

Pro sledování změn během zrání a skladování byly použity jablka. Byly vybrány čtyři odrůdy: Šampion, Glostr, Golden Delicious a Idaret. Šampion, Glostr a Golden Delicious byly sklizeny 22. 9. 2008 a Idaret 13. 10. 2008.

Jablka byla skladována v chladícím boxu a při běžných laboratorních podmínkách při teplotě 20 – 23 °C. V chladícím boxu byla udržována teplota 2 – 3 °C a větrání.

Jablka byla skladována v chladícím boxu do konce března a při laboratorních podmínkách do začátku ledna.

2. ANALYTICKÉ METODY

2.1 Stanovení redukujících cukrů

2.1.1 Extrakce

Zvážený vzorek se rozmělní (případně usuší) a převede se kvantitativně do Erlenmayerovy baňky 80 % ethanolem. Kyselost se odstraní CaCO_3 . Baňka se opatří zpětným chladičem a obsah se zahřeje na vodní lázni k bodu varu a při této teplotě se udržuje 30 minut. Poté se obsah baňky zfiltruje do varné baňky, nerozpustný podíl se převede zpět do Erlenmayerovy baňky, přidá se 80 % ethanol a opět se zahřívá na vodní lázni, obsah se zfiltruje do stejné baňky. (tento roztok se může uchovávat libovolnou dobu)

2.1.2 Deproteinace vzorku:

Do zkumavky se pipetují 2 ml ethanolového extraktu a přidají se 4 ml 5 % ZnSO_4 . Zamíchá se a přidají se 2 ml Ba(OH)_2 . Poté se 1 min třepá se zkumavkou a nechá se stát 10 – 30 min. Následně se filtruje.

2.1.3 Vlastní stanovení

Do zkumavky se pipetuje 0,5 ml Somogyiho činidla (I. + II. v poměru 4:1) a přidá se 0,5 ml deproteinovaného vzorku. Nechá se 10 minut povařit ve vodní lázni a následně se ochladí na laboratorní teplotu. Poté se do zkumavky přidá 0,5 ml Nelsonova roztoku (činidlo III.) a doplní se 8,5 ml destilované vody. Obsah zkumavky se dobře promíchá a měří se absorbance na spektrofotometru proti blanku při 750 nm.

Kalibrace redukujících cukrů

Ze standardního roztoku redukujícího sacharidu se připraví v sérii 6-ti zkumavek ředěním destilovanou vodou kalibrační roztoky a dále se zpracují stejným způsobem jako vzorky. Do grafu se vynese $A=f(c)$ a provede se lineární regrese z níž se vypočítají parametry.

2.2 Stanovení celkového množství cukrů

Pro stanovení celkového množství cukrů se použije stejný postup jako pro redukující cukry, ale před vlastním stanovením se provede inverze.

2.2.1 Inverze

Ke 0,2 ml deproteinovaného vzorku se přidá 1 ml 0,5 mol/l H_2SO_4 a zahřívá se na vroucí vodní lázni 20 min. Po ochlazení se neutralizuje 1 ml 0,5 mol/l NaOH.

2.3 Stanovení kyselin

Odváží se 20 g jemně rozemletého vzorku jablek a spláchne se destilovanou převařenou vodou do baňky o obsahu 200 ml. Přidá se destilovaná voda asi na objem 100 ml a zahřeje se na 80 °C. Na této teplotě se udržuje po dobu 30 minut. Potom se obsah kvantitativně převedeme do odměrné baňky o obsahu 200 ml. Po ochlazení na 20 °C se doplní po značku a

filtruje se přes skládaný filtr. Z filtrátu se odpipetuje 10 ml a titruje se roztokem 0,1 mol/l (0,01 mol/l) NaOH na fenolftalein.

Množství spotřebovaných ml roztoku NaOH přepočítáme na obsah organické kyseliny v g násobením faktorem pro příslušnou skupinu ovoce (kyselinu), do které zkušební materiál náleží. (peckové, jádrové – kyselina jablečná – 0,0067

Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného

Nejprve se vypočte hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové potřebné pro přípravu 100 ml roztoku o koncentraci 0,1 mol /l. Vypočtené množství se diferenčně odváží s přesností na čtyři desetinná místa, kvantitativně se převede do odměrné baňky na 100 ml a doplní destilovanou vodou po značku. Z tohoto roztoku se pipetuje do titrační baňky přesně 10 ml, přidají se tři kapky roztoku fenolftaleinu a titruje se odměrným roztokem hydroxidu sodného do prvního trvalého růžového zbarvení. Titrace se provede třikrát a z průměrné spotřeby se vypočítá přesné koncentrace odměrného roztoku hydroxidu sodného.

2.4 Stanovení sušiny

Z jemně rozmělněných vzorků vylisujeme šťávu ve složeném filtračním papíře a změříme na refraktometru.

Před měřením se zkontroluje nulová poloha refraktometru. Plochy hranolů se nejdříve důkladně vyčistí destilovanou vodou a vytřou do sucha. Na spodní hranol se nanese tyčinkou destilovaná voda, rozetře se, přiklopí se horní hranol a zabezpečí klíčem. Pak se nastavuje sklon hranolů tak, aby rozhraní světla a stínu bylo v průsečíku kříže. Nyní se nastaví stupnice přesně na nulu. Potom se hranoly znovu odklopí, vysuší, na spodní hranol se nanese malé množství vzorku a rozetře se po celé ploše hranolu. Po ustálení teploty (asi po 1 minutě) se odečte index lomu s přesností na čtyři desetinná místa. Měření se provádí třikrát a vypočítá se aritmetický průměr.

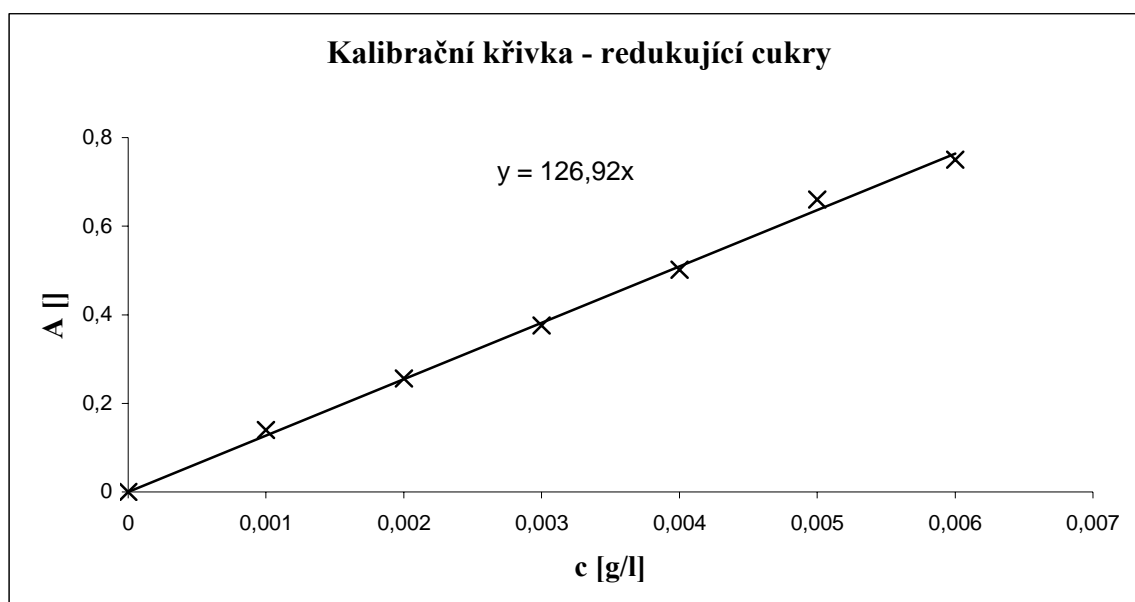
2.5 Stanovení škrobu

Utrhne se 10 jablek ve výšce očí z deseti různých stromů. Následně se jablka rozkrojí a uříznutou stranou se ponoří asi na 1 min do roztoku jodidu draselného. Poté se vizuální vzhled jablka srovná se stupnicí. Stupnice cirkulárního i radiálního typu jsou uvedeny v příloze.

VÝSLEDKY A DISKUZE

1. KALIBRACE REDUKUJÍCÍCH CUKRŮ

Kalibrační křivka byla sestrojena pro stanovení redukujících cukrů Somogyi – Nelsonovou metodou.



Obrázek 8: Kalibrační křivka - redukující cukry

2. STANDARDIZACE ODMĚRNÉHO ROZTOKU HYDROXIDU SODNÉHO – STANOVENÍ KYSELIN

$$m_{\text{kys. šťávelová}} = 0,1261 \text{ g}$$

$$M_{\text{kys. šťávelová}} = 126,07 \text{ g/mol}$$

$$V_{\text{NaOH}} = 21,4; 21,4; 21,4 \text{ ml}$$

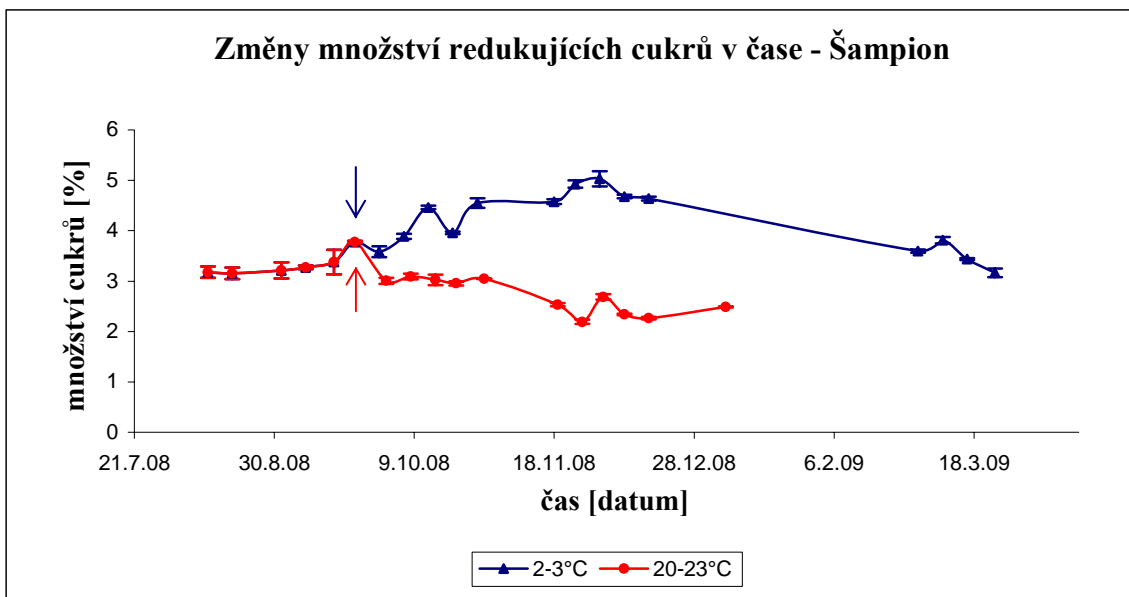
$$c_{\text{NaOH}} = \frac{m_{\text{kys. šťávelová}}}{5M_{\text{kys. šťávelová}} \cdot V_{\text{NaOH}}} = \frac{0,1261}{5 \cdot 126,07 \cdot 0,0214} = 9,3 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$$

3. VYBRANÉ PARAMETRY

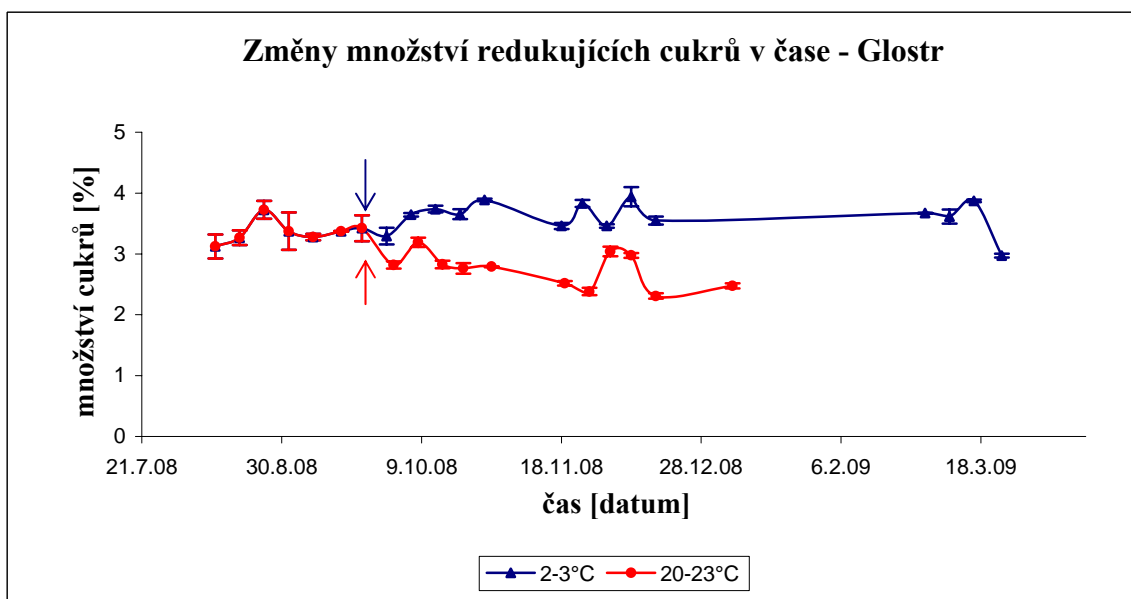
3.1 Množství redukujících cukrů

Před sklizní dochází u odrůdy Šampion, Golden Delicious a Idaret k statisticky významnému nárůstu redukujících cukrů na hodnoty u jednotlivých odrůd: Šampion 3,8 %, Golden Delicious $3,2 \pm 0,1$ % a Idaret 3,8 %. U odrůdy Glostr nedochází ke statisticky významnému nárůstu.

Při sklizni je množství redukujících cukrů u Šampionu 3,8 % (Obrázek 9), u Glostru $3,4 \pm 0,2$ % (Obrázek 10), u Golden Delicious $3,2 \pm 0,1$ % (Obrázek 11) a u Idaretu 3,8 % (Obrázek 12).

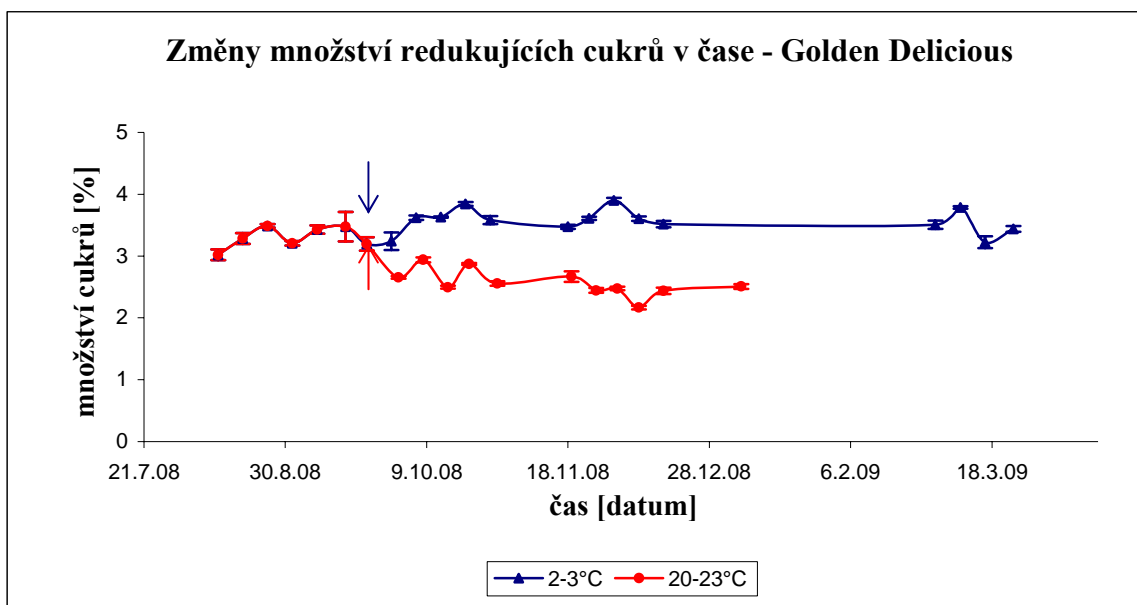


Obrázek 9: Změny množství redukujících cukrů – Šampion (→ - sklizeň)

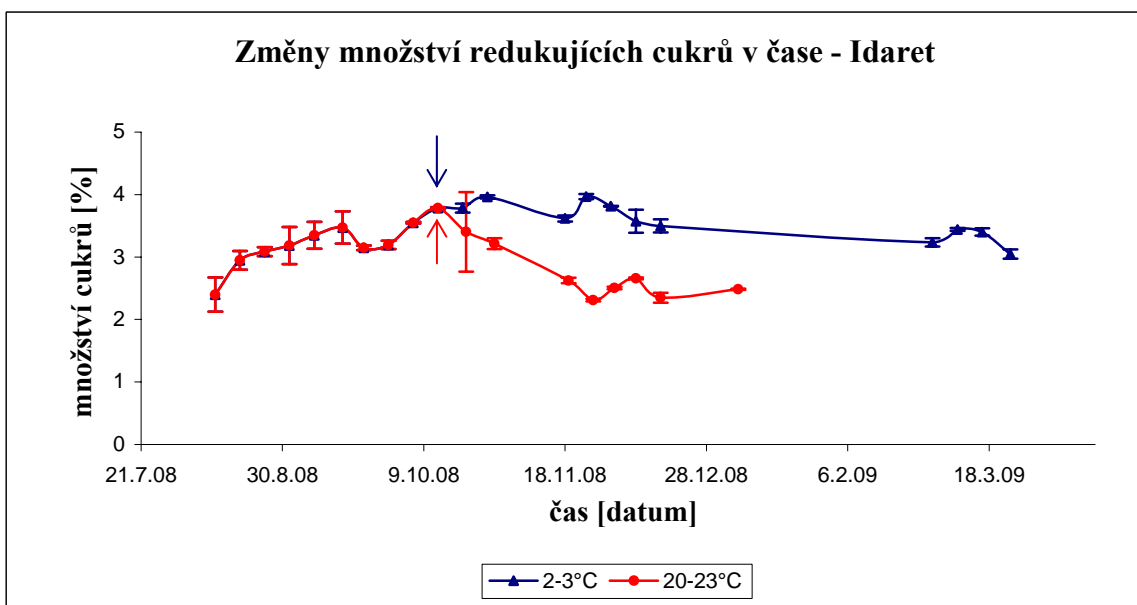


Obrázek 10: Změny množství redukujících cukrů – Glostr (→ - sklizeň)

U jablek, která byla skladována v chladicím boxu při 2 – 3 °C, množství redukujících cukrů statisticky významně stoupá u všech odrůd až do konce listopadu. U jednotlivých odrůd na hodnoty: Šampion $5,0 \pm 0,1$ %, Glostr $3,9 \pm 0,2$ %, Golden Delicious $3,9 \pm 0,0$ % a Idaret 4,0 %. Nárůst redukujících cukrů u Šampionu je výraznější než u ostatních odrůd. Nárůst je způsoben rozkladem polysacharidu. Následuje ztráta redukujících cukrů v důsledku dýchání plodů. Tento pokles je statisticky významný u všech odrůd a je na hodnoty u Šampionu $3,2 \pm 0,1$ %, u Glostru 3,0 %, u Golden Delicious 3,4 % a u Idaretu $3,0 \pm 0,1$ %. (Obrázek 9, Obrázek 10, Obrázek 11, Obrázek 12)



Obrázek 11: Změny množství redukujících cukrů – Golden Delicious (→ - sklizeň)



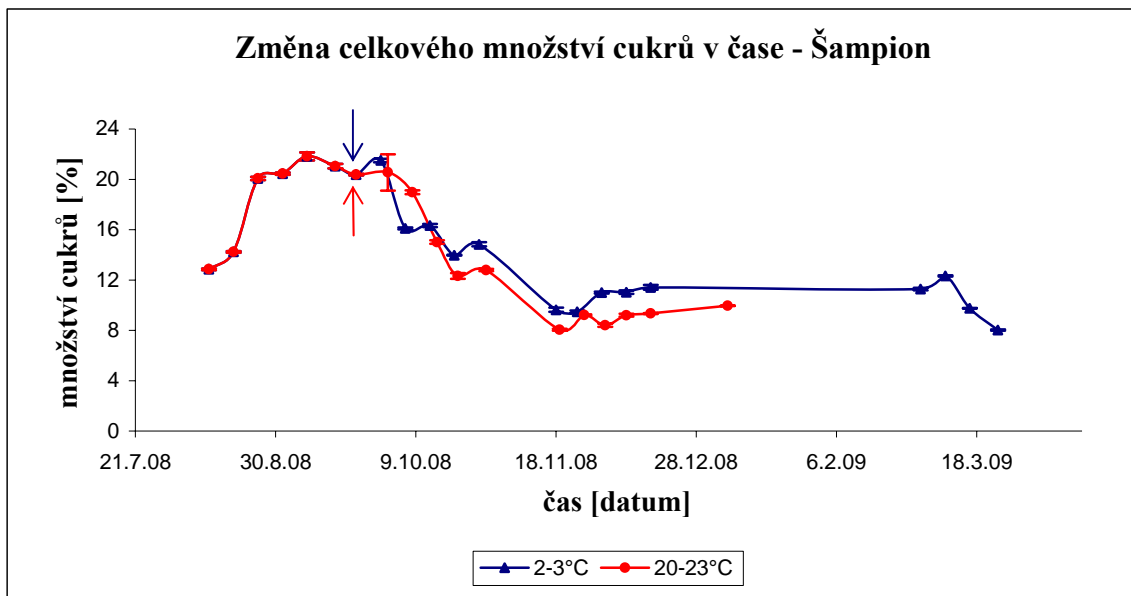
Obrázek 12: Změny množství redukujících cukrů – Idaret (→ - sklizeň)

U jablek, skladovaných při 20 – 23 °C, dochází ihned po sklizni ke statisticky významnému poklesu redukujících cukrů na hodnotu průměrně 2,5 %. U jednotlivých odrůd je to: Šampion 2,5 %, Glostr 2,5 %, Golden Delicious 2,5 %, Idaret 2,5 %. To je způsobeno rychlým a intenzivnějším nárůstem dýchání plodů. (Obrázek 9, Obrázek 10, Obrázek 11, Obrázek 12)

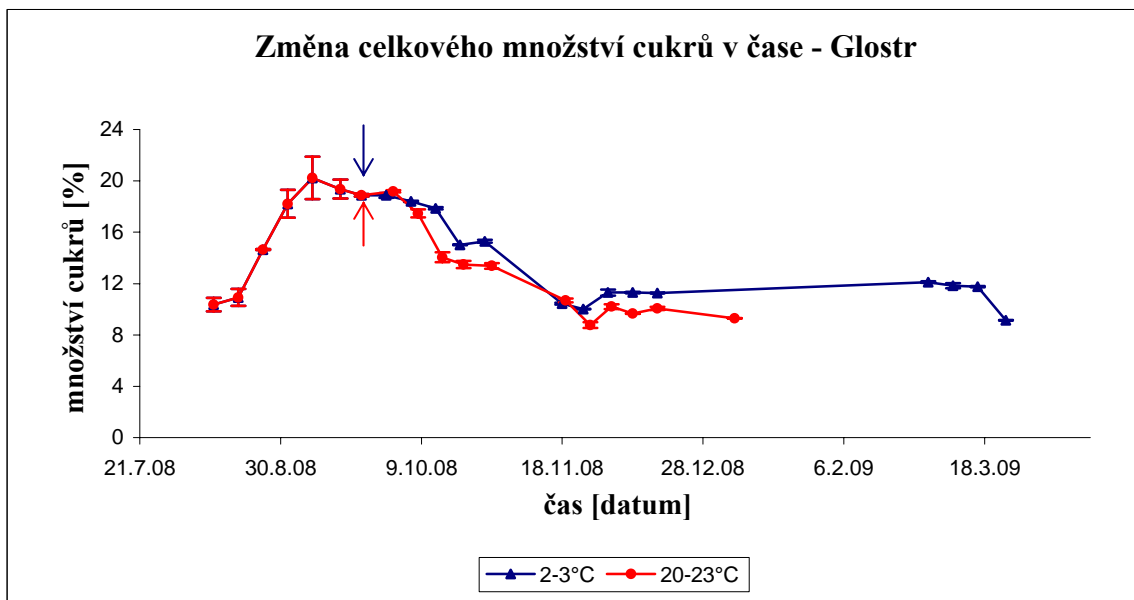
Z těchto zjištěných rozdílů je možné usoudit, že teplota uskladnění má výrazný vliv na ztrátu redukujících cukrů, kdy při vyšší teplotě dochází k rychlejším ztrátám než při nižší teplotě.

3.2 Celkové množství cukrů

Během zrání jablek dochází ke statisticky významnému nárůstu celkového množství cukrů u všech odrůd a to na hodnoty: Šampion $21,8 \pm 0,3$ %, Glostr $20,2 \pm 1,6$ %, Golden Delicious $20,0 \pm 0,9$ a Idaret $18 \pm 0,6$ %. Nejvýraznější nárůst je vidět u všech odrůd do konce srpna, a poté následuje mírnější nárůst až do období sklizně. (Obrázek 13, Obrázek 14, Obrázek 15, Obrázek 16) Tento nárůst je zapříčiněn dodáváním jednoduchých cukrů i polysacharidů z rostliny do plodů.



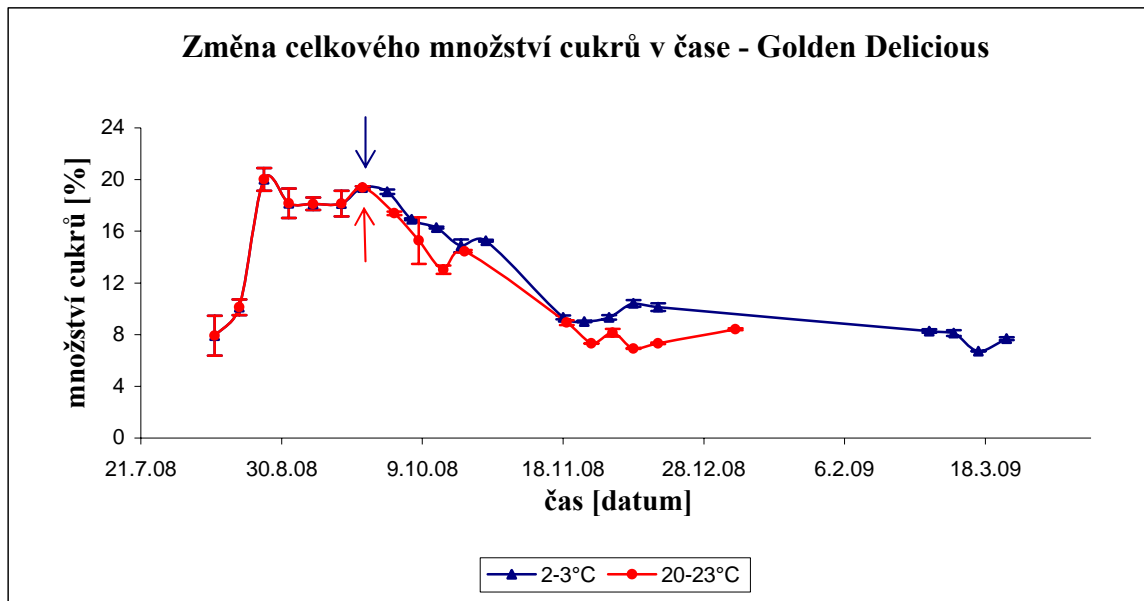
Obrázek 13: Změna celkového množství cukrů v čase – Šampion (→ - sklizeň)



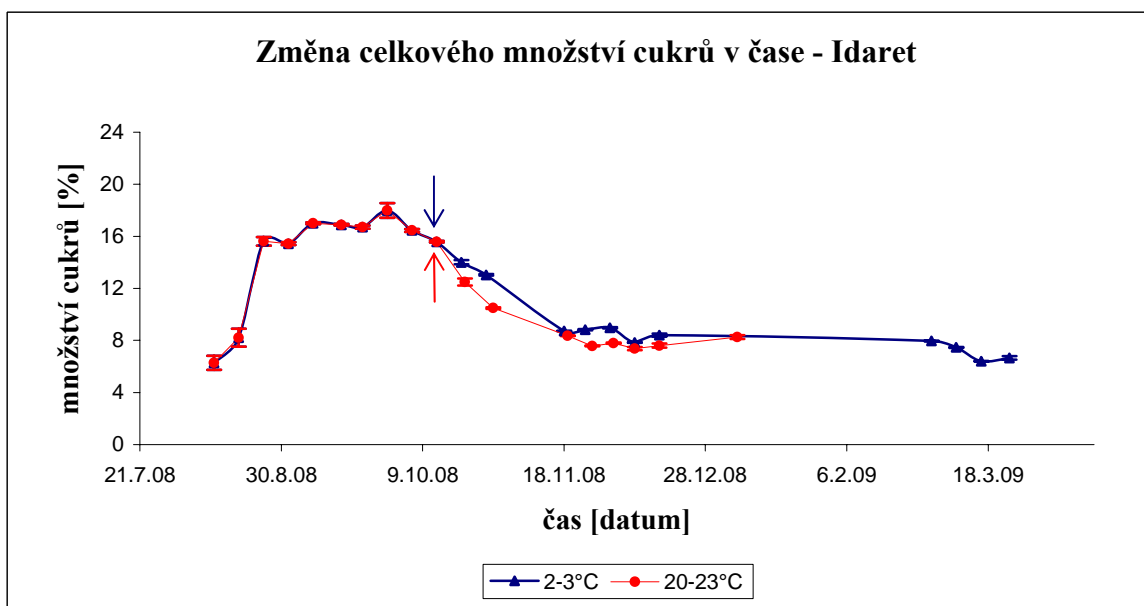
Obrázek 14: Změna celkového množství cukrů v čase – Glostr (→ - sklizeň)

Při sklizni je celkové množství cukrů u Šampionu $20,4 \pm 0,1$ %, u Glostru $18,9 \pm 0,1$ %, u Golden delicious $19,4 \pm 0,1$ % a u Idaretu $15,5 \pm 0,1$ %. Po utržení jablek ze stromu celkové

množství cukrů klesá v důsledku nedodávání živin rostlinou a rozkladu polysacharidů na jednoduché cukry, které jsou spotřebovány na dýchání plodu. Pokles je statisticky významný a dochází k němu do konce listopadu. Při skladování v chladicím boxu jsou hodnoty jednotlivých odrůd takovéto: Šampion $9,5 \pm 0,1$ %, Glostr $10,0$ %, Golden delicious $9,0 \pm 0,1$ % a Idaret $8,8$ %. A při skladování v teplotě $20 - 23$ °C jsou hodnoty takové: Šampion $9,2$ %, Glostr $8,8 \pm 0,2$ %, Golden delicious $7,3 \pm 0,3$ % a Idaret $7,6$ %. Porovnáním hodnot je možné také zjistit, že hodnoty pro jablka skladovaná v chladicím boxu a při teplotě $20 - 23$ °C ve stejném čase je statisticky významný rozdíl. V chladicím boxu tedy dochází k menšímu snížení celkového množství cukrů. (Obrázek 13, Obrázek 14, Obrázek 15, Obrázek 16)



Obrázek 15: Změna celkového množství cukrů v čase – Golden Delicious (→ - sklizeň)



Obrázek 16: Změna celkového množství cukrů v čase – Idaret (→ - sklizeň)

Od konce listopadu do začátku března v případě skladování v chladicím boxu a do začátku ledna v případě skladování při teplotě 20 – 23 °C dochází u Šampionu a Glostru k mírnému statisticky významnému nárůstu celkového množství cukrů. V případě chladicího boxu to je na: Šampion 11,3 ± 0,1 % a Glostr 12,1 ± 0,1 %. Při skladování při 20 – 23 °C to je na: Šampion 10,0 % a Glostr 9,3 %. Mírný nárůst byl způsoben zpomalením dýchání a nahromaděním cukrů. U Golden Delicious a Idaretu dochází v tomto období v chladicím boxu k mírnému statisticky významnému poklesu množství cukrů: Golden delicious 8,3 ± 0,1 % a Idaret 8,0 %. U těchto odrůd nedošlo k tak výraznému zpomalení dýchání, že se cukry nahromadily a došlo tedy k poklesu. A při skladování při 20 – 23 °C dochází k mírnému statisticky významnému nárůstu: Golden delicious 8,4 ± 0,3 % a Idaret 8,3 ± 0,2 %. Největší pokles je od doby sklizně do konce listopadu, poté dochází k méně výrazným změnám.

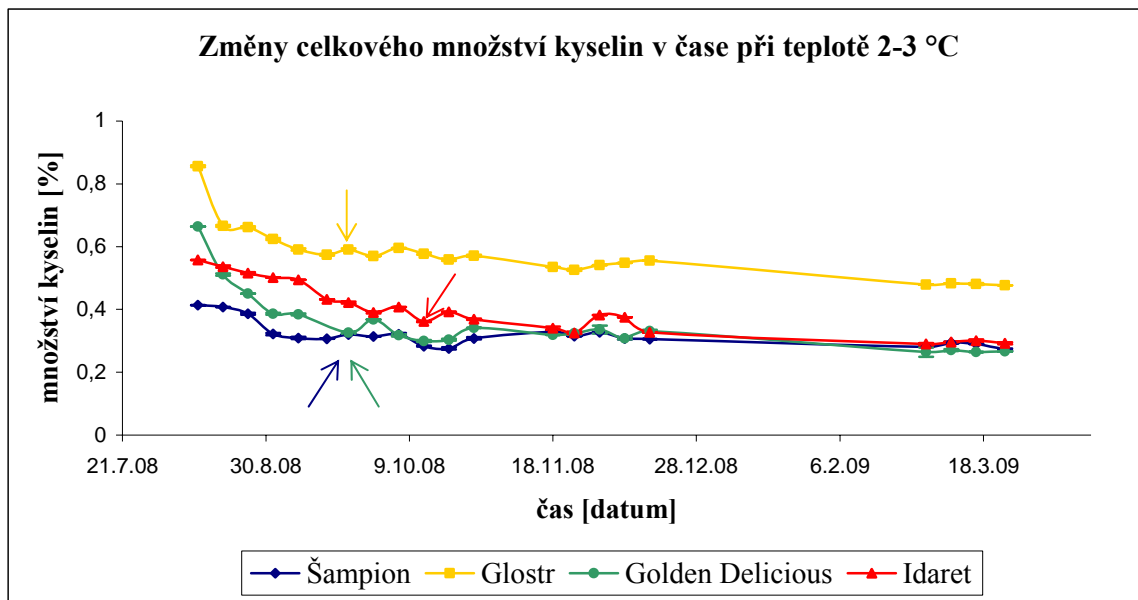
U jablek skladovaných v chladicím boxu dochází na začátku března k dalšímu statisticky významnému poklesu na hodnoty: Šampion 8,0 ± 0,1 %, Glostr 9,1 %, Golden Delicious 7,7 ± 0,1 % a Idaret 6,7 ± 0,1 %. Cukry jsou nadále zpracovávány na dýchání, a proto dochází k poklesu. Jablka, která byla skladována při teplotě 20 – 23 °C, již nemohla být měřena z důvodu degradace.

(Obrázek 13, Obrázek 14, Obrázek 15, Obrázek 16)

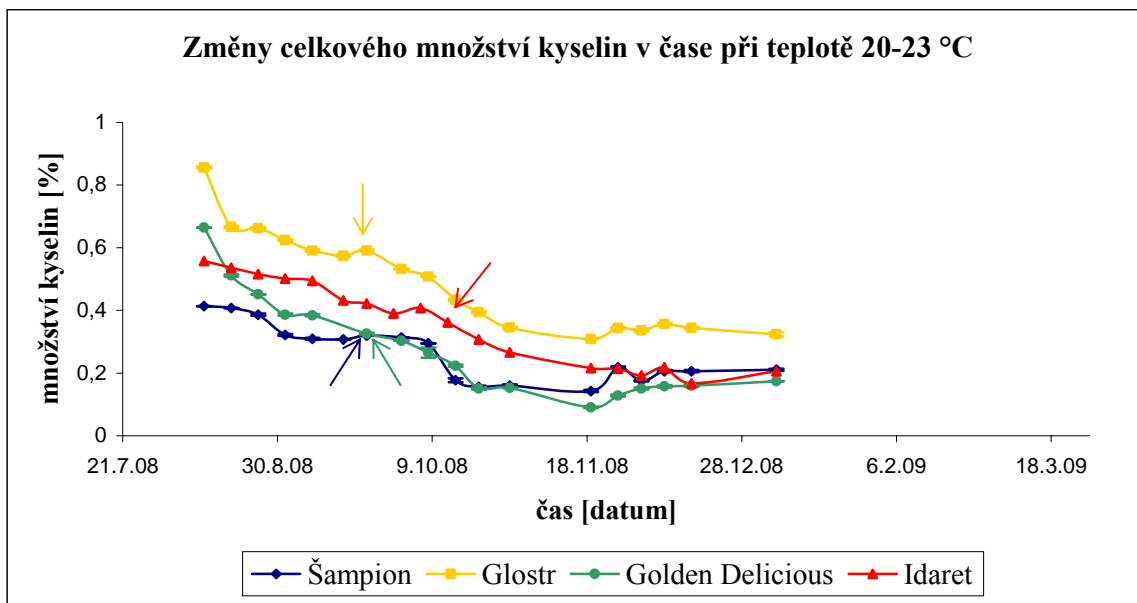
3.3 Množství kyselin

U všech odrůd dochází k poklesu celkového množství kyselin, které jsou spotřebovávány při dýchání. Mnohem výraznější pokles, a tedy spotřeba kyselin, je u jablek skladovaných při vyšší teplotě (Obrázek 18) než u jablek skladovaných v chladicím boxu (Obrázek 17).

Před sklizní došlo k poklesu kyselin u Glostru na 0,59 %, u Idaretu na 0,35 %, u Golden Delicious na 0,33 % a u Šampionu na 0,32 %. (Obrázek 17, Obrázek 18)



Obrázek 17: Změny celkového množství kyselin v čase při teplotě 2 - 3 °C (→ - sklizeň)

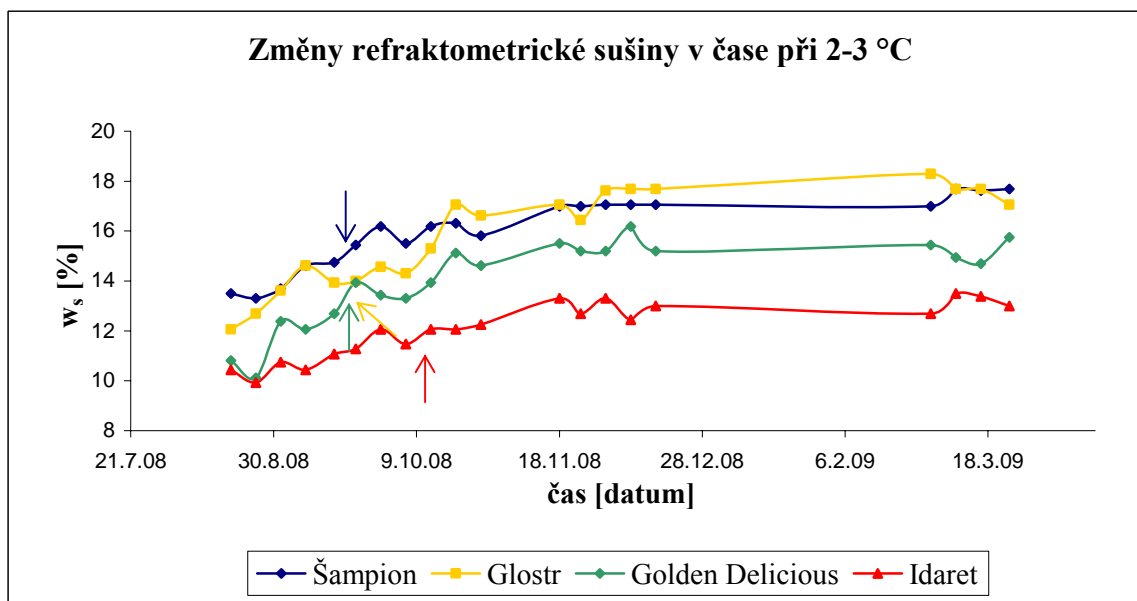


Obrázek 18: Změny celkového množství kyselin v čase při teplotě 20 - 23 °C (→ - sklizeň)

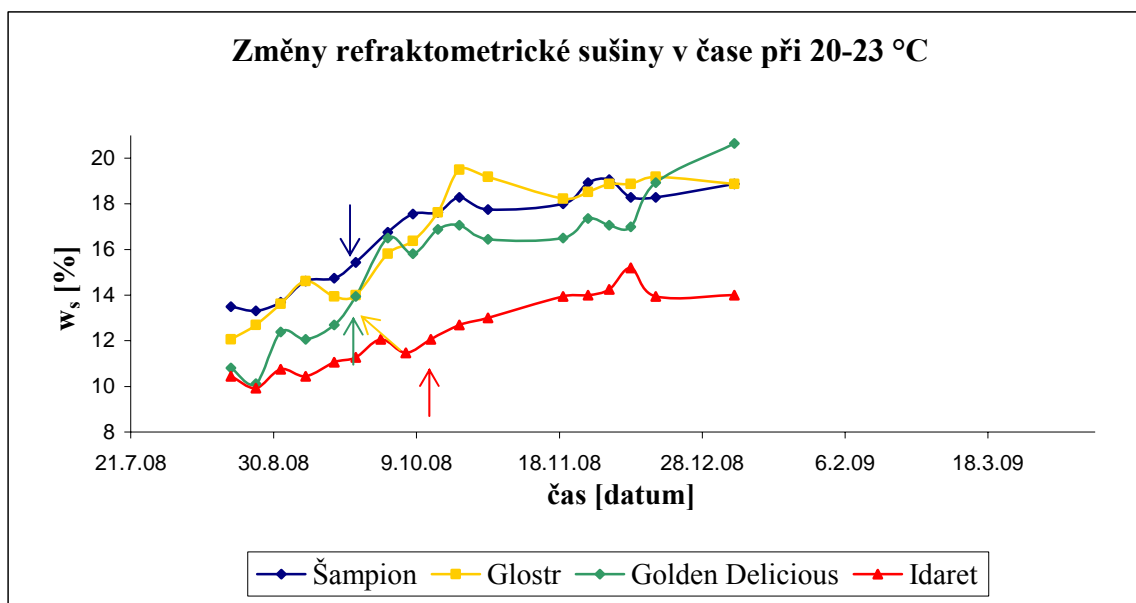
Další snížení množství kyselin je v chladicím boxu pozvolné a pokles je u Glostru na 0,48 %, u Idaretu a Šampionu na 0,29 % a u Golden Delicious na 0,27 %. (Obrázek 17) Skladování jablek při teplotě 20 – 23 °C má výrazný vliv na ztrátu kyselin. Dochází k poklesu kyselin až na 0,32 % u Glostru, na 0,21 % u Idaretu a Šampionu a na 0,17 % u Golden Delicious. (Obrázek 18)

Pokud se porovnají odrůdy mezi sebou, tak největší množství kyselin obsahuje Glostr. Ostatní odrůdy se v množství kyselin také liší, ale rozdíl je mnohem menší. Po Glostru má nejvíce kyselin Idaret, pak Golden Delicious a Šampion.

3.4 Refraktometrická sušina



Obrázek 19: Změny refraktometrické sušiny v čase při 2 - 3 °C (→ - sklizeň)



Obrázek 20: Změny refraktometrické sušiny v čase při 20 - 23 °C (→ - sklizeň)

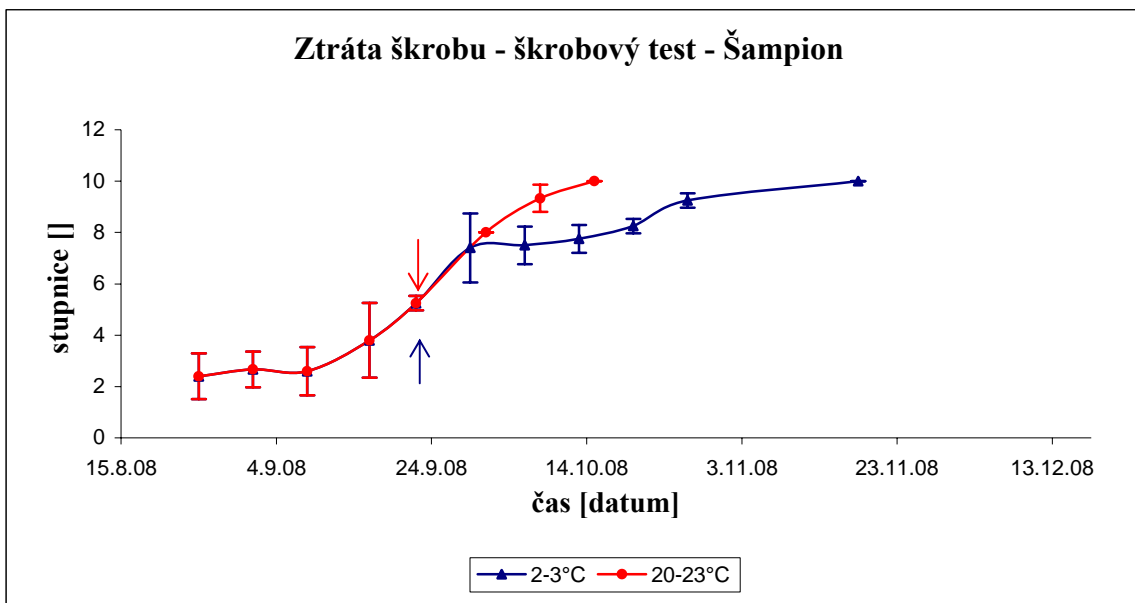
Během zrání a skladování jablek dochází k nárůstu sušiny, které je dané zachováním dynamické rovnováhy metabolismu. Každá odrůda obsahuje jiné množství sušiny. Nejvíce jí obsahuje Glostr a Šampion, nižší obsah má pak Golden Delicious a nejméně sušiny má Idaret. (Obrázek 19, Obrázek 20)

Při skladování v chladicím boxu dochází k rychlejšímu nárůstu sušiny do poloviny listopadu. Množství sušiny u Glostru je 17,6 %, u Šampionu 17,1 %, u Golden Delicious 16,2 % a u Idaretu 13,3 %. Poté již nárůst není tak rychlý a dochází k ustálení procesu. (Obrázek 19) Naopak při skladování při 20 – 23 °C dochází k rychlému nárůstu po celou dobu skladování. A to až na hodnoty u Glostru a Šampionu 18,9 %, u Golden Delicious na 20,7 % a u Idaretu na 14,0 %. (Obrázek 20) Ze zjištěných hodnot je možné usoudit, že teplota při které jsou jablka skladována výrazně ovlivňuje množství sušiny.

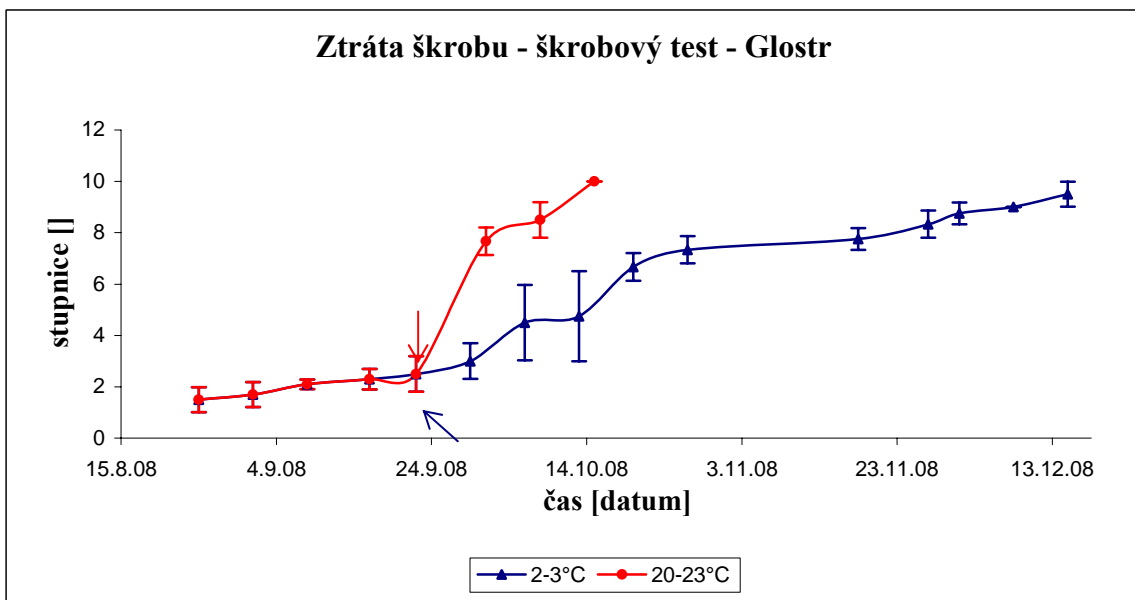
3.5 Škrob – škrobový test

Před sklizením jablek dochází k pozvolné ztrátě škrobu u všech odrůd. Po utržení jablek ze stromu se množství škrobu snižuje rychleji. Jablka uskladněná v chladicím boxu ztrácí veškerý škrob mnohem později než jablka uskladněná při 20 – 23 °C (Obrázek 21, Obrázek 22, Obrázek 23, Obrázek 24). Ztráta škrobu je zapříčiněna jeho hydrolýzou na jednoduché cukry, které jsou potřeba při dýchání plodů.

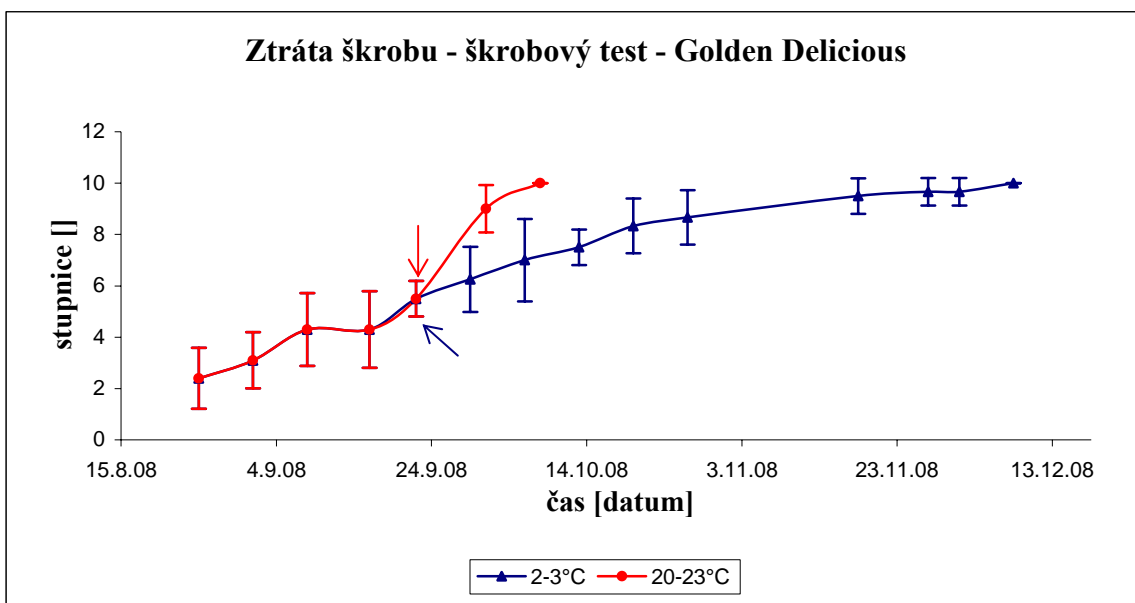
Při ztrátě škrobu dochází ke statisticky významnému nárůstu hodnot na stupnici. Před sklizní došlo k statisticky významnému nárůstu na hodnoty: Šampion $5,3 \pm 0,3$; Golden Delicious $5,5 \pm 0,7$ a Idaret $9,2 \pm 0,5$. U Glostru nedošlo k statisticky významnému nárůstu ($2,5 \pm 0,7$). Po sklizni hodnoty statisticky významně vzrostly pro všechny odrůdy na hodnotu 10 v různý čas. (Obrázek 21, Obrázek 22, Obrázek 23, Obrázek 24)



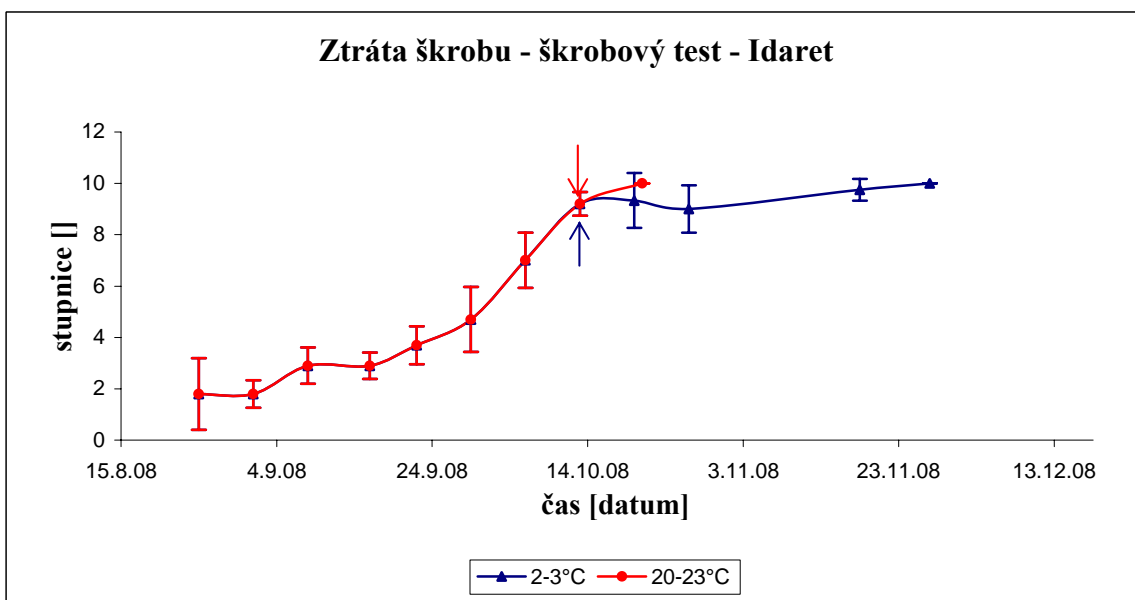
Obrázek 21: Ztráta škrobu – škrobový test – Šampion (→ - sklizeň)



Obrázek 22: Ztráta škrobu - škrobový test - Glostr (→ - sklizeň)



Obrázek 23: Ztráta škrobu - škrobový test - Golden Delicious (→ - sklizeň)



Obrázek 24: Ztráta škrobu - škrobový test - Idaret (→ - sklizeň)

Šampion uskladněný v chladícím boxu ztrácí škrob 18. 11. 2008 a při teplotě 20 – 23 °C 15. 10. 2008 (Obrázek 21). Glostr v chladícím boxu neobsahuje škrob 15. 12. 2008 a při teplotě 20 – 23 °C 15. 10. 2008 (Obrázek 22). Golden Delicious v chladícím boxu neobsahuje škrob 8. 12. 2008 a při teplotě 20 – 23 °C 8. 10. 2008 (Obrázek 23). Idaret ztrácí škrob v chladícím boxu 27. 11. 2008 a při teplotě 20 – 23 °C 21. 10. 2008 (Obrázek 24). Doba, kdy jablka ztratí veškerý škrob, je rozdílná u jednotlivých odrůd. To je dáno rozdílnou intenzitou dýchání plodů a tedy rychlostí jeho rozkladu na jednoduché cukry. Je možné tyto procesy zpomalit snížením teploty při skladování.

ZÁVĚR

Tato práce se zabývala studiem procesů během zrání a skladování jablek. Byly vybrány odrůdy Šampion, Glostr, Golden Delicious a Idaret. Studovanými parametry byly množství redukujících cukrů, celkové množství cukrů, množství kyselin, refraktometrická sušina a ztráty škrobu. Změny všech těchto parametrů byly sledovány v závislosti na čase a to již při zrání na stromě. Poté byly jablka skladována v chladícím boxu a při laboratorní teplotě.

Před vlastní sklizní dochází k výraznému nárůstu celkového množství cukrů u všech odrůd. Tento nárůst je způsoben přesunem polysacharidů, ale i jednoduchých cukrů z rostliny do plodů. V množství redukujících cukrů nedochází k tak výrazným změnám. U Šampionu, Golden Delicious a Idaretu dochází k mírnému nárůstu, ale u Glostru nárůst nebyl pozorován. V mnohem větším množství jsou transportovány polysacharidy než jednoduché cukry, proto změny nejsou tak markantní. Od poloviny srpna také dochází ke ztrátě škrobu, který je hydrolyzován na jednoduché cukry a následně spotřebován při dýchání plodu. Množství kyselin klesá a to v důsledku jejich zpracování během dýchání plodu. A u refraktometrické sušiny dochází k nárůstu. To je zapříčiněno udržením dynamické rovnováhy metabolismu.

Po utržení jablek ze stromů dochází k tomu, že již nejsou cukry dodávány do plodů a je vytvořena stresová situace pro plod. To způsobí urychlení intenzity dýchání a zpracování cukrů. Celkové množství cukrů tak výrazně klesá až do konce listopadu a to jak u jablek skladovaných v chladícím boxu tak při teplotě 20 – 23 °C. Rozdíl je v tom, že celkové množství cukrů při vyšší teplotě klesá na nižší hodnotu. Množství redukujících cukrů v tomto období mírně stoupne u jablek skladovaných v chladícím boxu, protože zároveň dochází k rychlejšímu rozkladu škrobu, které je také urychleno intenzivnějším dýcháním po odtržení ze stromu. U jablek skladovaných při teplotě 20 – 23 °C dochází k poklesu redukujících cukrů ihned po sklizni a již se nezvedá. Je to díky tomu, že se zpracování cukrů při vyšší teplotě ještě urychlí.

Celkové množství cukrů se od konce listopadu mírně zvýší u Šampionu a Glostru, které jsou uskladněné v chladícím boxu a v březnu dochází k dalšímu poklesu. U Golden Delicious a Idaretu dochází při stejných podmínkách uskladnění k mírnějšímu poklesu již od konce listopadu. Pokles značí další spotřebu cukrů. Redukující cukry od konce listopadu klesají u všech odrůd.

Kyseliny po sklizni nadále klesají, protože jsou spolu s cukry potřebovány při dýchání. Jejich využití je mnohem větší při skladování při vyšší teplotě, zatímco v chladícím boxu je jejich spotřeba pozvolná. To platí pro všechny odrůdy i když každá odrůda obsahuje jiné množství.

I refraktometrická sušina po oddělení plodu od rostliny nadále vzrůstala a to více při skladování v teplotě 20 – 23 °C. V chladícím boxu nárůst byl menší a procesy byly zbržděny chladnějším prostředím.

Množství redukujících cukrů, škrobu, celkové množství cukrů, sušiny nebo kyselin se u jednotlivých odrůd liší, ale jejich změny jsou stejné.

Z měření je možné usoudit, že měřené parametry jsou velice ovlivňovány podmínkami skladování a zda je plod ve spojení s rostlinou či nikoliv. Chladnější prostředí zaručí pomalejší procesy a tím prodlouží trvanlivost plodů při skladování.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] CEREVITINOV, F. V. *Chemické složení a fyzikální vlastnosti ovoce a zeleniny*. 1. vyd. Praha II: Průmyslové vydavatelství, 1952. 322 s.
- [2] KOPEC, Karel. *Skladovanie ovocia a zeleniny*. 1. vyd. Bratislava: Príroda, vydavateľstvo podohospodárskej literatúry, 1969. 347 s.
- [3] BULÍŘ, Jaromír. *Rozbory ovoce a výrobků z něho*. Praha: Vědecko – technické nakladatelství, 1951. 64 s.
- [4] MACDOUGALL, D.B.. *Colour in Food - Improving Quality* [online]. Woodhead Publishing, 2002, poslední úprava 3. 10. 2002 [cit. 2007-06-13]. Dostupný z WWW: <<http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?BookID=654&VerticalID=0>>. ISBN 1-85573-590-3.
- [5] BURKA, Miloš, HORYNOVÁ, Anna. *Zahradnická botanika*. 2. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1962. 275 s.
- [6] ŠEBÁNEK, Jiří, et al. *Biologie zemědělských rostlin*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1980. 243 s.
- [7] PROCHÁZKA, Stanislav, et al. *Botanika : Morfologie a fyziologie*. 2. nezměněné vyd. Brno : Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2005. 242 s. ISBN 80-7157-870-3.
- [8] PROCHÁZKA, Stanislav, et al. *Fyziologie rostlin*. 1. vyd. Praha: Akademia věd České republiky, 1998. 484 s. ISBN 80-200-0586-2
- [9] KINCL, Miloslav, KRPEŠ, Václav. *Základy fyziologie rostlin*. 2. vyd. Ostrava: Ostravská Univerzita, 2000. 221 s. ISBN 80-7225-041-8
- [10] PROCHÁZKA, Stanislav, ŠEBÁNEK, Jiří a kolektiv. *Regulátory rostlinného růstu*. 1. vyd. Praha: Akademia věd České republiky, 1997. 395 s. ISBN 80-200-0597-8
- [11] KINCL, Miloslav, KRPEŠ, Václav. *Základy fyziologie rostlin*. 3. dopl. vyd. Ostrava : Ostravská Univerzita, 2006. 220 s. ISBN 80-239-8375-X.
- [12] GOLIÁŠ, Jan. *Skladování a zpracování I : Základy chladiřství*. 2. vyd. Brno : Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, 1996. 158 s. ISBN 80-7157-229-2.
- [13] MURRAY, Robert K., et al. *Harperova biochemie*. 23. (4. české) vyd. Jinočana : H+H, 2002. 872 s. ISBN 80-7319-013-3.
- [14] ALEXANDER, Lucille, GRIERSON, Don. Ethylene biosynthesis and action in tomato : a model for climacteric fruit ripening. *Journal of Experimental Botany* [online]. 2002, vol. 53, no. 377 [cit. 2007-04-24], s. 2039-2055. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com/WoS/CIW.cgi>>.
- [15] JONGEN, W.. *Fruit and Vegetable Processing - Improving Quality* [online]. Woodhead Publishing, 2002 , poslední úprava 3. 10. 2002 [cit. 2007-06-20]. Dostupný z WWW: <<http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?BookID=653&VerticalID=0>>. ISBN 1-85573-664-0.
- [16] KILCAST, David, SUBRAMANIAM, Persis. *Stability and Shelf-Life of Food* [online]. Woodhead Publishing, 2000 , 12. 3. 2001 [cit. 2007-07-05]. Dostupný z WWW: <<http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?BookID=147&VerticalID=0>>. ISBN 1-85573-500-8.
- [17] KOPEC, Karel. *Uskladňovanie záhradníckych plodín*. 2. preprac. vyd. Bratislava : Príroda, 1977. 318 s.

- [18] GOLIÁŠ, Jan. *Etylénová atmosféra ve skladovacích technologiích jádrového ovoce*. Zahradnictví a floristika [online]. 21. 3. 2005 [cit. 2005-07-05]. Dostupný z WWW: <<http://www.zahradaweb.cz/projekt/clanek.asp?cid=3318&pid=2>>. ISSN 1214-763.
- [19] LUND, Barbara, M., BAIRD-PARKER, Tony C., GOULD, Grahame W.. *Microbiological Safety and Quality of Food, Volumes 1-2* [online]. Springer - Verlag, 2000, 18. 4. 2005 [cit. 2007-07-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?BookID=946&VerticalID=0>>. ISBN 0-8342-1323-0.
- [20] ZHU, L.H., et al. Role of Ethylene in the Biosynthetic Pathways of Aroma Volatiles in Ripening Fruit. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2005, no. 52, s. 691-695. Dostupný z WWW: <<http://www.springerlink.com/home/main.mpx>>.
- [21] SONG, J., BANGERTH, F. Fatty acids as precursors for aroma volatile biosynthesis in pre-climacteric and climacteric apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* [online]. 2003, no. 30 [cit. 2009-02-04], s. 113-121. Dostupný z WWW: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TBJ-49PYP5B-3&_user=640830&_coverDate=11%2F30%2F2003&_alid=862135439&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=5144&_sort=d&_docanchor=&view=c&_ct=2&_acct=C000032308&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640830&md5=0a495999169c7185f2cafe05439f7f36>
- [22] COLES, Richard, MCDOWELL, Derek, KIRWAN, Mark J. *Food Packaging Technology*. [online] : Blackwell Publishing, 2003, 6. 10. 2006 [cit. 2009-02-04]. 346 s. Dostupný z WWW: <http://knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1380&VerticalID=0>. ISBN 978-1-84127-221-4.
- [23] LIN, Daniel, ZHAO, Yanyun. Inovations in the Development and Application of Edible Coatings of Fresh and Minimally Processwd Fruits and Vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2007, no. 6 [cit. 2009-02-04], s. 60-71. Dostupný z WWW: <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=60999&ids=170>>.
- [24] ČOPÍKOVÁ, Jana. *Chemie a analytika sacharidů*. 1. vyd. Praha : VŠCHT, 1997. 104 s. ISBN 80-7080-306-1.
- [25] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2. upravené a doplněné vyd. Ostrava : Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [26] HRSTKA, Miroslav, VESPALCOVÁ, Milena. *Praktikum z analytické chemie potravin*. Brno : VUT Brno, 2006. 59 s.
- [27] WERTH, Kurt. *Colour and quality of South Tyrolean Apple Varieties*. Bozen : VOG, 1997. 89 s.
- [28] DAVÍDEK, Jiří. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2. vyd. Praha : SNTL-Nakladatelství technické literatury, 1981. 718 s.
- [29] PERTILE, Eva, ČÁBLÍK, Vladimír. *Instrumentální metody analýzy*. Ostrava : VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2006. 238 s. ISBN 80-248-1049-2.
- [30] PEIRS, Ann, et al. Uncertainty analysis and modelling of the starch index during apple fruit maturation. *Postharvest Biology and Technology* [online]. 2002, no. 26 [cit. 2009-02-

15], s. 199-207. Dostupný z WWW: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TBJ-45JPGSB-2&_user=640830&_coverDate=09%2F01%2F2002&_alid=867266934&_rdoc=4&_fmt=high&_orig=search&_cdi=5144&_sort=d&_docanchor=&view=c&_ct=6&_acct=C000032308&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640830&md5=89ba1a666df855d67aa50235aaf5a520>.

[31] BROOKFIELD, Paul, et al. Starch degradation and starch pattern indices; interpretation and relationship to maturity. *Postharvest Biology and Technology* [online]. 1997, no. 11 [cit. 2009-02-15], s. 23-30. Dostupný z WWW: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TBJ-3RH6XC1-2&_user=640830&_coverDate=05%2F31%2F1997&_alid=867269449&_rdoc=2&_fmt=high&_orig=search&_cdi=5144&_sort=d&_docanchor=&view=c&_ct=2&_acct=C000032308&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640830&md5=66f83397571be305aaaf2ed1bbe03228>.

[32] BARRY, Cornelius S., GIOVANNONI, James J. Ethylene and fruit ripening. *Journal of plant growth regulation* [online]. 2007, no. 26 [cit. 2009-02-15], s. 143-159. Dostupný z WWW:

<http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=Q1OdHLd5K7I9388Oa35&page=1&doc=1>. ISSN 0721-7595.

[33] ROONEY, M.L. *Activ food packing*. [online] : Springer - Verlag, 2007, 29. 9. 2007 [cit. 2009-02-16]. 255 s. Dostupný z WWW: <http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1540>. ISBN 978-0-7514-0191-.

[34] AHVENAINEN, Raija. *Novel Food Packaging Techniques*. [online] : Woodhead Publishing, 2003, 2. 12. 2003 [cit. 2009-02-16]. 400 s. Dostupný z WWW: <http://www.knovel.com/web/portal/basic_search/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=914&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_fromSearch=true&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_searchType=basic&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_showSearchTOC=true>.

[35] ZEUTHEN, Peter. *Food Preservation Techniques*. [online] : Woodhead Publishing, 2003, 21. 12. 2005 [cit. 2009-02-24]. 613 s. Dostupný z WWW: <http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1248>. ISBN 978-1-85573-530-9.

[36] BRÜCKNER, Bernhard, WYLLIE, S. Grant. *Fruit and Vegetable Flavour : Recent Advances and Future Prospects*. [online] : Woodhead Publishing, 2008, 7. 8. 2008 [cit. 2009-02-25]. 339 s. Dostupný z WWW: <http://www.knovel.com/web/portal/basic_search/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=2138&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_fromSearch=true&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_searchType=basic&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_showSearchTOC=true>. ISBN 978-1-4200-7600-4.

[37] BENDA, Vladimír, BABUREK, Ivan, ŽĎÁRSKÝ, Josef. *Biologie II : Nauka o potravinářských surovinách*. 3. přeprac. vyd. Praha : Vysoká škola chemicko-technologická, 2000. 196 s. ISBN 80-7080-402-5.

[38] CAMPBELL, Neil A., REECE, Jane B. *Biologie*. 1. vyd. Brno : Computer Press, 2006. 1332 s. ISBN 80-251-1178-4.

[39] FENNEMA, Owen R. *Food chemistry*. 3rd edition. New York : Marcel Dekker, Inc., 1996. 1069 s. Food Science and Technology. ISBN 0-8247-9691-8.

[40] GOULAO, Luis F., OLIVEIRA, Cristina M. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2008, is. 19 [cit. 2009-03-08], s. 4-25. Dostupný z WWW: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6VHY-4P77823-2&_user=640830&_coverDate=01%2F31%2F2008&_alid=879531921&_rdoc=2&_fmt=high&_orig=search&_cdi=6079&_sort=d&_st=4&_docanchor=&_ct=2&_acct=C000032308&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640830&md5=2b453ec1548ba0506c3de7737b8626fb>.

[41] CHEN, Fa-Xing, LIU, Xing-Hui, CHEN, Li-Song. *Developmental changes in pulp organic acid concentration and activities of acid-metabolising enzymes during the fruit development of two loquat (Eriobotrya japonica Lindl.) cultivars differing in fruit acidity*. Food Chemistry [online]. 2009, is. 114 [cit. 2009-03-12], s. 657-664. Dostupný z WWW: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T6R-4TMBPY1-H&_user=640830&_coverDate=05%2F15%2F2009&_alid=882540877&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_cdi=5037&_sort=d&_st=4&_docanchor=&_ct=8&_acct=C000032308&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640830&md5=07964b6dc752daf89a1fd3513e32d62d>.

[42] FRANCIS, Frederick J. *Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology*. 2nd edition. [online] : John Wiley & Sons, 1999. 2816 s. Dostupný z WWW: <http://www.knovel.com/web/portal/basic_search/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=681&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_fromSearch=true&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_searchType=basic>. ISBN 978-0-471-19285-5.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ABA	abscisová kyselina
ACC	1-aminocyklopropan-1-karboxylová kyselina
acetylCoA	acetylkoenzym A
ACO	akonitasa
ADP	adenosin-5'-difosfát
aj.	a jiné
apod.	a podobně
ATP	adenosin-5'-trifosfát
CA	skladování v kontrolované atmosféře (controlled atmosphere storage)
CS	citrátsyntasa
DHK	dihydrokaempferol
DHM	dihydromyricetin
DHQ	dihydroquercitin
DMAPP	dimetyllallylpyrofosfát
IAA	β -indolyloctová kyselina
IPP	izopentenylpyrofosfátu
LOX	lipoxygenasa
MAP	balení v modifikované atmosféře (modified – atmosphere packaging)
MVA	mevalonová kyselina
NAA	α -naftyloctová kyselina
NAD ⁺ ; NADH	nikotinamidadeninukleotid a jeho redukovaná forma
NAD – IDH	NAD – isocitrátdehydrogenasa
NAD – MDH	NAD – malátdehydrogenasa
NADP – ME	NADP – jablečný enzym
např.	například
PAA	fenyloctová kyselina
PAL	fenylalaninamoniaklyasa
PEPC	fosfoenolpyruvátkarboxylasa
popř.	popřípadě
ppm	jedna miliontina celku (parts per million)
PPO	polyfenoloxidasa
PSY	phytoensyntasa
resp.	respektive
RNA	ribonukleová kyselina
mRNA	messenger RNA
tRNA	transferová RNA
SAM	S-adenosyl-L-methionin
tj.	to je
tzv.	takzvaný
zvl.	zvláště
1-MCP	1-methylcyklopropen

PŘÍLOHY

Cirkulární typ



Obrázek 25: Stupnice škrobového testu - cirkulární typ

Radiální typ



Obrázek 26: Stupnice škrobového testu - radiální typ