

**UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNO-
PRZYRODNICZY
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich
W BYDGOSZCZY**

**WYDZIAŁ ROLNICTWA I BIOTECHNOLOGII
Dyscyplina: Agronomia**

Joanna Wojciechowska

**Wpływ dawek promieniowania UV-C na fizjologię
i jakość owoców maliny *Rubus idaeus* odmiany
'Polka' w symulowanych warunkach sprzedaży**

**Praca doktorska wykonana pod kierunkiem
prof. dr hab. inż. Anny Keutgen w Zakładzie Technologii
Żywności**

Bydgoszcz 2017

**Składam serdeczne podziękowania
Pani Promotor –Prof. dr hab. inż. Annie Keutgen,
Panu Prof. dr hab. inż. Franciszkowi Rudnickiemu,
Panu dr hab. inż. Grzegorzowi Lemańczykowi,
Panu mgr inż. Karolowi Lisieckiemu,
Pracownikom Zakładu Technologii Żywności,
w szczególności Pani dr inż. Elżbiecie Wszelaczyńskiej
i Panu dr inż. Jarosławowi Pobereźnemu
za poświęcony czas, pomoc merytoryczną i techniczną,
a także wyrozumiałość i życzliwość.**

**Niniejszą pracę dedykuję Wszystkim, których wsparcie
pomogło mi w jej realizacji.**

Spis treści

1. Wstęp.....	6
2. Przegląd literatury.....	8
2.1 Dojrzewanie owoców maliny (<i>Rubus idaeus</i> L.).....	8
2.2 Przechowywanie owoców maliny.....	10
2.3 Zagrożenie mikrobiologiczne	11
2.4 Metody kontroli pozbiorczej	13
2.5 UV-C jako metoda pozbiorcze­go przedłużania trwałości.....	14
3. Materiał i metody.....	22
4. Wyniki.....	51
4.1 Wpływ promieniowania UV-C i symulowanych warunków sprzedaży na ubytki masy.....	27
4.2 Wpływ promieniowania UV-C i symulowanych warunków sprzedaży na zawartość kwasu askorbinowego.....	29
4.3 Wpływ promieniowania UV-C i symulowanych warunków sprzedaży na zawartość związków fenolowych ogółem.....	33
4.4 Wpływ promieniowania UV-C i symulowanych warunków sprzedaży na zawartość antocyjanów.....	38
4.5 Wpływ promieniowania UV-C oraz symulowanych warunków sprzedaży na zdolność antyoksydacyjną wyrażoną jako FRAP (ferric reducing antioxidant power).....	42
4.6 Wpływ promieniowania UV-C i symulowanych warunków sprzedaży na zawartość kwasu chlorogenowego.....	46
4.7 Wpływ promieniowania UV-C i symulowanych warunków sprzedaży na zawartość cukrów redukujących.....	51
4.8 Wpływ promieniowania UV-C i symulowanych warunków sprzedaży na obecność grzybów pleśniowych.....	56

4.9 Zależności pomiędzy badanymi cechami w owocach maliny podczas przetrzymywania w symulowanych warunkach sprzedaży.....	66
5. Dyskusja.....	67
6. Wnioski.....	77
7 Literatura.....	78
Załączniki.....	90

1. WSTĘP

Zaspokojenie potrzeb żywieniowych wzrastającej populacji ludzkiej nie kończy się na zapewnieniu wartości kalorycznej czy odżywczej, ale dotyczy również funkcjonalnego znaczenia żywności dla zdrowia człowieka. Niepożądana ze zdrowotnego punktu widzenia jest bezpośrednia obecność mikroorganizmów, jak również spadek zawartości substancji biologicznie czynnych oraz pojawienie się niepożądanych produktów przemian biochemicznych. Niewiele metod przedłużania trwałości jest dostępnych dla produktów nieprzetworzonych, które z założenia powinny zachować cechy właściwe produktom surowym. W przypadku owoców stosuje się różne środki kontroli pozbiornego psucia się owoców, takie jak ostrożny zbiór, przechowywanie w niskich temperaturach lub w kontrolowanej względnie modyfikowanej atmosferze.

Spośród fizycznych metod przedłużania trwałości pozbiornych owoców, od kilku lat utrzymuje się trend testowania metod radiacyjnych. Początkowo metody te budziły kontrowersje ze względu na teoretyczną możliwość jonizacji materii oraz potencjalnie wolnorodnikowy charakter produktów reakcji do czasu, gdy organizacja Health Canada (2003), FDA (1986), Komisja Codex Alimentarius (CAC, 1983) oraz Komitet Naukowy Komisji Europejskiej ds. Żywności (WE, 2003), zaopiniowały, że napromieniowane żywności dawką nieprzekraczającą 10 kGy jest bezpieczne. Również ustawa z 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia Dz. U. z dnia 27 września 2006 r.) dopuszcza do stosowania promieniowanie ultrafioletowe z zakresu C (UV-C) jako metodę utrwalania żywności. Promieniowanie to jest najczęściej stosowanym przez badaczy spośród zakresów promieniowania UV ze względu na silniejszy efekt destrukcyjnego oddziaływania na docelowe organizmy (grzyby, bakterie), a ponadto zaleźnie od zakresu zastosowanego promieniowania UV obserwowany jest stymulujący wpływ na różne grupy związków biologicznie czynnych. Wykorzystuje tu się zjawisko hormezy polegające na wywoływaniu pozytywnych zmian w wyniku zastosowania potencjalnie szkodliwych czynników w niskich dawkach, które indukują odporność na dany stres. Skuteczna metoda przedłużenia trwałości to taka, która łączy pożądaną w odniesieniu do mikroorganizmów efekt letalny/mutageny z brakiem destrukcyjnego wpływu na organella komórkowe owoców, z czego wynika konieczność przeprowadzenia kontrolowanego procesu technologicznego. Dobór dawki jak i czasu oddziaływania promieniowania UV-C z materiału odzwierciedlać musi specyficzność tak traktowanego materiału ze względu na gatunek i odmianę, ponieważ właściwości fizyczne oraz skład chemiczny żywności wpływają na reakcję mikroorganizmów na zastosowane promieniowanie. Do owoców szczególnie zagrożonych porażeniem przez patogeny grzybowe należą owoce maliny *Rubus idaeus* L., których trwałość jest szczególnie ograniczana przez szarą pleśń *Botrytis cinerea* zarówno na etapie

dojrzwania jak i przechowywania. W miarę dojrzwania owoców malin ich jędrność spada na skutek wzrostu aktywności enzymów hydrolitycznych rozkładających ściany komórkowe, obniżeniu ulega również ich sprężystość i wytrzymałość mechaniczna. Owoc maliny to wielopestkowiec, w którym każdy z owoców połączony jest z dnem kwiatowym oraz przylega ściśle do sąsiednich pestkowców zaopatrzonych w powstające z epidermy włoski. Struktura owocu zależy od rozmiaru i kształtu poszczególnych owoców, kontaktu między nimi i sposobu ułożenia. Dla integralności owocu ważne są: regularne ułożenie oraz kształt owoców, wąskie dno kwiatowe i mały otwór po szypułce owocu, a także wąska przestrzeń wewnątrz całej objętości owocu i długie stożkowate dno kwiatowe. Ściśle wypełnione wnętrze owocu i wytrzymała mechanicznie skórka nadają odporność na uszkodzenia [Hall i inni 2009]. Owoce maliny mają odczyn kwaśny (pH ok. 3,0), zawartość związków rozpuszczalnych wynosi ok. 10-13%, natomiast zawartość suchej masy może wahać się między 12 a 19%. Głównymi związkami fenolowymi obecnymi w owocach maliny są elagotaniny i antocyjaniny, w mniejszym stopniu kwasy hydroksycynamonowe i flawonole. Głównymi reprezentantami antocyjanów w tych owocach są: cyjanidyno-3- soforozyd, cjanidyno-3-glukozyorutynozyd oraz cjanidyno-3-glukozyd, jednak skład i proporcje antocyjanów są cechą odmianową i zmienną w ciągu plonowania rośliny [Viskelis i inni 2012]. Owoce malin z natury cechują się wysoką zawartością związków antyoksydacyjnych, których pierwotna produkcja wzrasta pod wpływem czynników stresowych. Ich zwiększona synteza może wpłynąć na ograniczenie stopnia porażenia przez grzyby pleśniowe oraz przedłużenie trwałości owoców jak i poprawę ich jakości handlowej. Na tle powyższych przesłanek można założyć, że owoce maliny mogą być z powodzeniem poddane próbie przedłużenia trwałości metodą fizyczną z zastosowaniem promieniowania UV-C. Spodziewany jest efekt stymulacji syntezy związków biologicznie czynnych, natomiast dobór dawki, przy której aplikacji można oczekiwać tego efektu powinien być staranny ze względu na potrzebę pogodzenia skuteczności w ograniczeniu infekcji grzybowych z minimalizowaniem destrukcyjnego wpływu na właściwości fizyczne owocu maliny, które czynią je tak trudnymi w przechowywaniu.

Powyższe przesłanki skłaniały do przyjęcia hipotezy badawczej zakładającej, że aplikacja promieniowania UV-C w niskich dawkach wywoła zjawisko hormezy, przez co pozytywnie wpłynie na fizjologię oraz jakość owoców jednocześnie hamując rozwój grzybów znacznie przedłużając okres pozbiorkowy badanych owoców. Przyjęto, że zastosowana metoda spowoduje indukcję naturalnych mechanizmów ochronnych w owocach i stanowić będzie kluczowy element w praktycznym ograniczeniu infekcji przy zachowaniu jakości owoców.

Dlatego też cel pracy stanowił dobór dawki promieniowania UV-C dla owoców maliny odmiany 'Polka', której zastosowanie wiązać się będzie z osiągnięciem ograniczenia stopnia porażenia grzybami pleśniowymi przy

jednoczesnym zachowaniu jakości owoców oraz określenie mechanizmów działania promieniowania UV-C na grzyby i owoce maliny.

2. PRZEGLĄD LITERATURY

2.1. DOJRZEWANIE OWOCÓW MALINY (*RUBUS IDAEUS L.*)

Owoce czerwonej maliny stanowią czwartą co do wielkości uprawę owoców na świecie, prowadzoną głównie w Europie (w 2015r. uzyskano 231 tysięcy ton, w Azji 131 tysięcy ton oraz ok. 16% światowej produkcji w Ameryce Północnej) [Strik 2007].

Owoce maliny reprezentują nieklimakteryczny typ dojrzewania, które przebiega przy niskim stężeniu wytwarzanego etylenu i niskim poziomie oddychania, przy czym stężenie etylenu i dwutlenku węgla wytwarzanych przez dno kwiatowe jest wyższe niż wytwarzanych przez owocki. Podczas całego procesu dojrzewania występują zmiany poziomu oddychania w kierunku spadku jego intensywności. Zmiany związane z dojrzewaniem rozpoczynają się w momencie, gdy owoce tracą zielone zabarwienie niezależne od produkcji etylenu. Wzrost stężenia etylenu następuje po wzroście koncentracji związków rozpuszczalnych i spadku kwasowości, co wskazuje na brak zangażowania etylenu w te procesy [Perkins-Veazie i Nonneck 1992].

Owoce maliny cenione są za wysoką zawartość związków fenolowych, antocyjanów oraz wysokie właściwości antyoksydacyjne [Wang i in. 2009; Tulipani i in. 2008]. Trwałość owoców maliny ograniczana jest głównie przez szarą pleśń *Botrytis cinerea*, z czasem tracą też jędrność i intensywny czerwony kolor [Haffner i in. 2002; Erkan i in. 2008]. Ponadto owoce maliny są trudne w mrożeniu ze względu na niską odporność mechaniczną [De Michelis 2003]. Podczas trwania procesu dojrzewania zachodzą liczne zmiany właściwości owoców, w tym zmiany składu ściany komórkowej, gdzie wzrasta stopień depolimeryzacji i rozpuszczalności pektyn. Masa owoców wzrasta w ciągu pierwszych trzech faz dojrzałości, natomiast jędrność spada podczas całego procesu dojrzewania owocu. W ścianach komórkowych maliny w największych ilościach występują cukry proste takie jak arabinoza, w dalszej kolejności galaktoza i ksyloza. Ich zawartość zasadniczo nie ulega zmianie z wyjątkiem galaktozy, której poziom spada w fazie czerwonej o 100%, co wynika ze wzrostu aktywności β -galaktozydazy. Brak zmian strukturalnych hemicelulozy sugeruje, że nie uczestniczy ona w mięknięciu owoców. Najintensywniejszym zmianom podczas dojrzewania owoców podlegają pektyny, zwłaszcza po osiągnięciu dojrzałości pełnej, kiedy to następuje znaczna ich depolimeryzacja, będąca przyczyną mięknięcia owoców maliny [Vicente i in. 2007]. Zwiększona hydroliza pektyn jest głównym czynnikiem różniącym odmiany maliny pod względem jędrności [Stewart i in. 2001]. W miarę dojrzewania spada wytrzymałość oraz sprężystość owocu maliny, protopektyny spajające komórki ulegają hydrolizie do pektyn, wzrasta aktywność celulazy [Sexton i in. 1997].

W jaki sposób może to wpływać na dostępność antocyjanów, pokazuje porównanie enzymatycznej maceracji dającej wzrost uwalniania antocyjanów o 30 % w porównaniu z ekstrakcją bez maceracji jako etapu w produkcji soków [Vukosavljević i in. 2003].

Antocyjany są czerwonymi pigmentami syntetyzowanymi w ostatnich etapach dojrzewania owoców [Krüger i in. 2011], które wpływają na różnorodność wybarwienia roślin. Do antocyjanów zidentyfikowanych w owocach maliny należą: cyjanidyno-3-glukozyd, który stanowi w przybliżeniu 80% wszystkich antocyjanów, cyjanidyno-3-rutozyd, cyjanidyno-3-ksylozyd, cyjanidyno-3-malonylo-glukozyd, cyjanidyno-3-soforozyd, cyjanidyno-3-glukozylo-rutozyd, cyjanidyno-3-ksylozylo-rutozyd, pelargonidyno-3-glukozyd, pelargonidyno-3-rutozyd, cyjanidyno-3-malonylo-glukozyd, cyjanidyno-3-dioksal-glukozyd [Chen i in. 2013a]. Gatunek, odmiana i stopień dojrzałości wykazują znaczny wpływ na zawartość antocyjanów i polifenoli, a w konsekwencji na kształtowanie się właściwości antyoksydacyjnych w owocach. Największymi właściwościami antyoksydacyjnymi owoce malin cechują się w fazie dojrzałości pełnej, najniższą zaś – w fazie różowej. Najwyższą zawartością antocyjanów odznaczają się owoce dojrzałe. Jednak całkowita zawartość związków fenolowych w owocach maliny spada między fazą dojrzałości zielonej do różowej, a następnie wzrasta między dojrzałością różową a pełną. Zdolność antyoksydacyjna jest pozytywnie skorelowana z całkowitą zawartością związków fenolowych w każdej z faz dojrzałości. Nie stwierdzono natomiast związku między zdolnością antyoksydacyjną a poziomem antocyjanów w zielonej fazie owoców maliny. Związek ten był jednakże widoczny w fazie dojrzałości różowej i pełnej [Wang i Lin 2000]. Spośród karotenoidów, niedojrzałe owoce maliny zawierają najwięcej luteiny i β -karotenu, których zawartość spada podczas dojrzewania, jednak pod koniec tego procesu ich poziom stabilizuje się, a w przypadku luteiny wręcz wzrasta w wyniku syntezy *de novo* tego związku. Zaobserwowano również, że poziom β -karotenu oraz powstającego z niego β -jonionu jest negatywnie skorelowany z dojrzewaniem owoców maliny [Carvalho i inni 2013b]. W żadnej z faz dojrzałości (które przyjmowane są umownie, zależnie od intencji autorów) nie dostrzeżono istotnych różnic w jego zawartości, niezmienny pozostaje również jego potencjał oksydoredukcyjny. Ogólna zawartość antocyjanów jest pozytywnie skorelowana z wybarwieniem owocu charakterystycznym dla postępujących etapów dojrzewania, natomiast nie zaobserwowano podobnej zależności dla ogólnej zawartości związków fenolowych, która pozostaje statystycznie niezmienna [Krüger i inni 2011].

2.2 PRZECHOWYWANIE OWOCÓW MALINY

Podczas przechowywania owoców maliny zmienia się ich barwa, spada jędrność, zmienia się pH, zawartość antocyjanów, kwasu L-askorbinowego oraz kwasów organicznych, dochodzi do spadku masy owoców oraz rozwoju chorób grzybowych, przede wszystkim pleśni [Haffner i in. 2002]. Utrata masy owoców maliny następuje niezależnie od odmiany i stopnia dojrzałości, w jakim zostały zebrane. Owoce tracą 7-9 % początkowej masy po 3 dniach przechowywania w temperaturze 2-4 °C, podobnie jak po jednym dniu przetrzymywania w temperaturze 20 °C [Krüger i in. 2011; Liu i in. 2002]. Całkowita zawartość antocyjanów, polifenoli oraz flawonoidów jest znacznie wyższa u odmian ciemno zabarwionych, również charakteryzuje je wyższa wartość całkowitej zdolności (pojemności) antyoksydacyjnej [Chen i in. 2013a; Liu i in. 2002]. Zawartość antocyjanów zależy od stopnia dojrzałości owocu maliny, przy czym najwyższa ich zawartość występuje w owocach lekko przejrzałych. Przechowywane owoce maliny charakteryzują się wyższą zawartością antocyjanów niż owoce świeżo zebrane [Krüger i in. 2011], tą samą zależność stwierdzono dla owoców truskawki [Kalt i in. 1999]. Różnice te spowodowane były w obu przypadkach względnym wzrostem całkowitej zawartości antocyjanów i związków fenolowych [Krüger i in. 2011; Kalt i in. 1999] zależnie od odmiany i czasu przechowywania.

Antocyjany wykazują właściwości przeciwzapalne, antykancerogenne, zapobiegają chorobom układu krążenia, są pomocne w kontroli otyłości, łagodzą cukrzycę [He i Giusti 2010], związki fenolowe zapobiegają chorobom układu krążenia, nowotworowym, neurodegeneracyjnym cukrzycy i osteoporozie [Scalbert i in. 2005]. Nie stwierdzono natomiast zależności między zawartością związków fenolowych i flawonoidów a zdolnościami antyproliferacyjnymi zaobserwowanymi po aplikacji ekstraktu z maliny do hodowli komórek ludzkiej wątroby [Liu i in. 2002].

Zawartość związków rozpuszczalnych oraz kwasowość ogólna zależą od odmiany, jednak nie wynikają z warunków i czasu przechowywania. U świeżo zbieranej w kolejnych fazach dojrzałości odmiany 'Tulameen' stwierdzono spadek kwasowości ogólnej przy wzroście zawartości substancji rozpuszczalnych. Przechowywanie owoców tej odmiany prowadziło do dalszego wzrostu zawartości substancji rozpuszczalnych, nie wpływało natomiast na kwasowość ogólną. W przypadku kwasu askorbinowego nie udowodniono wpływu stopnia dojrzałości zebranych owoców, ani też warunków i czasu przechowywania na jego zawartość [Krüger i in. 2011].

2.3 ZAGROŻENIE MIKROBIOLOGICZNE

Świeże owoce narażone są na porażenie chorobami grzybowymi, zarówno podczas zbioru, transportu, sprzedaży, jak również u konsumenta. Oprócz podatności na szarą pleśń wywoływaną przez *Botrytis cinerea*, który jako główny patogen malin poraża około 75% owoców, owoce wykazują wrażliwość na inne patogeny, takie jak: *Fusarium* - 25% porażonych owoców, *Cladosporium* - 20%, *Penicillium* - 15%, *Rhizopus* - 10%, a także drożdże – 5% porażonych owoców. Z porównania odsetka porażonych pleśnią owoców po upływie 14 dni przechowywania wynika, że właśnie maliny, a także jeżyny są najbardziej podatne spośród owoców jagodowych. Stopień porażenia oszacowano na 33-100% powierzchni owocu. Skórka owocu maliny jest najcieńsza spośród wszystkich owoców jagodowych i najbardziej podatna na uszkodzenia mechaniczne, co ułatwia mikroorganizmom adhezję i wnikanie do tkanek wewnętrznych [Tournas i Katsoudas 2005]. Mykotoksyny są produkowane i kumulowane na wszystkich etapach łańcucha żywieniowego – od produkcji po dystrybucję żywności. Dodatkowo problem ten potęguje fakt, że produkcję mykotoksyn stymulują takie czynniki jak: żerowanie szkodników, susza, podatność odmiany, mechaniczne uszkodzenia, niedobory składników pokarmowych, zmienna temperatura czy duża wilgotność [Fernández-Cruz 2010]. W owocach maliny i truskawki stwierdzono obecność patuliny produkowanej m.in. przez grzyby pleśniowe z rodzaju *Penicillium* [Ionescu i in. 2010] oraz ochratoksynę A w owocach truskawki [Fernández-Cruz i in. 2010 cyt. za Engelhardt i in. 1999]. Mykotoksyny to toksyczne dla kręgowców metabolity wtórne produkowane przez grzyby, które występują w powietrzu, glebie, ale też będące patogenami roślin. Ich obecność w żywności i paszach może przyczynić się do chorób ludzi i zwierząt [Atroschi 2002]. Są najbardziej szkodliwymi dla zdrowia naturalnymi produktami grzybów [Calvo i in. 2002]. Obecność mykotoksyn nawet w niskim stężeniu ma silnie toksyczny wpływ na zdrowie oraz przysparza strat ekonomicznych, zwłaszcza w przypadku owoców eksportowanych. Mechanizm oddziaływania mykotoksyn na komórki owoców opiera się o produkcję wolnych rodników i reaktywnych form tlenu [Atroschi i in. 2002], w ostateczności potrafią one doprowadzić do ich śmierci [Gao i in. 2008 cyt. za Semadi i Shahsavan 2006].

Przeciwstawny efekt do działania mykotoksyn może przynieść suplementacja antyoksydantów takich jak tokoferole, kwas askorbinowy, Zn, Mg, Se przy równoległym spożywaniu pokarmu z zawartością ochratoksyny A (OTA), co obniża o 20 % występowanie apoptozy komórek wątroby myszy w porównaniu z dietą bez suplementacji. Ochronne właściwości antyoksydantów prawdopodobnie wiążą się ze zdolnością neutralizacji anionorodnika ponadtlenkowego, co zapobiega jego interakcji z błonami komórkowymi [Atroschi i in. 2000]. Również kwas elagowy- związek fenolowy występujący

w malinie i truskawce hamuje mutageniczne działanie aflatoksyny B1 [Loarca-Piña i in. 1998].

Warunki produkcji mykotoksyn nie są równoznacznie optymalne dla rozwoju grzybni, stąd ograniczenie jej rozwoju poprzez wprowadzenie niekorzystnych zmian środowiska może nie być wystarczającym krokiem w dezaktywacji samych mykotoksyn. Przykładowo obniżenie temperatury obniża tempo rozwoju grzybni, ale nie ogranicza, a w przypadku rodzaju *Alternaria*, a wręcz wzmacnia właściwości mykotoksynotwórcze [Tournas i Stack 2001].

W walce z mykotoksynami stosuje się trzy główne strategie postępowania: zapobieganie zanieczyszczeniu mykotoksynami w okresie przedzbiorczym jak i pozbiorczym, detoksyfikację mykotoksyn obecnych w żywności oraz inhibicję wchłaniania mykotoksyn w przewodzie pokarmowym. Jednak zarówno dobra praktyka rolnicza, taka jak poprawa żywotności roślin, stosowanie środków ochrony roślin, nawadnianie czy dobór odmiany nie gwarantują ochrony przed występowaniem mykotoksyn [Fernández-Cruz 2010]. Także dezaktywacja mykotoksyn z wykorzystaniem metod fizycznych nie jest wystarczająco efektywna [Huvig i in. 2001]. Światło czerwone (627 nm), a także niebieskie (455nm) wpływają w niejednoznaczny sposób na produkcję mykotoksyn przez grzyby z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium* w zależności od gatunku [Schmidt-Heydt i in. 2011]. Ozonowanie fumozyny, mimo efektu oksydacyjnej degradacji, nie zawsze skutkuje całkowitą detoksyfikacją mykotoksyny [McKenzie i in. 1997]. Natomiast badania przeprowadzane na ziarnie pszenicy wykazały, że promieniowanie UV o długości fali 254 nm po 30 minutach ekspozycji zmniejszyło produkcję aflatoksyn, ochratoksyn, sterigmatocystyny oraz zearalenonu przez *Aspergillus parasiticus*, a po 60 minutach ekspozycji całkowicie ją zniósł [Atalla i in. 2004]. Podobne wyniki uzyskano, gdy ziarno kukurydzy, jęczmienia, oplewionego i oczyszczonego ryżu, pszenicy, soi, fasoli, orzechów ziemnych, na których uprzednio zdiagnozowano obecność grzybów z rodzajów m. in.: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Cladosporium* poddano działaniu promieniowania gamma. Dawki promieniowania o intensywności 2 oraz 4 Gy znacznie obniżyły całkowitą zawartość grzybów w porównaniu z kontrolą bez napromieniowania. Co więcej, zawartość mykotoksyn obniżała się wraz ze wzrostem dawki promieniowania do tego stopnia, że przy dawce 6 Gy po 100 dniach przechowywania uzyskano ziarno całkowicie wolne od mykotoksyn [Aziz i in. 2006]. Z drugiej strony w doświadczeniu opartym na zastosowaniu promieniowania UV-A oraz UV-C wykazano, że zwiększone dawki UV-C mogą sprzyjać osiągnięciu mykotoksynotwórczych właściwości nawet przez szczepy pierwotnie ich nieposiadające [Aziz i Smyk 2002].

2.4 METODY KONTROLI POZBIORCZEJ

Stosuje się różne metody zapobiegania porażeniu owoców przez grzyby, wciąż poszukując optymalnej. Wśród nich aplikacja fungicydów podczas kwitnienia oraz owocowania uznana jest za wadliwą, ponieważ przeszło 50 % owoców zawiera wykrywalne ilości ich pozostałości [O'Neill i in. 2012]. Z tego powodu, jak również ze względu na ryzyko uodpornienia się na nie populacji patogenów stosowanie sztucznych fungicydów jest niepożądane, a po zbiorze wręcz niedopuszczalne. Chociaż powstały już różne alternatywne strategie kontroli pozbiorczego pleśnienia owoców i warzyw, każda z nich posiada ograniczenia, które mogą wpłynąć na ich komercyjne zastosowanie [Tripathi i Dubey 2004]. Należą do nich niechemiczne metody kontroli oparte na biologicznie aktywnych naturalnych składnikach, takie jak olejki eteryczne, kwas octowy, jasmoniany, glukozynolany, chitozan, a także ekstrakty roślinne, m. in. zawierające związki fenolowe, takie jak kwas chlorogenowy czy też olejku eterycznego jakim jest kemferol [Tripathi i Dubey 2004].

Innym sposobem przedłużania świeżości owoców jest przechowywanie w atmosferze kontrolowanej z podwyższoną zawartością CO₂, które wprawdzie hamuje rozwój pleśni, jednak obniża poziom kwasowości ogólnej [Haffner i in. 2002], a także kwasu askorbinowego [Agar i in. 1997]. Aplikacja naturalnych olejków eterycznych, chociaż pozwala w owocach podnieść poziom cukrów czy kwasów organicznych w porównaniu z kontrolą, wymaga jednak odpowiedniej temperatury ich stosowania - doświadczenie wykazało, że w temperaturze 0 °C, a także przy 20 °C ich zastosowanie nie przynosi efektów, a jest zasadne jedynie w temperaturze 10 °C [Wang 2003]. Inną proponowaną metodą jest przechowywanie świeżych oraz mrożonych owoców maliny i truskawki w jadalnych otoczkach chitozanowych [Han i in. 2004].

Jedną z przyczyn psucia się owoców maliny i truskawki jest aktywność enzymów: polifenolooksydazy, β-glukozydazy i peroksydazy. Inaktywacja polifenolooksydazy pozwala na zachowanie stabilności antocyjanów, jednak działaniem wysokiego ciśnienia nie osiągnięto całkowitej inaktywacji β-glukozydazy [Garcia-Palazon i in. 2004]. Owoce maliny poddano również aplikacji związków lotnych, spośród których tylko wybrane przyczyniają się do zmniejszenia frekwencji spleśniałych owoców na drodze wzmocnienia zdolności antyoksydacyjnej oraz bezpośredniego działania fungistatycznego [Chanjirakul i in. 2006].

Służące identyfikacji patogenów metody molekularne, które m. in. dla *Botrytis cinerea* pozwalają na wykrycie ich obecności już we wczesnym etapie infekcji, kiedy nie są jeszcze widoczne ślady porażenia [Rigotti i in. 2002] są kosztowne i niedostępne dla praktyki ogrodniczej. Natomiast w przetwórstwie owoców problem stanowią drożdże z rodzaju *Saccharomyces*, *Pichia*, *Cryptococcus*, *Kluyveromyces* i *Candida* często rozwijające się w koncentratkach i pulpach owocowych, ponieważ nie są one wykrywalne podczas kontroli

organoleptycznej, a trudność w ich identyfikacji za pomocą techniki PCR stanowi wybór specyficznego dla gatunku primera. Jeśli ten jest nieznan, to konieczne jest sprawdzenie szeregu primerów, co jest kosztowne, a w razie negatywnego wyniku nie przynosi żadnej informacji o mikroflorze zanieczyszczającej produkt [Sancho i in. 2000].

Metodą o szerokim spektrum działania stanowi natomiast ozonowanie owoców pomidora - obniża ono poziom etylenu i kwasu jasmonowego, stymuluje syntezę białek patogenezależnych (PR) hamujących wzrost *Botrytis cinerea* [Tzortzakis i in. 2011], co skłania do rozwoju metod, które integrują produkcję ozonu z działaniem innego rodzaju metod przedłużania trwałości.

2.5. UV-C JAKO METODA POZBIORCZEGO PRZEDŁUŻANIA TRWAŁOŚCI

Promieniowanie UV-C wywiera odmienny wpływ na organizmy żywe niż promieniowanie UV-A oraz UV-B, ponieważ niesie ono ze sobą wyższą energię. Jego wybór uzasadniony jest przebiegiem doświadczenia Khatami i Ghanati [2011], którzy porównali wpływ promieniowania UV z zakresu B oraz C na związki je absorbujące UV: flawonoidy, antocyjany oraz taniny w kulturze kalusa *Malva neglecta*. Po 120 minutach stosowania UV-B stwierdzono obniżenie żywotności komórek kalusa do 28,68%, natomiast UV-C – do 15,63% w porównaniu z kontrolą bez napromieniowania. Zarówno UV-B jak i UV-C przyczyniały się do wzrostu zawartości związków absorbujących UV przez komórki. UV-B wyraźniej podnosił poziom antocyjanów, natomiast UV-C - zawartość tanin i flawonoidów w komórkach *Malva neglecta*, co wskazuje na różne odpowiedzi w zależności od rodzaju zastosowanego promieniowania UV [Khatami i Ghanati 2011].

Stosowanie promieniowania UV-C zostało dopuszczone do stosowania w agronomii ze względu na skuteczność w przeciwdziałaniu wirusom, bakteriom i grzybom, określono też okoliczności i warunki bezpiecznego przebiegu aplikacji UV-C. Jednoznacznie uznano tę metodę za bezpozostałościową i dopuszczono do użytku jako zasadną metodę higienizacyjną przeprowadzaną po zbiorze na drobnych owocach [Final Report on plant protection products EGTOP/3/2011]. Spośród promieniowania UV najbardziej szkodliwym oddziaływaniem na organizmy charakteryzuje się promieniowanie z zakresu C, a ponieważ w warunkach naturalnych jest nie dociera ono do atmosfery ziemskiej, jego działanie jest najmniej poznane spośród pozostałych zakresów promieniowania. Jest czynnikiem stresu abiotycznego prowadzącego do nadprodukcji reaktywnych form tlenu w roślinach, które mogą uszkadzać białka, lipidy, cukry i kwasy nukleinowe. Narazone na stres oksydacyjny

rośliny dysponują szeregiem enzymatycznych i nieenzymatycznych związków neutralizujących jego skutki [Gill i Tuteja 2010].

Reaktywne formy tlenu są wytwarzane nieustannie jako produkt uboczny metabolizmu tlenowego. Ich produkcja zwiększa się w warunkach stresu abiotycznego, również kiedy roślina celowo generuje je jako cząsteczki sygnałowe podczas obrony przed patogenem, bądź w celu skutecznego programowanej śmierci komórkowej [Apel i Hirt 2004]. Rolę cząsteczki sygnałowej, pośredniczącej w nabywaniu tolerancji na stres biotyczny i abiotyczny pełni nadtlenek wodoru, który odgrywa rolę przekaźnika w sygnalizacji procesów adaptacyjnych. Wykazano, że zastosowanie egzogennej H_2O_2 indukuje tolerancję na chłodzenie, wysoką temperaturę oraz stres biotyczny, co przejawia się jednoczesnym wzrostem stężenia endogennej H_2O_2 [Bhattacharjee 2005]. Wiąże się z tym fakt, że organizmy poddane umiarkowanej ekspozycji na promieniowanie UV, łatwiej adaptują się do warunków zwiększonej jego ekspozycji. Wy tłumaczeniem tej prawidłowości może być zaproponowana w latach 80. ubiegłego wieku koncepcja hormezy.

Hormeza to zjawisko polegające na wywoływaniu pozytywnych zmian w wyniku zastosowania potencjalnie szkodliwych czynników w niskich dawkach, które indukują odporność na stres [Kinoshita i in. 1999]. Jej występowanie zostało potwierdzone przez wykazanie wpływu stresu solnego na zwiększenie aktywności dysmutazy nadnadtlenkowej, zawartości glutationu, polifenoli oraz antocyjanów u owoców truskawki [Keutgen i Pawelzik 2007]. Z doniesień nt. podłoża hormezy wynika, że z przeżyciem komórki należy łączyć stężenie wewnątrzkomórkowego NO, którego zmiana stężenia decyduje o kierunku odpowiedzi na stres egzogeny. Dostrzeżono również, że poziom NO wzrasta pod wpływem napromieniowania UV [Zhang i Zhao 2008]. Może to mieć, obok wzrostu właściwości antyoksydacyjnych oraz zwiększonej produkcji związków biologicznie czynnych, istotny wpływ na zdolności adaptacyjne komórki. Promieniowanie UV wiąże się z wprowadzeniem do komórki wolnych rodników, jednak odpowiednio niskie natężenie UV indukuje zdolność neutralizacji wolnych rodników poprzez zmianę poziomu kluczowych antyoksydantów - glutationu i askorbinianu [Jansen i in. 1998]. Skuteczność działania mechanizmów ochrony antyoksydacyjnej przejawia się w zahamowaniu czy też opóźnieniu destrukcyjnego wpływu reaktywnych form tlenu (RFT), takich jak peroksydacja lipidów błon, depolimeryzacja ścian komórkowych, uszkodzenie plastydów, mitochondriów oraz materiału genetycznego [Bartosz 2009]. W warunkach stresu oksydacyjnego uruchomione zostają komórkowe mechanizmy obronne prowadzące do wzrostu właściwości antyoksydacyjnych [Rybuś-Zajac i Kubiś 2010]. Zmiany te, to uruchomienie mechanizmów prewencyjnych m. in. aktywacja enzymów: dysmutazy nadnadtlenkowej, peroksydazy glutationowej czy katalazy, wychwytyjących reaktywne formy tlenu. Dysmutaza nadnadtlenkowa katalizuje reakcję dysmutacji anionorodnika nadnadtlenkowego. Powstający w ten sposób nadtlenek wodoru jest rozkładany przez katalazę do mniej reaktywnego tlenu

i wody. Anionorodnik ponadtlenkowy jest również substratem peroksydaz, które redukują go do wody utleniając różne związki [Bartosz 2009]. Z usuwającą nadtlenek wodoru peroksydazą askorbinianową współpracuje reduktaza dehydroksyaskorbinianowa regenerująca askorbinian kosztem utlenienia glutationu oraz reduktaza glutationowa regenerująca glutation kosztem utleniania zredukowanego adenozyndifosforanu [ADPH]. Cykl sprzężonych reakcji katalizowanych przez te enzymy określany jest mianem cyklu Halliwela-Asady [cyt. za Bartosz 2009]. Cząsteczki takie jak askorbinian, glutation, czy flawonoidy są donorami elektronów dla reakcji przeprowadzanych przez peroksydazę [Yamasaki 1997]. W drugiej linii obrony uruchamiane są mechanizmy naprawcze, reprezentowane przez składniki nieenzymatyczne, np. kwas L-askorbinowy, glutation, karotenoidy, flawonoidy, wchodzące w niespecyficzne reakcje z reaktywnymi formami tlenu i organicznymi wolnymi rodnikami [Bartosz 2009; Holossy 2002]. Są to reakcje utleniania-redukcji, w których flawonoidy i antocyjany pełnią funkcje antyoksydacyjne [Tsuda i in. 2000; Yamasaki i in. 1997]. Z drugiej strony po oddaniu elektronu, powstający rodnik fenoksyłowy może inicjować peroksydację lipidów, jeśli wejdzie w reakcję z jonami metali, podobnie jak rodnik askorbinianowy, co świadczy o możliwości przyjęcia roli pro oksydacyjnej przez flawonoidy i antocyjany [Sakihama i in. 2002]. Kierunek reakcji utleniania-redukcji dla danego związku zależy więc od jego potencjału elektrochemicznego względem napotkanej cząsteczki, z którą wchodzi w reakcje, co świadczy o niejednoznaczności roli antyoksydantów i złożoności reakcji, w jakich uczestniczą. Flawonoidy pełnią również rolę naturalnych filtrów chroniących przed nadmiarem absorpcji promieniowania UV [Fischer i in. 2011]. Innego rodzaju związkami o działaniu ochronnym licznie syntetyzowanym w warunkach zagrożenia stresem oksydacyjnym są poliaminy, których synteza w błonie tylakoidów poprzedza biosyntezę karotenoidów i flawonoidów, jak to stwierdzono m.in. w liściach tytoniu poddanych promieniowaniu UV-B [Lütz i in. 2005]. Rola poliamin polega na wyłapywaniu wolnych rodników uwalnianych przez lipooksygenazę i fosfolipazy, co zapobiega peroksydacji błon [Lester 2000], poprzez stabilizujący wpływ kationowych poliamin na ujemnie naładowane fosfolipidy oraz DNA [Droplet i in. 1986 cyt. za Rohanie i Ayoub 2012]. Nadekspresja S-adenozylometioniny będącej prekursorem poliamin - spermidyny i putrescyny wzmacnia także tolerancję na zasolenie u ryżu (*Oryza sativa* L.) [Roy i Wu 2002]. Przy porównaniu warunków umiarkowanego zasuszenia gleby ze skrajną suszą okazało się, że w ziarnie ryżu uprawianym na umiarkowanie zaszuszonej terenie, wzrosła zawartość poliamin, a zmalała poziom syntezy etylenu i nadtlenu wodoru, natomiast na glebie silnie przesuszonej zaobserwowano efekty przeciwne [Chen. i in. 2013b], co świadczy o antagonistycznym oddziaływaniu tych związków.

Efekt przedłużenia trwałości owoców wiąże się również z bakteriostatycznym i fungistatycznym oddziaływaniem UV-C, ze względu na

letalne działanie względem mikroorganizmów saprofitycznych i chorobotwórczych. W naturalnych warunkach roślina wytwarza związki skierowane przeciwko infekcji grzybowej i bakteryjnej – fitoaleksyny - są to niskocząsteczkowe metabolity wtórne syntetyzowane *de novo* w warunkach stresu biotycznego oraz abiotycznego [Grayer i Kokobun 2001]. Badania dotyczące syntezy fitoaleksyn pod wpływem UV-C przeprowadzono na owocach pomidora. Akumulacja riszityny skutkowałą zmniejszeniem podatności na *Botrytis cinerea*, która utrzymywała się od 3 do 12 dni po napromieniowaniu [Charles i in. 2008]. Po aplikacji UV-C zaobserwowano również syntezę skoparonu i skopoletyny w owocach pomarańczy (*Citrus sinensis* L.) [D'hallewin i in. 1999] i grejpfruta (*Citrus paradisi* Macf.) [D'hallewin i in. 2000] oraz resweratrolu w owocach winorośli (*Vitis vinifera* L.) [Cantos i in. 2003].

Kiedy komórki roślinne zostaną wystawione na działanie elicytora czyli czynnika uruchamiającego reakcje obronne ustroju, w odpowiedzi skierowanej przeciwko grzybom uczestniczą także patogenezozależne białka (PR) m. in. o działaniu hydrolitycznym skierowanym przeciwko komponentom ściany komórkowej grzyba. Do najlepiej poznanych należą beta-1,3-glukanazy oraz chitynazy, które niszczą komórki patogena, a ich obecności towarzyszy wzmożona synteza ligniny będącej pochodną związków fenolowych wzmacniającej ścianę komórkową rośliny [Ebrahim i in. 2011]. Przebadano również jak aplikacja UV-C w dawce $3,7 \text{ kJ m}^{-2}$ wpływa na profil białkowy owoców pomidora. Zaobserwowano zahamowanie ekspresji białek przypuszczalnie związanych z dojrzewaniem owocu, wzmocnienie ekspresji β -1, 3- glukanazy oraz chityny, a także syntezę pięciu nowych białek nieuczestniczących w metabolizmie podstawowym. Autorzy przypisują białkom PR istotną rolę w przedłużonej w czasie reakcji odpornościowej na szarą pleśń [Charles i in. 2009]. Dawka promieniowania UV-C, która najefektywniej ograniczyła rozwój *Botrytis cinerea* na owocach truskawki bezpośrednio po aplikacji stymulowała najwyższy wzrost zawartości amoniakolizy fenyloalaninowej (PAL) – kluczowego enzymu w syntezie związków fenolowych. Natomiast po upływie 24 i 48 godzin po napromieniowaniu aktywność PAL spadła i zanikły różnice w aktywności PAL między próbami poddanymi napromieniowaniu a kontrolą. Dawki $0,5$ i $2,5 \text{ kJ m}^{-2}$ po 12 godzinach od napromieniowania przyniosły efekt podwyższonej aktywności PAL w porównaniu z kontrolą i dawką $0,25 \text{ kJ m}^{-2}$ [Nigro i in. 2000].

Wpływ promieniowania UV-C na opóźnienie dojrzewania owoców pomidora polegał na zahamowaniu aktywności poligalakturonazy, dzięki czemu owoc wolniej podlegał procesom mięknięcia, a wzmocniona ściana komórkowa stanowiła fizyczną barierę utrudniającą infekcję przez *Rhizopus stolonifer* [Stevens i in. 2004].

Przedłużenie okresu trwałości owoców mango (*Mangifera indica* L.) wiązało się z poprawą ich wyglądu, obniżeniem odsetka owoców porażonych pleśnią, wzrostem całkowitej zawartości polifenoli, flawonoidów,

enzymatycznej aktywności amoniakolizy fenoloalaninowej (PAL) i lipooksygenazy (LOX) [González- Aguilar i in. 2007].

Badaniom wpływu promieniowania UV-C na zdolności antyoksydacyjne poddano również owoce truskawki (*Fragaria x ananassa* Duchesne). Wykazano, że zwiększyła się aktywność takich enzymów antyoksydacyjnych, jak: peroksydazy glutationowej, reduktazy glutationowej, dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy askorbinianowej, peroksydazy gwajakolowej, reduktazy monodehydroaskorbinianu oraz reduktazy dehydroaskorbinianu. Zawartość nieenzymatycznych antyoksydantów, takich jak zredukowana oraz utleniona forma glutationu wzrastała w wyniku ekspozycji owoców na promieniowanie UV-C. Zaobserwowano również wzrost zawartości polifenoli. Natomiast całkowita zawartość antocyjanów wzrastała dla każdej z dawek oraz dla kontroli. Oznacza to, że promieniowanie UV-C w tym przypadku wywołuje nieznaczny wpływ na akumulację antocyjanów. Wszystkie dawki, chociaż w największym stopniu 2,15 oraz 4,3 kJ·m⁻² powodowały hamowanie zapleśnienia owoców truskawki [Erkan i in. 2008].

Na przykładzie owocu pomidora (*Lycopersicon esculentum* L.) wykazano wpływ promieniowania UV-C w dawce 3,7 kJ m⁻² na stan błony komórkowej – podczas pierwszych 5 dni gromadziły się markery peroksydacji błony komórkowej - malonodialdehyd, aldehydy, etan, pentan, związki lipofuscynopodobne, nadtlenek wodoru, jony potasu i wapnia. Po tym okresie nastąpił spadek ich zawartości względem kontroli bez napromieniowania, co sugeruje indukcję mechanizmów obronnych albo naprawczych prawdopodobnie związanych z produkcją antyoksydantów bądź enzymów antyoksydacyjnych [Barka i in. 2000a i b].

Na przykładzie dojrzewających owoców pomidora *Lycopersicon esculentum* L. wykazano, że UV-B nie wpływa na syntezę etylenu, za to stymuluje syntezę β-karotenu, na co wpływa również interakcja genotypu i promieniowania UV-B oraz interakcja genotypu, stadium dojrzałości i promieniowania UV-B [Becatti i in. 2009].

Przeciwstawny efekt przyniosła aplikacja promieniowania UV-C u owoców truskawki, zaliczanych, inaczej niż owoce pomidora, do owoców nieklimakterycznych. Poziom etylenu u truskawek mierzony po 6 godzinach po napromieniowaniu UV-C był tym wyższy, im wyższa była dawka promieniowania [Nigro i in. 2000].

Potrzebę precyzyjnego doboru dawki promieniowania UV-C jako pozbiorczej metody utrwalania owoców wyjaśnia przykład doświadczenia przeprowadzonego na owocach czarnej jagody *Vaccinium corymbosum* L. Zauważono spadek porażenia przez *Colletotrichum acutatum* przy dawce 2 kJ·m⁻². Z drugiej strony dawce przekraczającej 8 kJ m⁻² towarzyszył wzrost zawartości pleśni. Całkowita zawartość antocyjanów i związków fenolowych, a także pojemność antyoksydacyjna mierzona jako FRAP (ferric reducing antioxidant power) była dla odmiany 'Colins' wyższa w zakresie 0-1 kJ m⁻² w porównaniu z kontrolą. Wysoka zawartość fitozwiązków nie zawsze jest

jednoznaczna z wysoką zdolnością antyoksydacyjną – w przypadku odmiany ‘Bluecrop’ całkowita zawartość antocyjanów oraz pojemność antyoksydacyjna FRAP wzrastały wraz ze zwiększeniem intensywności napromieniowania, osiągając najwyższą wartość dla dawki 2 kJ m^{-2} oraz 4 kJ m^{-2} , natomiast nie wiązało się to ze wzrostem zawartości związków fenolowych [Perkins – Veazie i in. 2008]. Działanie ochronne promieniowania UV-B wobec związków fenolowych nie zawsze jest efektem ich wzmożonej syntezy, ale może też wynikać z inaktywacji oksydazy polifenolowej. Oksydaza polifenolowa odpowiada za ciemnienie owoców zawierających związki fenolowe. Wysokie dawki promieniowania są w stanie doprowadzić do całkowitej inaktywacji tego enzymu [Falguera i in. 2012].

Efekt promieniowania UV nie jest też jednakowy dla wszystkich gatunków. Porównano wpływ metanolowych ekstraktów roślinnych uzyskanych z liści 18 gatunków roślin poddanych oraz niepoddanych uprzedniej aplikacji UV-C na *Botrytis cinerea* i *Fusarium solani* – szczep wyizolowany od pacjentów cierpiących na onychomykozę. UV spowodowało silny wzrost przeciwgrzybowych właściwości u pięciu gatunków (*Vitis vinifera*, *V. candicans*, *V. muscadinia*, *V. rupestris*, *Ampelopsis* ssp.) przeciwko szczepowi *Fusarium solani*, odpornemu na klasyczne farmakologiczne leczenie. Jednak w przypadku trzech innych gatunków (*Cissus antartica*, *C. rhombifolia*, *Helleborus niger*) – promieniowanie UV nie było efektywne lub wręcz obniżyło właściwości antygrzybowe [Shumpp i in. 2012].

Reakcja danego mikroorganizmu na promieniowanie UV-C zależy od składu mikroflory na powierzchni owocu. Porównując reakcję *Monilinia fructicola* zainokulowanego na dwóch rodzajach podłoża zauważono, że ta sama dawka okazała się letalna dla zainokulowanego na papierowym krążku grzyba, podczas gdy na owocu brzoskwini wręcz poprawiała się jego żywotność, co prawdopodobnie związane było z występowaniem naturalnego antagonisty *Monilinia fructicola* - drożdży *Debaromyces hansenii* [Stevens i in. 1998].

Efekt poprawy wartości hodowlanej osiągnięto przez aplikację promieniowania UV na nasiona kapusty (*Brassica oleracea* L.), dla której dawkę hormetyczną ustalono na $3,6 \text{ kJ m}^{-2}$. Przyniosła ona odporność na czarną pleśń *Xanthomonas campestris* porażającą liście kapusty. Z tak otrzymanych nasion uzyskano rośliny o najbardziej pożądanym kolorze, najwyższej wadze, największej średnicy główki i opóźnionej dojrzałości [Brown i in. 2001].

We wszystkich omawianych w literaturze działaniach promieniowania UV-C potwierdzono jego fungistatyczny wpływ na przechowywanych owocach. Wyjątek stanowiły owoce czereśni, na które w przeciwieństwie do truskawki, dawki rzędu $0,05\text{-}1,5 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$ nie wywarły terapeutycznego wpływu [Marquenie i in. 2002].

Dotychczas nie przeprowadzono badań, które wykazałyby niekorzystny wpływ promieniowania UV na wartość odżywczą żywności czy powstawanie toksycznych związków w napromienianej żywności [Shama i Alderson

2005]. Jediną metodą pozwalającą ustalić czy żywność była napromieniowana jest, w przypadku promieniowania jonizującego- oznaczenie fragmentacji DNA [Shama i Alderson 2005 cyt. za Marin-Huackea i in. 2002]. Również promieniowanie UV wykazuje szkodliwy wpływ na organizmy żywe poprzez oddziaływanie na DNA, lipidy, witaminy oraz na proces fotosyntezy w komórce roślinnej, jak również poprzez wytwarzanie RFT poprzez uszkodzenie mitochondriów i chloroplastów [Nawkar i in. 2013]. Udowodniono, że w wyniku zwiększonej ekspozycji na promieniowanie UV-C zachodzi w organizmie roślinnym zjawisko, które przebiegiem przypomina apoptozę obserwowaną u zwierząt [Danon i Gallois 1998]. Promieniowanie UV może prowadzić do szeregu morfologicznych i fizjologicznych uszkodzeń rośliny [Shen i in. 2010 cyt. za Correia i in. 1999], a także może generować RFT, takie jak: tlen singletowy, anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik hydroksylowy i nadtlenek wodoru, co w dalszej konsekwencji prowadzić może do uszkodzenia makrocząsteczek takich jak lipidy i białka [Shen i in. 2010 cyt. za Machernaso i in. 1998]. Działanie promieniowania UV jest zależne od długości jego fali oraz wielkości dawki - wyższe prowadzą do uszkodzeń komórki, a w przypadku promieniowania UV-C jego nadmiar może wręcz indukować programowaną śmierć komórki (PCD) przez aktywację proteaz podobnych do zwierzęcych kaspaz, fragmentacji DNA oraz zmian morfologicznych jądra komórkowego, co jest poprzedzone produkcją RFT w przyległych chloroplastach i mitochondriach, a także zaburzeniami funkcjonalnymi mitochondriów [Gao i in. 2008].

Badania Danon i Gallois [1998] wykazały, że promieniowanie UV-C u *Arabidopsis thaliana* indukuje zmiany podobne do apoptozy. Po upływie dwóch godzin od aplikacji promieniowania otrzymano fragmenty oligonukleotydów długości 180, 360, 540, 720, 930 par zasad. Fragmentacja DNA postępowała w przedziale czasu od 6 do 24 godzin po napromieniowaniu; po tym czasie powstały oligonukleotydowe fragmenty o długości 180, 360 i 540 par zasad. Dawka promieniowania UV-C w wysokości $1 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ nie jest wystarczająca dla indukcji fragmentacji DNA u *Arabidopsis thaliana*. Natomiast dla dawek $10\text{-}50 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ proporcjonalnie do dawki wzrasta w czasie odsetek populacji komórek, których DNA uległo fragmentacji. Przy dawce $50 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ uzyskano maksymalny odsetek sfragmentowanych jąder komórkowych po upływie 4 godzin od ekspozycji na UV-C. Oligonukleotydowa fragmentacja DNA jest charakterystyczna dla PCD, przy czym nie są to losowe fragmenty DNA, co wyklucza nekrozę. Liczba komórek, których DNA uległo fragmentacji (a zostały wykryte metodą terminalnej deoksynukleotydylotransferazy [tzw.TUNEL] roślinie w czasie, co oznacza, że fragmentacja DNA nie była efektem fizycznego rozpadu powodowanego przez UV-C, ale jest konsekwencją aktywności DNAzy. Fragmentacja DNA może być zatem fizjologiczną odpowiedzią na UV-C. Dawka $1 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ UV-C nie powoduje śmierci protoplastów, jednak już przy dawce $10 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ odsetek martwych protoplastów rósł wraz z upływem czasu i jest skorelowany z odsetkiem jąder

z oznakami fragmentacji DNA. Dawka $50 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ przynosi natychmiastowy efekt letalny dla wszystkich komórek [Danon i Gallois 1998]. Natomiast zastosowanie metody TUNEL jako identyfikującej fragmentację DNA w komórkach do których możliwe jest uwolnienie związków fenolowych, budzi pewne zastrzeżenia, ponieważ związki fenolowe mogą tłumić reakcję TUNEL. Liczne składniki komórki, w tym flawonoidy, chlorofile i związki fenolowe mogą też wywoływać interferencję fluorescencji po zastosowaniu jodku propidyny (PI) w oznaczeniu kondensacji chromatyny. Dodatkowym utrudnieniem jest to, że fluorescencja może być obecna także w komórkach nekrotycznych, natomiast metodą TUNEL nie można oznaczać komórek nekrotycznych. Właściwe rozpoznanie rodzaju PCD ułatwia fakt, że apoptoza komórek roślinnych wiąże się z eksternalizacją wewnętrznej powierzchni błony komórkowej, która poprzedza fragmentację DNA [O'Brien i in. 1998a]. Wykazano, że tolerancja na stres może być związana z odwracalnością wczesnych etapów PCD (fragmentacja DNA, kondensacja chromatyny). Obrazuje to doświadczenie, w którym protoplasty wyizolowane z owocu jabłoni (*Malus domestica*) poddano ochronnemu działaniu wysokiej temperatury, co wykazało brak kondensacji DNA w niskiej temperaturze [Wang i in. 2001]. Kondensacja chromatyny jest odwracalna we wczesnej fazie apoptozy, a moment, kiedy staje się to procesem nieodwracalnym może być krytycznym punktem dla przebiegu apoptozy, prowadzącym do dalszych nieodwracalnych zmian podczas apoptozy. Jądra komórek tytoniu, na które oddziaływano $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl mimo zróżnicowanego stopnia kondensacji chromatyny w zależności od wieku kultury, nadal zachowały zdolność jej dekondukcji. Natomiast u starszych komórek zaszła nieodwracalna kondensacja DNA, których jądra zawierały chromatynę skondensowaną w 40-70%. W komórkach starzejących się, dla których kondensacja chromatyny sięga 70-100%, następował rozpad DNA w obecności HCl, co wskazuje na późną fazę apoptozy [O'Brien i in. 1998a]. Możliwość odwracalności kondensacji chromatyny potwierdzono w kolejnym doświadczeniu, gdzie zastosowano związki chemiczne w dawkach subletalnych oraz przeprowadzono ich wymywanie z komórek. W obu przypadkach kondensacja chromatyny była całkowicie odwracalna w ciągu 20 godzin. Wydaje się prawdopodobnym, że wczesne mechanizmy naprawcze są zdolne zapobiegać śmierci komórki na drodze dekondukcji chromatyny [O'Brien i in. 1998b].

Ze względu na postawione cele bieżącego doświadczenia, nie ma przesłanek dla konieczności podjęcia badań dotyczących szkodliwego wpływu UV-C na DNA oraz żywotność owoców maliny, a także badania obecności mykotoksyn w materiale roślinnym, natomiast badanie takie mogłoby być uzupełniającym. Przedmiot niniejszej pracy określają postawione niżej hipotezy badawcze.

Hipotezy badawcze:

Założona hipoteza główna zweryfikowana zostanie poprzez realizację hipotez szczegółowych zakładających, że:

1. Promieniowanie UV-C wywołuje zjawisko hormezy poprzez wzrost aktywności antyoksydacyjnej i ochronnej względem związków biologicznie czynnych.

2. Promieniowanie UV-C jest czynnikiem limitującym występowanie grzybów pleśniowych poprzez ograniczenie ich wzrostu oraz składu rodzajowego.

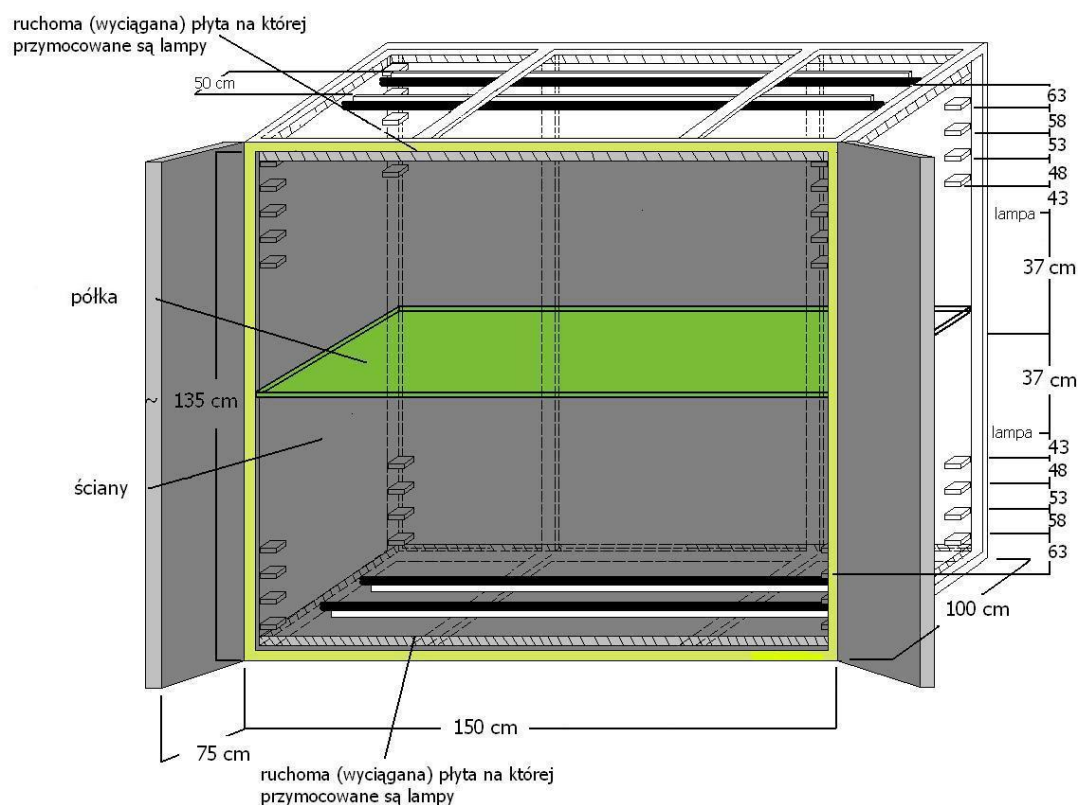
3. MATERIAŁ I METODY

Przeprowadzone doświadczenia dotyczyły okresu pozbiornego owoców maliny *Rubus idaeus* L. odmiany 'Polka' przechowywanych w symulowanych warunkach sprzedaży. Materiał doświadczalny pozyskano w gospodarstwie ogrodniczym „Szkółka Konarzewscy” w Buszkowie k. Koronowa, gm. Bydgoszcz z czteroletnich upraw komercyjnych, przy ograniczonym zastosowaniu środków ochrony roślin (1 oprysk preparatem TELDOR (substancja czynna fenheksamid) w ciągu okresu wegetacji). Odmiana 'Polka' (Ryc. 1) to średnio-wczesna odmiana maliny przeznaczona zarówno do upraw towarowych jak i amatorskich. Owoce są średnio duże, stożkowate, czerwone z silnym połyskiem, jędrne, odporne na obciążenia mechaniczne, nadają się do bezpośredniego spożycia, mrożenia, a także przetwórstwa.



Ryc. 1: Malina odmiany 'Polka' (www. rynek-rolny.pl, 2017)

Aplikację promieniowania UV-C oraz symulowane warunki sprzedaży przeprowadzano w Zakładzie Technologii Żywności, Katedrze Mikrobiologii i Technologii Żywności Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy.



Ryc. 2: Przekrój boczny przez komorę do napromieniowania UV-C wg Keutgen
(Wojciechowska 2013)

Doświadczenia laboratoryjne przeprowadzano w układzie kompletnie losowym z czterema powtórzeniami każdego czynnika. Aplikację promieniowania ultrafioletowego z zakresu C przeprowadzono w zamkniętej komorze umożliwiającej napromieniowanie owoców z góry i z dołu (konstrukcja wg Keutgen, Ryc. 2) przy zastosowaniu 4 lamp UV-C firmy Philips, model TUV 36W LL z wydajnością promieniowania 14,6 W, maksymalną emisją przy długości fali 253,7 nm. Owoce poddano działaniu

dawki UV-C, przy czym odpowiednią ilość energii określono w badaniach przy zmiennym czasie naświetlania owoców.

W latach 2012-2013 doświadczenia obejmowały następujące czynniki w czterech powtórzeniach:

I. czynnik (oznaczany dalej jako A): czas trwania przechowywania w symulowanych warunkach sprzedaży: 0, 1, 2, 3, 4 dni.

II. czynnik (oznaczany dalej jako B): czas ekspozycji promieniowania UV-C: 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 min.

Chcąc uzyskać potwierdzenie wyników, wykonano doświadczenie w roku 2014, uwzględniając wybrane poziomy czynnika:

I. czynnik: czas ekspozycji promieniowania UV-C: 0, 8, 20 min.

II. czynnik: czas trwania przechowywania w symulowanych warunkach sprzedaży: 0, 1, 2 dni.

Faktyczna ilość energii została obliczona wg poniższego wzoru opracowanego przez Institute for X-Ray Physics na Uniwersytecie Georga Augusta w Getyndze:

$$Frel = Fhim / Fchamber$$

$$Euv\ dir = (Iuv / 2) \times Ndir / (DL)^2$$

$$Euv\ ind = (Iuv / 2) \times Nind \times R / (DL)^2 + (Iuv / 2) \times Ndiag \times R / (DiaL)^2$$

$$Euv\ diag = (Iuv / 2) \times Ndiag / (DiaL)^2$$

$$Euv\ tot = Euv\ d + Euv\ i + Euv\ diag$$

$$Dose = Frel \times Euv\ tot \times T / AirRH$$

Gdzie:

Fhim =powierzchnia, jaką zajmują owoce ;

Fchamber =powierzchnia komory;

Frel – stosunek powierzchni zajmowanej przez owoce i całkowitej powierzchni komory

Iuv= natężenie promieniowania lampy UV-C;

Ndir = liczba lamp umieszczonych nad i pod owocami

Nind = liczba lamp umieszczonych nad i pod owocami, które napromieniowują pośrednio

Ndiag = liczba lamp umieszczonych po przekątnej względem owoców

DiaL =odległość przekątna od lamp;

DL = odległość prostopadła między owocami a lampami

R = refleksja materiału dla tej długości fali (0,75);

T =czas ekspozycji;

AirRH =wilgotność względan powietrza;

Euv dir =bezpośrednie napromieniowanie UV-C;

Euv ind = pośrednie napromieniowanie UV-C;

Euv diag = bezpośrednie napromieniowanie UV-C z lamp w odległości przekątnej od owoców

$E_{uv\ tot}$ = całkowite napromieniowanie w komorze.

Biorąc pod uwagę czas ekspozycji na promieniowanie UV-C obliczono dawki w następujących przedziałach:

- 4 minuty ekspozycji na promieniowanie UV-C = 1708,8 J/m² lub 1,7 kJ/m²
- 8 minut ekspozycji na promieniowanie UV-C = 3417,6 J/m² lub 3,4 kJ/m²
- 12 minut ekspozycji na promieniowanie UV-C = 5126,4 J/m² lub 5,1 kJ/m²
- 16 minut ekspozycji na promieniowanie UV-C = 6835,2 J/m² lub 6,8 kJ/m²
- 20 minut ekspozycji na promieniowanie UV-C = 8544,0 J/m² lub 8,5 kJ/m²
- 24 minuty ekspozycji na promieniowanie UV-C = 10252,8 J/m² lub 10,3 kJ/m²

Owoce poddane napromieniowaniu składowano w komercyjnych plastikowych pojemnikach do sprzedaży owoców jagodowych o pojemności 250 ml w ilości po 6-8 sztuk, a opakowania te układano w taki sposób, aby owoce zostały równomiernie napromieniowane. Po aplikacji promieniowania UV-C pojemniki zostały zabezpieczone odpowiednimi perforowanymi przykrywkami i przeznaczone do przetrzymywania w symulowanych warunkach sprzedaży.

Symulowane warunki sprzedaży po napromieniowaniu owoców obejmowały temperaturę 24 °C i 70% wzgl. wilgotności powietrza przez okres 4 dni z zachowaniem rytmu 16 godzin oświetlenia i 8 godzin ciemności. W celu wykonania oznaczeń, owoce poddane zostały liofilizacji (liofilizator model ALPHA 1-4 LSC firmy Christ, Niemcy), a następnie całkowitemu rozdrobieniu poprzez mielenie młynkiem wibracyjnym z silnikiem jednofazowym (model LMW-S firmy Testchem, Polska).

Analizy związków biologicznie czynnych wykonano w Zakładzie Technologii Żywności, WR, UTP Bydgoszcz. Oznaczenie występowania grzybów pleśniowych na owocach maliny w latach 2013 i 2014 metodą płytkową wykonali dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk oraz mgr Karol Lisiecki w Katedrze Entomologii i Fitopatologii Molekularnej, WR, UTP Bydgoszcz.

W celu realizacji przedstawionych zadań badawczych przeprowadzono następujące analizy:

1. Pomiaru utraty masy metodą wagową przy użyciu wagi precyzyjnej RADWAG PS600/C/2, które przeprowadzono każdego dnia trwania eksperymentów.

2. Oznaczenie występowania grzybów pleśniowych na owocach maliny w latach 2013 i 2014 metodą płytkową. W celu wykonania posiewu każdy owoc

maliny z dostarczonej próby cięto na 4 kawałki. Następnie skrawki mieszano tak, aby próba miała charakter losowy. Posiewu dokonywano w układzie 6 x 3 – sześć serii w trzech powtórzeniach. Na każdą sterylną płytkę Petriego z pożywką PDA (agar glukozowo-ziemniaczany), zakwaszoną, aby ograniczyć rozwój bakterii, wykładano po 6 kawałków owocu maliny (6 x 6 x 3). Następnie tak przygotowane posiewy inkubowano w temperaturze 25 °C przez 7 dni. Po 7 dniach inkubacji określono liczbę owoców z których wyrosły poszczególne gatunki wzgl. rodzaje kolonii grzybów jako jednostki tworzące kolonie JTK na każdej płytce/szalce. Liczono tylko te kolonie, które wyrastały bezpośrednio z owocu (jego powierzchni) lub jego bezpośredniego sąsiedztwa. W zliczaniu nie brano pod uwagę kolonii z opadu grawitacyjnego czy powstałych w wyniku migrowania larw owadów (*Drosophila* spp.). Jeżeli z jednego owocu wyrastały np. 2 lub więcej kolonii tego samego gatunku to i tak liczono ten owoc jako 1, chyba że w danym posiewie owocu wyrastały różne gatunki to zliczano je oddzielnie. Identyfikację rodzaju grzybów przeprowadzono po minimum 7 dniach inkubacji, a w przypadku trudności w identyfikacji (np. braku spor lub innych charakterystycznych struktur w obrębie kolonii/plechy, jej zabarwienia itp.) grzyby inkubowano przez kolejnych kilka dni lub przenoszono strzępkę niezidentyfikowanego grzyba na szalkę z czystą pożywką PDA i inkubowano w tych samych warunkach. Potem dokonywano obserwacji makroskopowych oraz mikroskopowych. Identyfikację kultur grzybów pleśniowych przeprowadzano na podstawie dostępnych kluczy mikologicznych wg Fassatiova [1983] i Marcinowskiej [2003]. Przy oznaczaniu grzybów obserwowano także rewers i awers szalek, biorąc pod uwagę strukturę i pigmentację grzybni oraz pożywki.

3. Oznaczanie kwasu L-askorbinowego metodą Tillmansa z modyfikacją Pijanowskiego [1964] dodatkowo zmodyfikowaną do oznaczania roztworów intensywnie zabarwionych.

4. Oznaczenie zawartości związków fenolowych ogółem wg Keutgen i Pawelzik [2007 i 2008].

5. Oznaczenie zawartości antocyjanów wg Giusti i Wrolstad [2000] po modyfikacjach wg Keutgen i Pawelzik [2007 i 2008].

6. Oznaczenie pojemności antyoksydacyjnej (FRAP) wg Keutgen i Pawelzik [2007 i 2008].

7. Oznaczenie zawartości kwasu chlorogenowego wg Griffiths i in. [1992].

8. Oznaczenie cukrów prostych wg Talburt i Smith [1987].

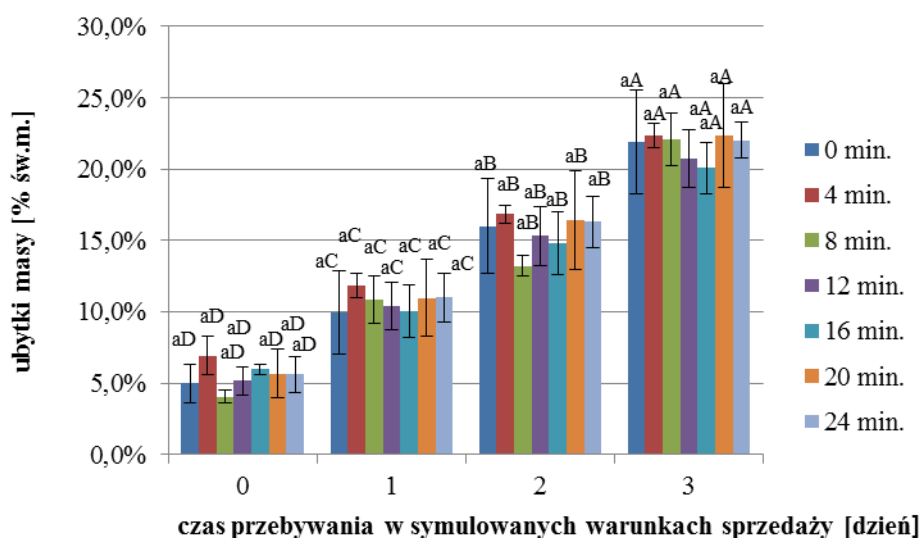
Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą metody dwuczynnikowej analizy wariancji przy użyciu programu ANAL WAR-5.3. FR.

Różnice pomiędzy średnimi obiektowymi poddano ocenie testem Tukey'a przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

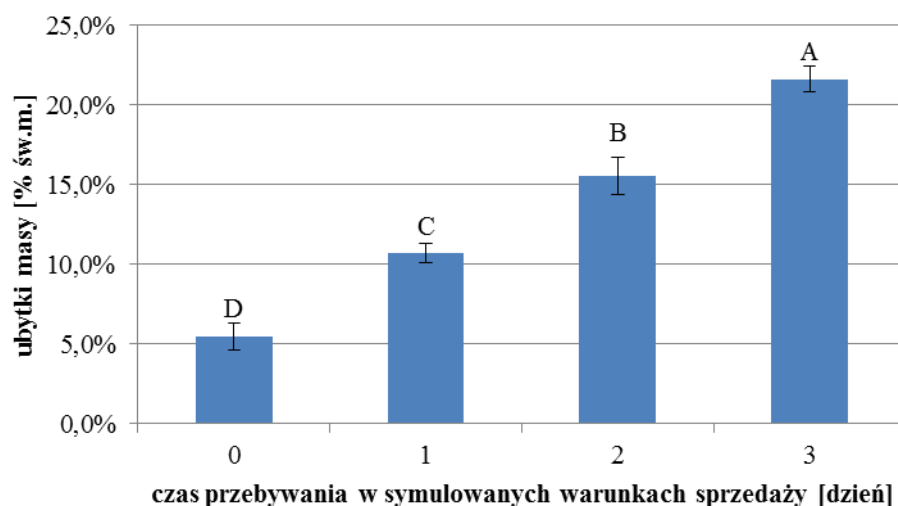
4. WYNIKI

4.1 WPLYW PROMIENIOWANIA UV-C I SYMULOWANYCH WARUNKÓW SPRZEDAŻY NA UBYTKI MASY

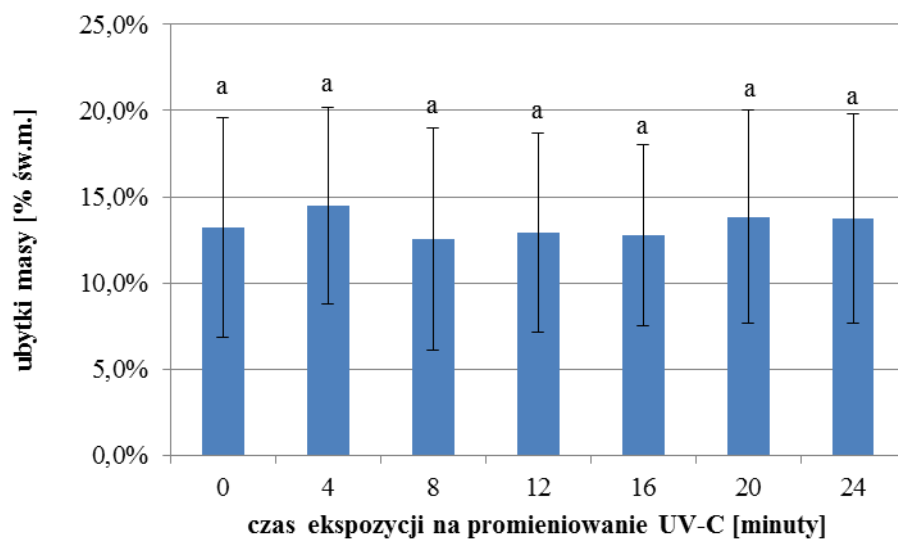
Przeprowadzone badania nie wykazały wpływu promieniowania UV-C niezależnie od czasu jego trwania, natomiast istotne znaczenie wykazywał czas przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 3-5, Zał. 1). Najwyższe ubytki masy stwierdzono 4. dnia po napromieniowaniu, najniższe w dniu stosowania napromieniowania. Między każdym z kolejnych dni różnice były istotne statystycznie (Ryc. 4). Nie stwierdzono interakcji między promieniowaniem UV-C a symulowanymi warunkami sprzedaży w przypadku ubytku masy u owoców malin.



Ryc. 3 Ubytki masy owoców maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=0,025; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=8 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



Ryc. 4 Ubytki masy owoców malin podczas przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży, niezależnie od zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=0,025; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n=56$

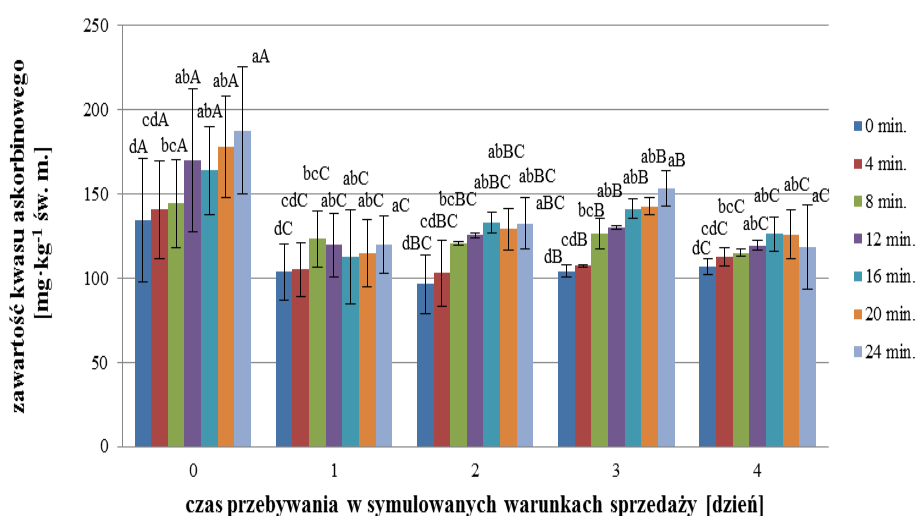


Ryc. 5 Ubytki masy owoców maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=0,025; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n=32$

W celu potwierdzenia uzyskanych wyników wykonano dalsze doświadczenie w roku 2014, porównując wybrane poziomy czynników z lat 2012 i 2013. Również i w tych badaniach wykazano brak wpływu promieniowania UV-C na ubytki masy owoców, a istotne statystycznie znaczenie miał tylko czas przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży (Załącznik 2). Straty masy były istotnie niższe bezpośrednio po napromieniowaniu niż w dniu następnym. Jak i w latach poprzednich, tak i w 2014 nie stwierdzono dla ubytków masy występowania interakcji między czynnikami doświadczenia.

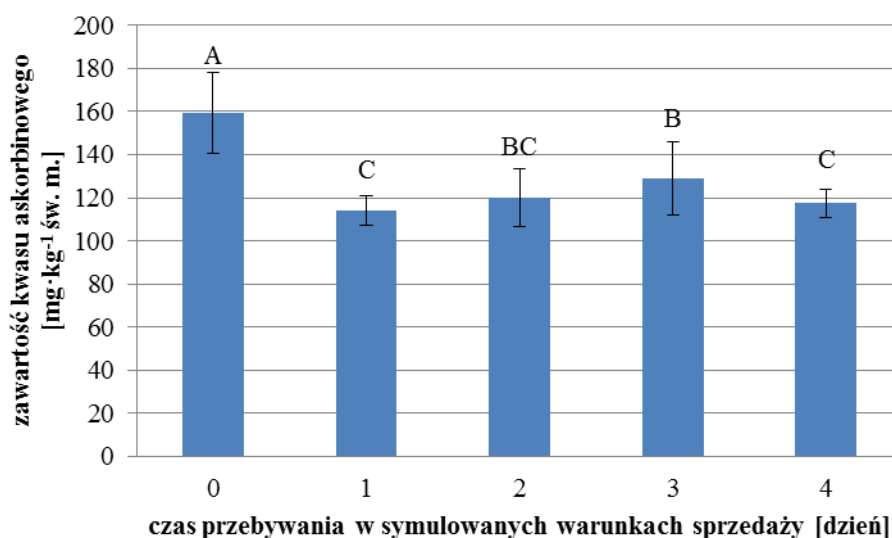
4.2. WPŁYW PROMIENIOWANIA UV-C I SYMULOWANYCH WARUNKÓW SPRZEDAŻY NA ZAWARTOŚĆ KWASU ASKORBINOWEGO

Przeprowadzone badania wykazały statystycznie istotny wpływ promieniowania UV-C jak również czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na zawartość kwasu askorbinowego (Ryc. 6-8, Załącznik 3).

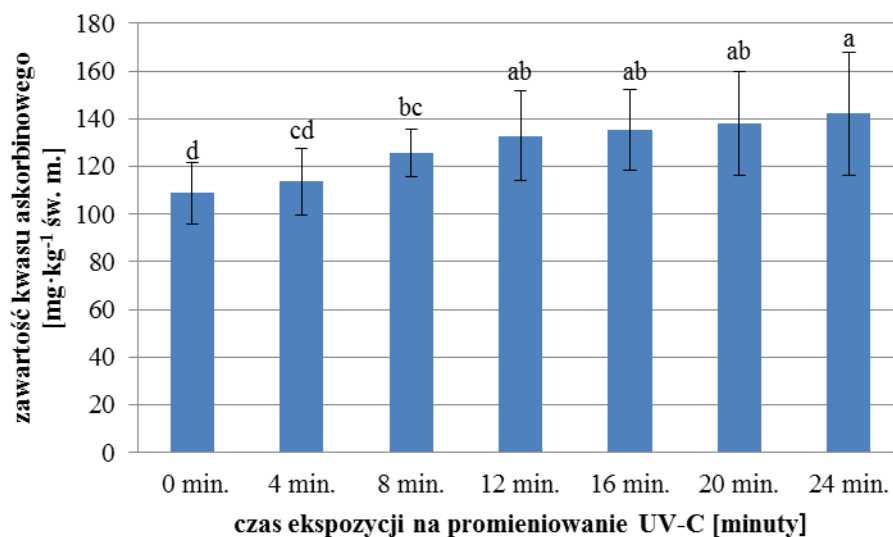


Ryc. 6 Zawartość kwasu askorbinowego w owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=1,033; B=1,322; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n=8$ (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)

Niezależnie od zastosowanej dawki promieniowania istotnie najwyższą zawartość kwasu askorbinowego stwierdzono w dniu jego aplikacji (Ryc. 6). Ponadto odnotowano wzrost zawartości kwasu askorbinowego trzeciego dnia w porównaniu do pierwszego i ostatniego dnia trwania symulowanych warunków sprzedaży (Ryc. 7).



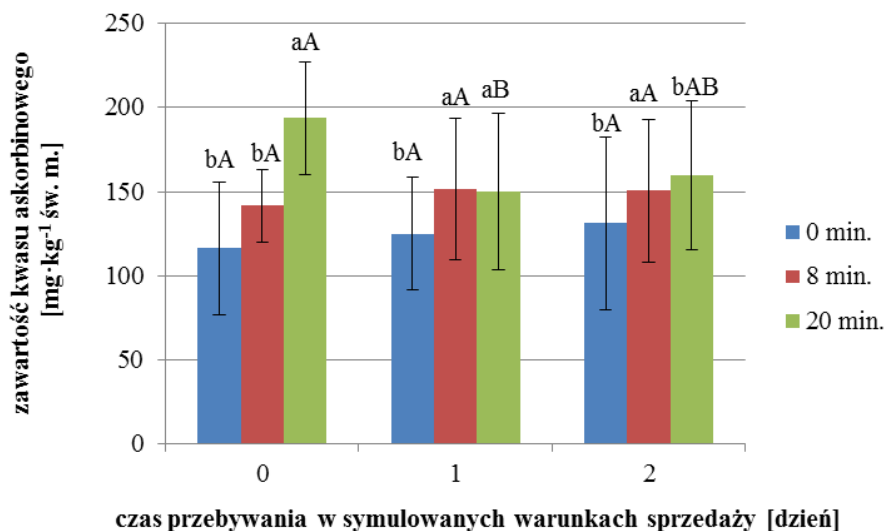
Ryc. 7 Zmiany zawartości kwasu askorbinowego w owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży niezależnie od zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=1,033; B=1,322; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=27



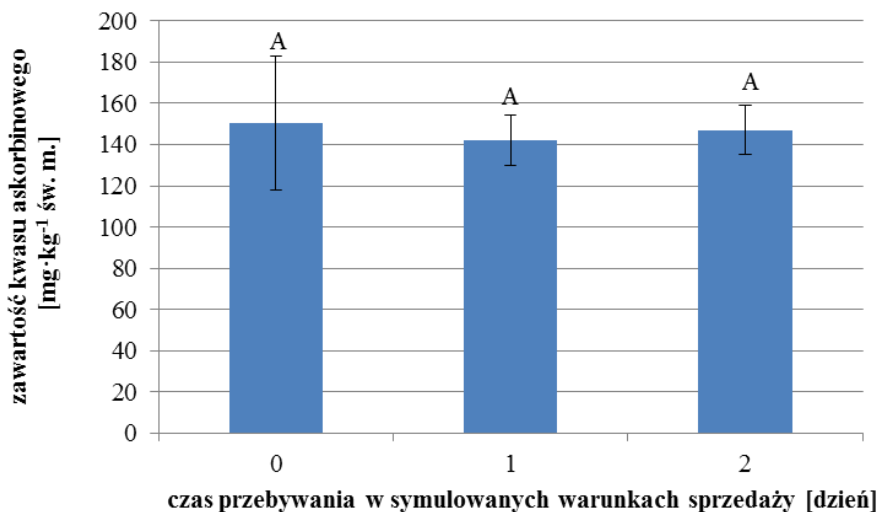
Ryc. 8 Zawartość kwasu askorbinowego pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=1,033; B=1,322; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=27

W przypadku zastosowania promieniowania UV-C stwierdzono wzrost zawartości kwasu askorbinowego w owocach maliny wraz z czasem trwania aplikacji, niezależnie od czasu trwania warunków sprzedaży (Ryc. 8). Nie stwierdzono występowania istotnej statystycznie interakcji obu czynników (dane niepublikowane).

W celu uzyskania potwierdzenia wyników w roku 2014 wykonano dodatkowe doświadczenie porównując wybrane poziomy czynnika z lat 2012, 2013 i 2014. Badania te potwierdziły istotny wpływ dawki promieniowania UV-C na zawartość kwasu askorbinowego, jednak nie wykazano wpływu czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 9-11, Zał. 4). Występowanie interakcji pomiędzy czynnikami doświadczenia zostało potwierdzone statystycznie. Działanie poszczególnych dawek promieniowania UV-C nie różniło się w kolejnych dniach po aplikacji z wyjątkiem dawki 8 minut w dniu aplikacji promieniowania UV-C oraz dawki 20 minut w drugim dniu, które przyniosły istotnie niższy niż w innych dniach wzrost zawartości kwasu askorbinowego (Ryc. 9).

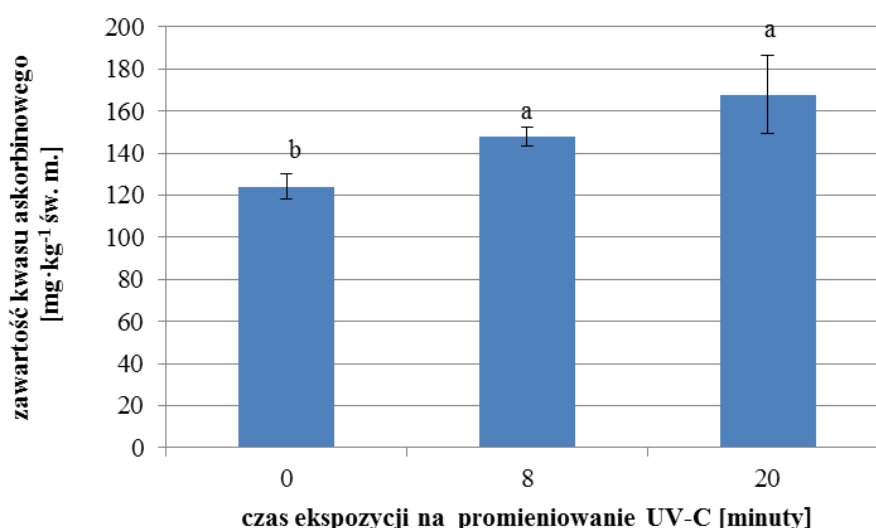


Ryc. 9 Zawartość kwasu askorbinowego w owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=n.i.; B=2,002; B/A=3,468; A/B=3,468; $p \leq 0,005$; n=9 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



Ryc. 10 Zawartość kwasu askorbinowego w owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży niezależnie od zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=n.i.; B=2,002; B/A=3,468; A/B=3,468; $p \leq 0,005$; n=27

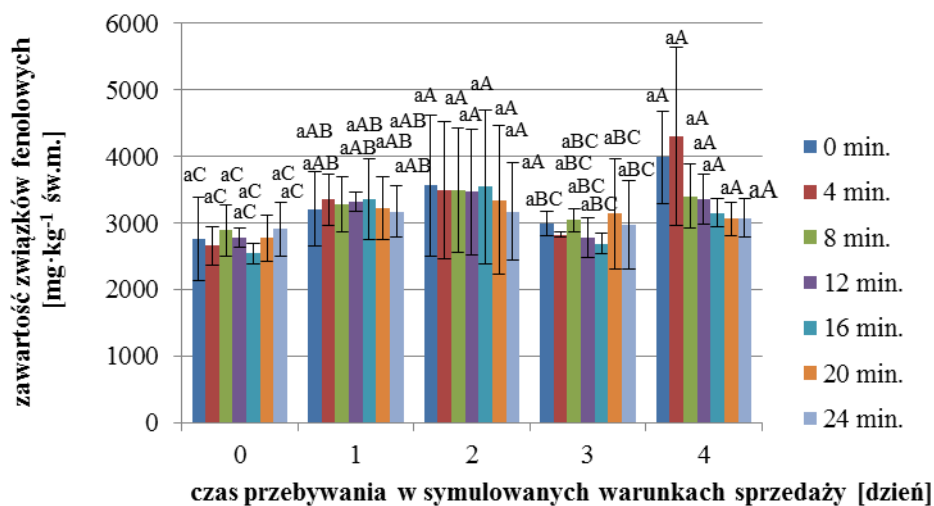
Po zastosowaniu promieniowania UV-C trwającego 8 oraz 20 min. uzyskano istotnie wyższą zawartość kwasu askorbinowego niż w próbie kontrolnej (Ryc. 11).



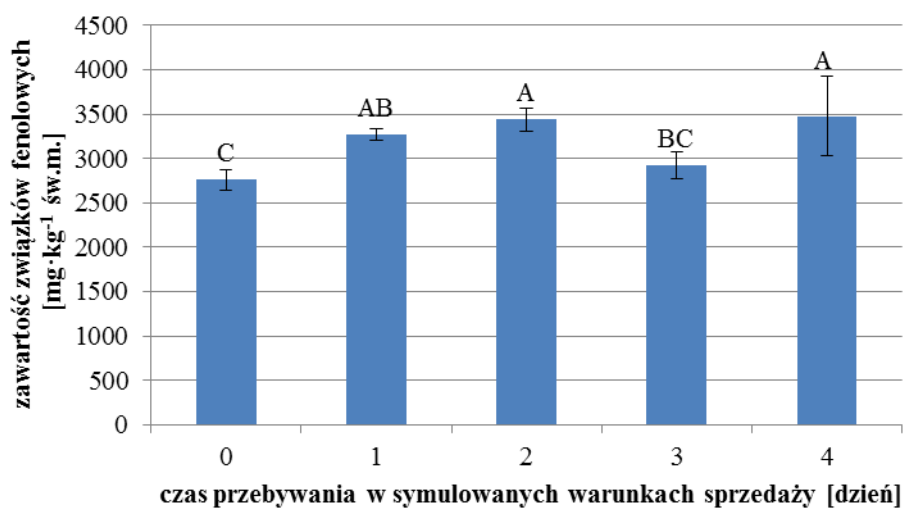
Ryc. 11 Zawartość kwasu askorbinowego w owocach maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014 NIR (test Tukey'a): A=n.i.; B=2,002; B/A=3,468; A/B=3,468; $p \leq 0,005$; $n=27$

4.3. WPLYW PROMIENIOWANIA UV-C I SYMULOWANYCH WARUNKÓW SPRZEDAŻY NA ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH OGÓLEM

Na zawartość związków fenolowych ogółem nie stwierdzono wpływu promieniowania UV-C, natomiast wpływ czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 12, Zał. 5). Istotnie najwyższą zawartość związków fenolowych ogółem odnotowano drugiego oraz czwartego dnia po napromieniowaniu (Ryc. 13). Nie udowodniono natomiast zależności pomiędzy działaniem promieniowania UV-C a czasem trwania symulowanych warunków sprzedaży (Ryc. 14).

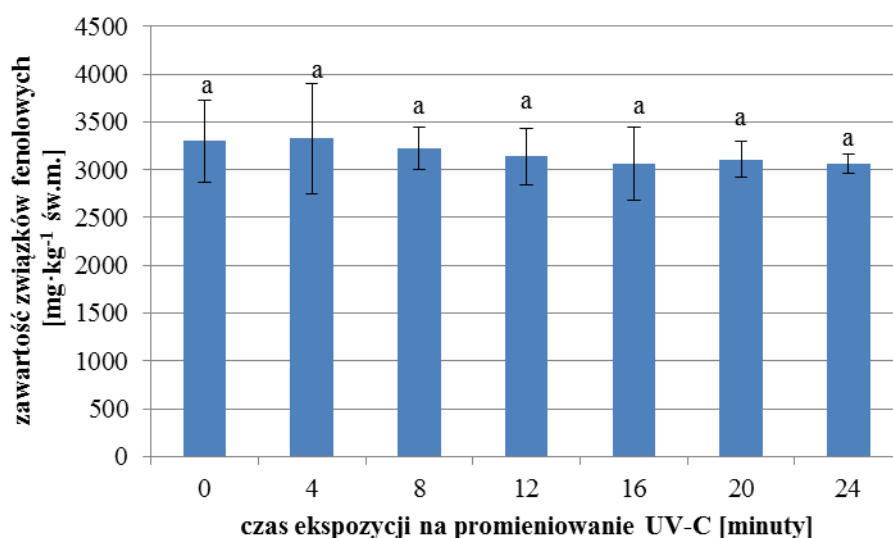


Ryc. 12 Zawartość związków fenolowych ogółem w owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem zróżnicowanego promieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=41,977; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=8 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży).



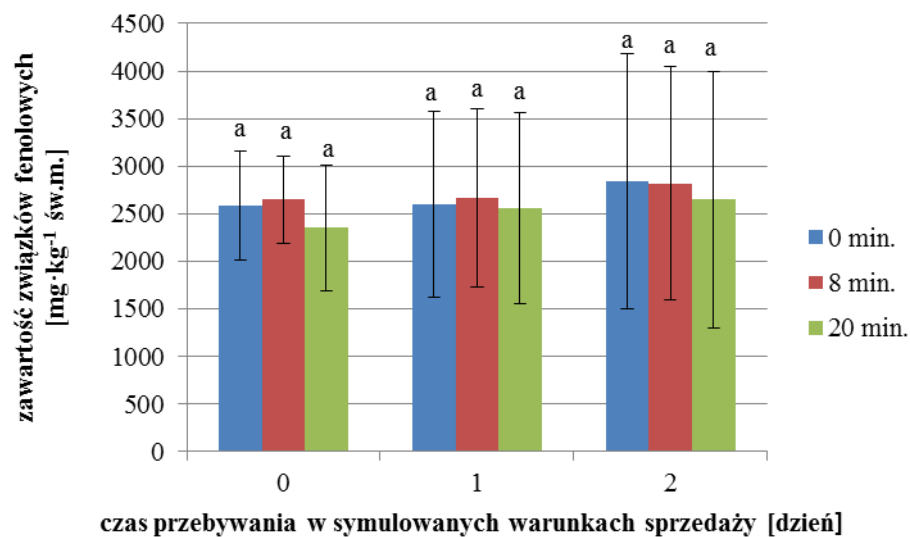
Ryc. 13 Zawartość związków fenolowych ogółem w owocach malin w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży niezależnie od zastosowanego czasu

napromieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=41,977; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=56

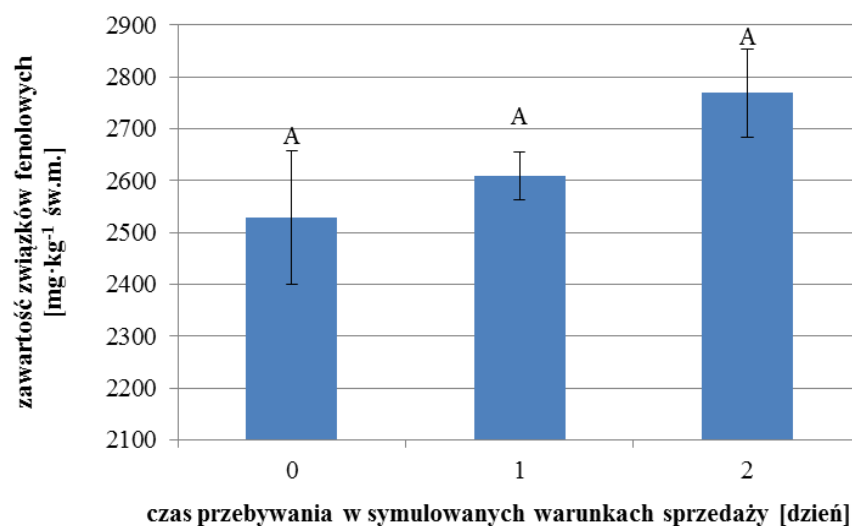


Ryc. 14 Zawartość związków fenolowych ogółem pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=41,977; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=40

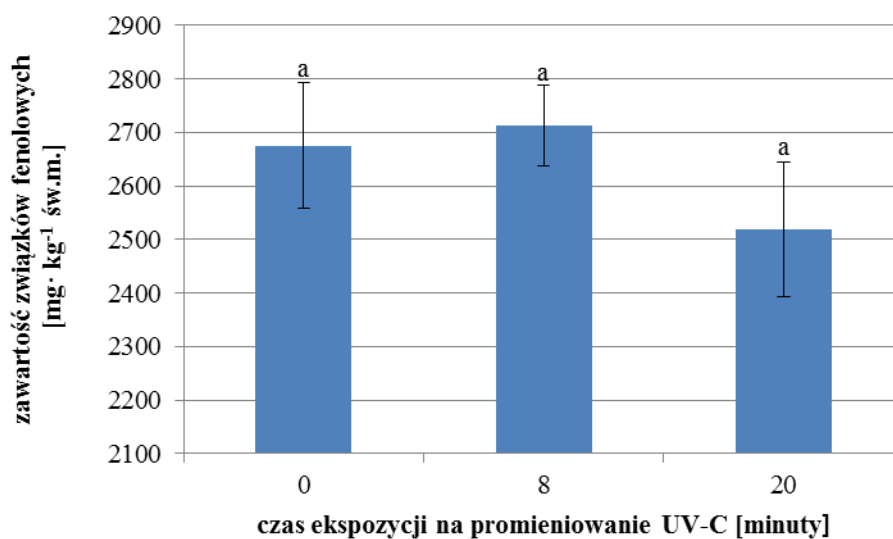
W celu potwierdzenia wyników wykonano doświadczenie w roku 2014 porównując wybrane poziomy czynniki z lat 2012, 2013 i 2014. W badaniach tych nie wykazano wpływu promieniowania UV-C jak również czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na zawartość związków fenolowych ogółem (Zał. 6, Ryc. 15-17).



Ryc. 15 Zawartość związków fenolowych w owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2014.. NIR (test Tukey'a): A=n.i.; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=9 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



Ryc. 16 Zawartość związków fenolowych w owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży niezależnie od zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=n.i.; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=27

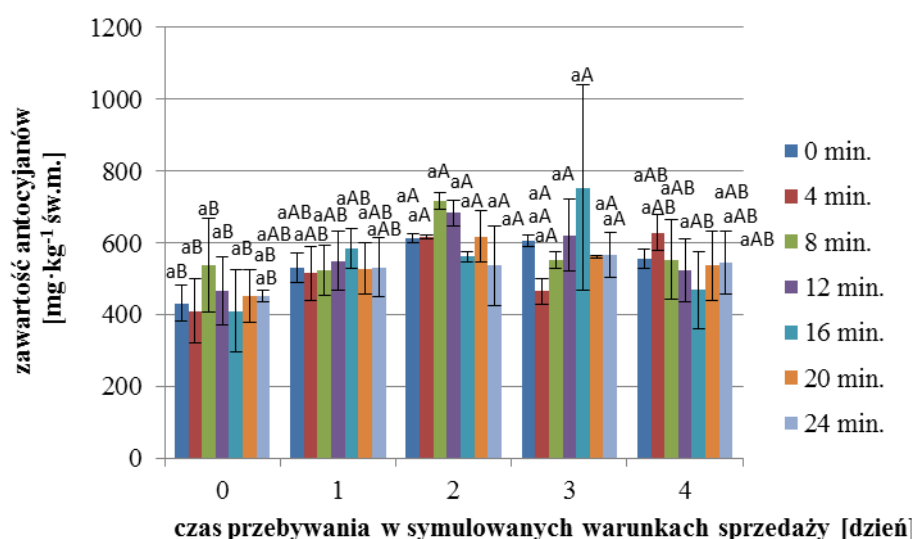


Ryc. 17 Zawartość związków fenolowych owocach maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=n.i.; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=27

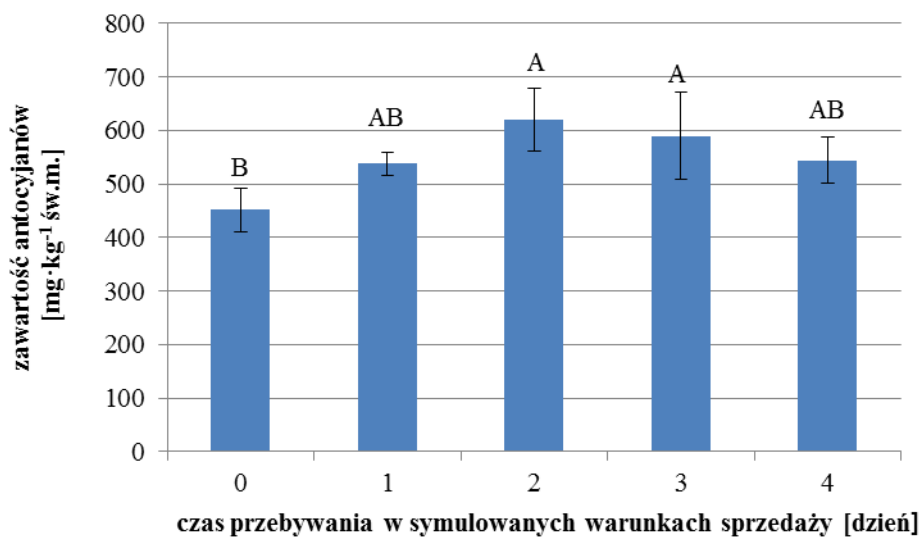
4.4. WPLYW PROMIENIOWANIA UV-C I SYMULOWANYCH WARUNKÓW SPRZEDAŻY NA ZAWARTOŚĆ ANTOCYJANÓW

W niniejszych doświadczeniach nie udowodniono wpływu promieniowania UV-C na stężenie antocyjanów w owocach maliny, istotny wpływ wykazał natomiast czas trwania symulowanych warunków sprzedaży (Ryc. 15-17, Zał. 7). Nie stwierdzono również występowania interakcji pomiędzy badanymi czynnikami (Zał. 7).

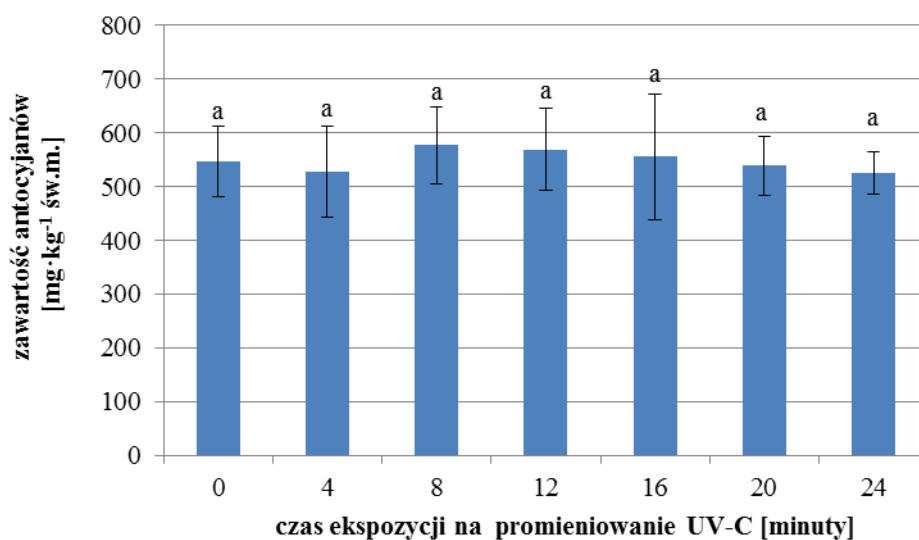
Niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży najwyższą zawartość antocyjanów odnotowano drugiego oraz trzeciego dnia w porównaniu do wartości uzyskanej bezpośrednio po napromieniowaniu (Ryc. 16).



Ryc. 15 Zawartość antocyjanów w owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=11,928; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=8 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)

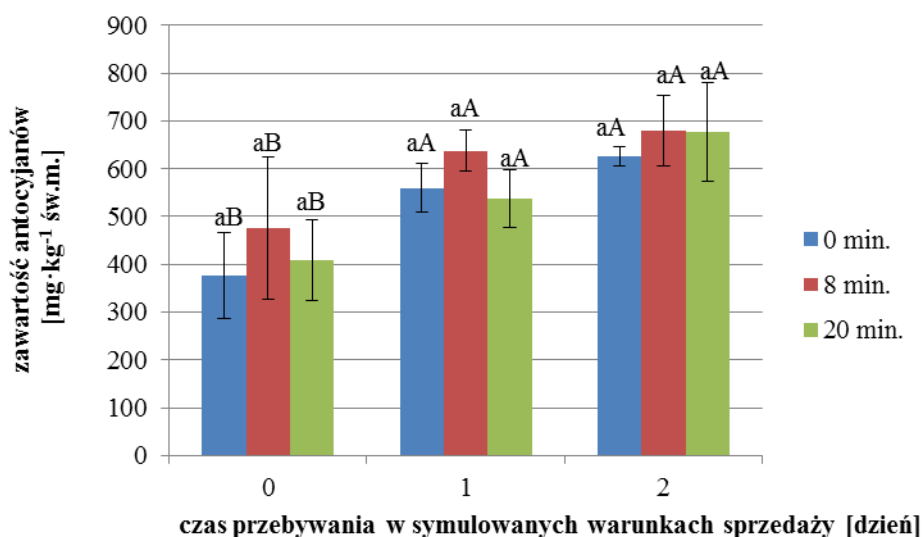


Ryc. 16 Zawartość antocyjanów w owocach malin w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=11,928; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=56



Ryc. 17 Zawartość antocyjanów pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=11,928, B=n.i., B/A=n.i., A/B=n.i., n=40

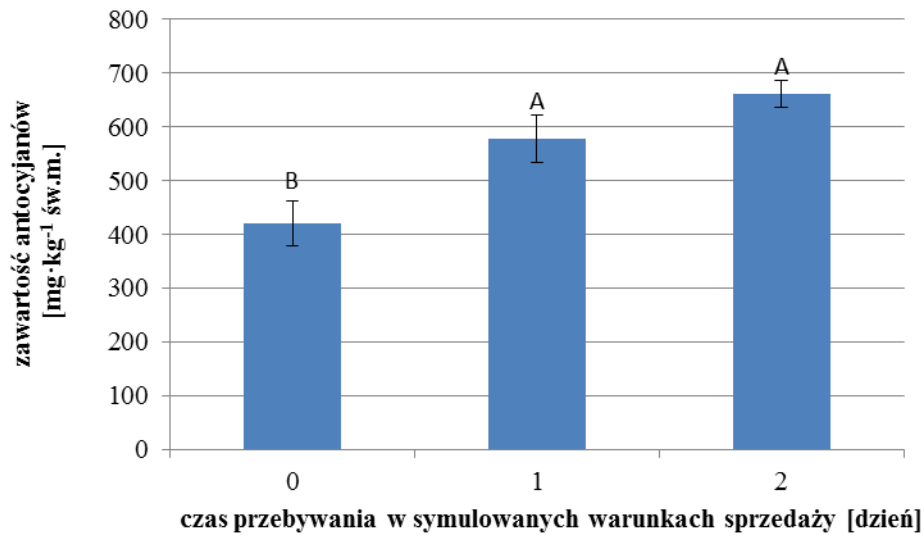
W celu potwierdzenia otrzymanych wyników przeprowadzono doświadczenia w roku 2014, porównując wybrane poziomy czynników z lat 2012, 2013 i 2014.



Ryc. 18 Zawartość antocyjanów w owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=11,258; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=8 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)

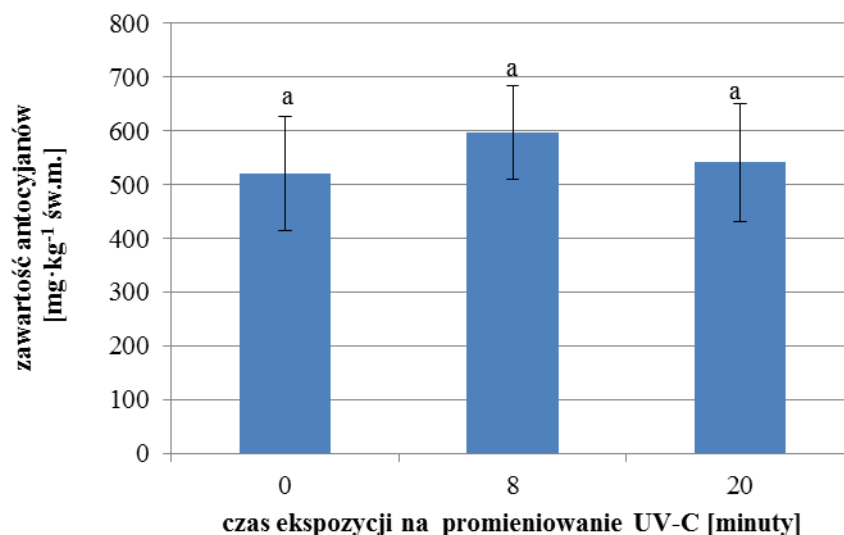
Przeprowadzone badania potwierdziły badania z poprzednich lat. Czas przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży istotnie wpływał na zawartość antocyjanów (Ryc. 18, Zał. 8). Nie stwierdzono interakcji pomiędzy promieniowaniem UV-C a okresem przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży dla zawartości antocyjanów w owocach maliny (Zał. 8).

Rozpatrując wpływ czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży stwierdzono istotny wzrost zawartości antocyjanów po upływie pierwszej doby przetrzymywania owoców (Ryc. 19).



Ryc. 19 Zawartość antocyjanów w owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=11,258; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=27

W przypadku wpływu promieniowania UV-C z pominięciem czasu trwania warunków sprzedaży na zawartość antocyjanów nie stwierdzono statystycznego wpływu na zawartość antocyjanów w owocach malin (Ryc. 20).

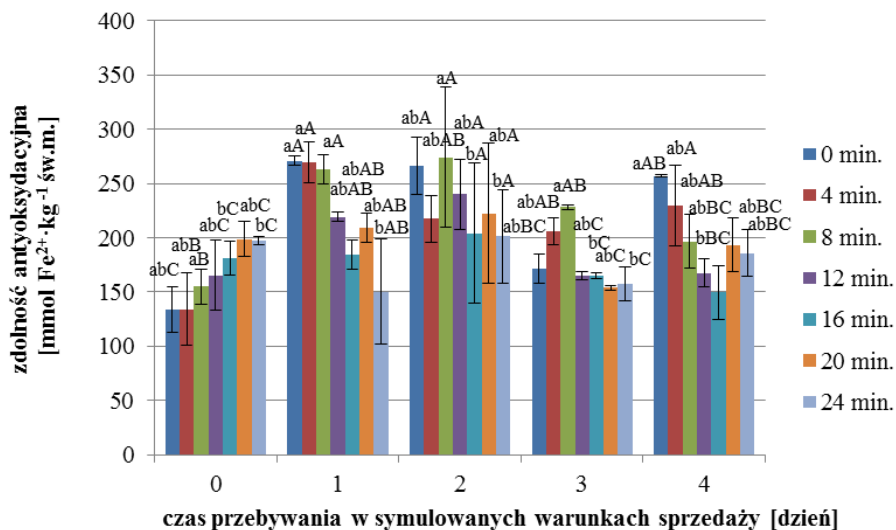


Ryc. 20 Zawartość antocyjanów w owocach maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=11,258; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=27

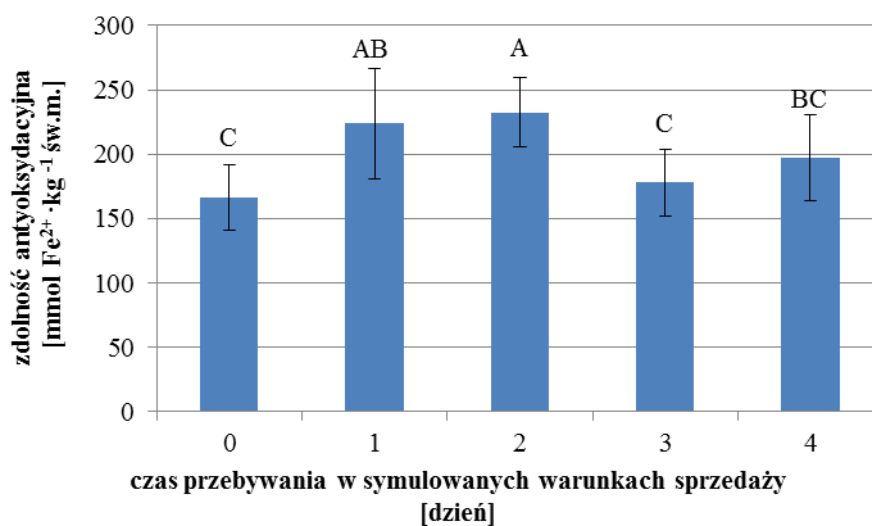
4.5. WPLYW PROMIENIOWANIA UV-C ORAZ SYMULOWANYCH WARUNKÓW SPRZEDAŻY NA ZDOLNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNĄ WYRAŻONĄ JAK FRAP (FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER).

Przeprowadzone badania wykazały istotny wpływ czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na zdolność antyoksydacyjną mierzoną jako FRAP (Ryc. 21 i 22, Zał. 9). Ponadto stwierdzono istotne różnice między dawkami promieniowania UV-C jak również występowanie interakcji pomiędzy badanymi czynnikami (Ryc. 23, Zał. 9).

Pierwszego dnia po napromieniowaniu najwyższą wartość FRAP stwierdzono w próbie kontrolnej bez napromieniowania, która różniła się istotnie tylko od dawki 24 min. Natomiast czwartego dnia po aplikacji promieniowania UV-C stwierdzono istotne różnice pomiędzy dawką 16 minut oraz próbą kontrolną, której wartość zdolności antyoksydacyjnej była najwyższa. W owocach poddanych działaniu promieniowania UV-C w dawce 4 oraz 8 min., a także w próbie kontrolnej, najniższą wartość zdolności antyoksydacyjnej zmierzono w dniu ich zbioru z pola. (Ryc. 21).

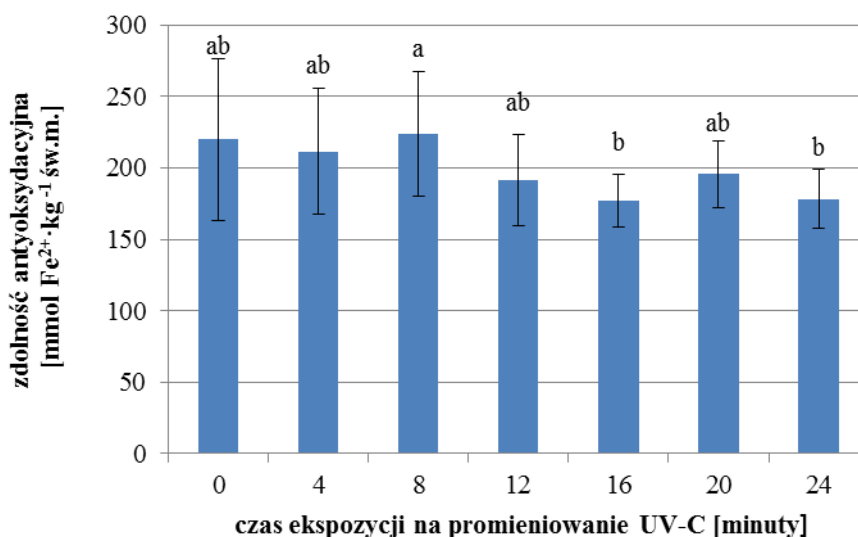


Ryc. 21 Zdolność antyoksydacyjna FRAP owoców maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=3,435; B=4,393; B/A=9,823; A/B=9,088; n=8 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



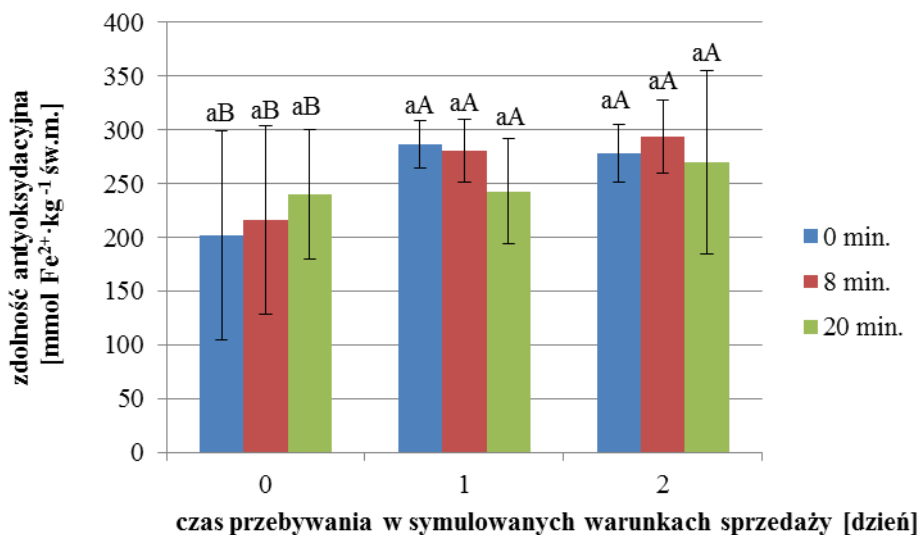
Ryc. 22 Zdolność antyoksydacyjna FRAP owoców maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=3,435; B=4,393; B/A= 9,823; A/B=9,088; n=56

Rozpatrując wpływ czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży bez uwzględnienia dawki napromieniowania stwierdzono najwyższą wartość zdolności antyoksydacyjnej FRAP 2. dnia po napromieniowaniu (Ryc. 22). W przypadku działania promieniowania UV-C najwyższą jej wartość uzyskano po aplikacji promieniowania w dawce 8 minut, która była istotnie wyższa w stosunku do 16 i 24 min. jego aplikacji (Ryc. 23).

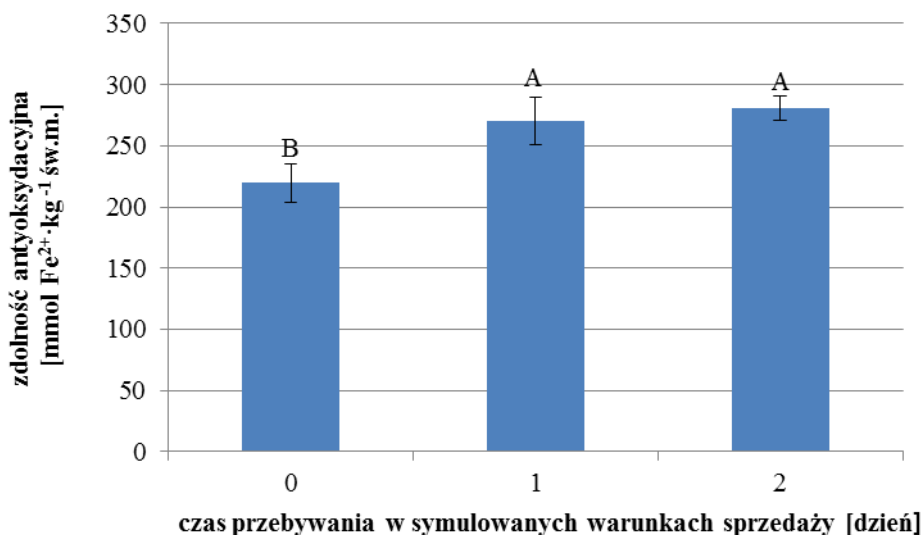


Ryc. 23 Zdolność antyoksydacyjna FRAP owoców maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=3,435; B= 4,393; B/A= 9,823; A/B=9,088; n=40

Aby uzyskać potwierdzenie uzyskanych wyników w roku 2014 przeprowadzono dalsze doświadczenia porównując wybrane poziomy czynniki z lat 2012, 2013 i 2014. Badania te potwierdziły istotny wpływ czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na zdolność antyoksydacyjną, nie potwierdzono natomiast wpływu promieniowania UV-C (Ryc. 24-26, Zał. 10).



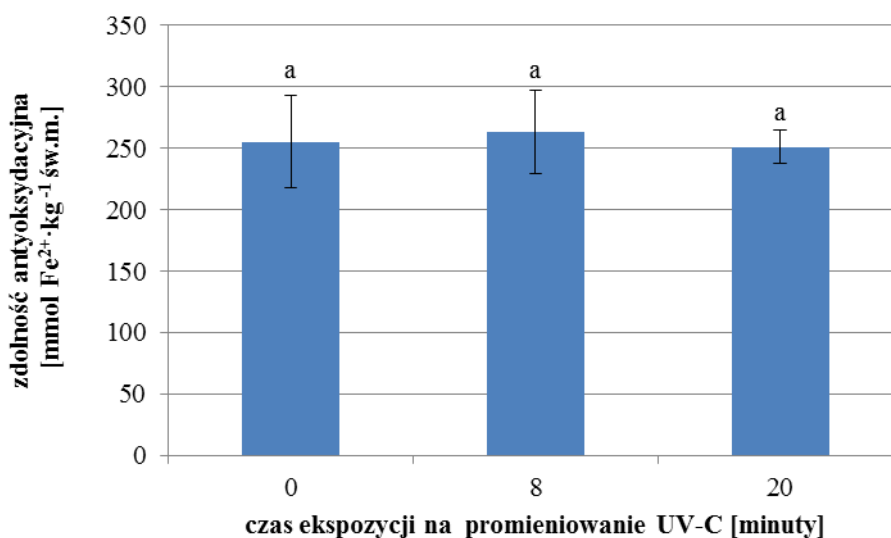
Ryc. 24 Zdolność antyoksydacyjna FRAP owoców maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=4,639; B= n.i.; B/A= n.i.; A/B= n.i.; n=9 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



Ryc. 25 Zdolność antyoksydacyjna FRAP owoców maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu

napromieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=4,639; B= n.i.; B/A= n.i.; A/B= n.i.; n=27

Podczas trwania warunków sprzedaży stwierdzono wzrost zdolności antyoksydacyjnej FRAP wraz z czasem przetrzymywania owoców (Ryc. 25). Nie stwierdzono natomiast bezpośredniego wpływu wysokości aplikowanej dawki promieniowania UV-C na jej wartość (Ryc. 26).

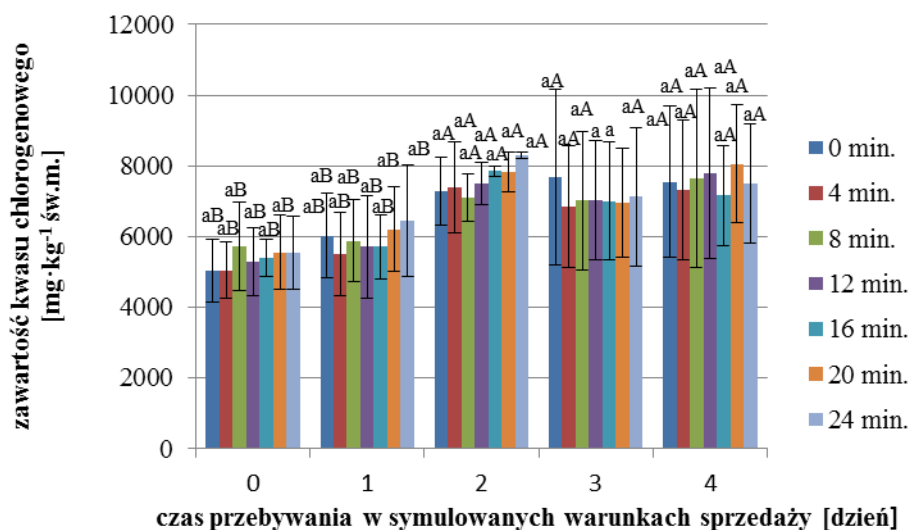


Ryc. 26 Zdolność antyoksydacyjna FRAP owoców maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=4,639; B= n.i.; B/A= n.i.; A/B= n.i.; n=27

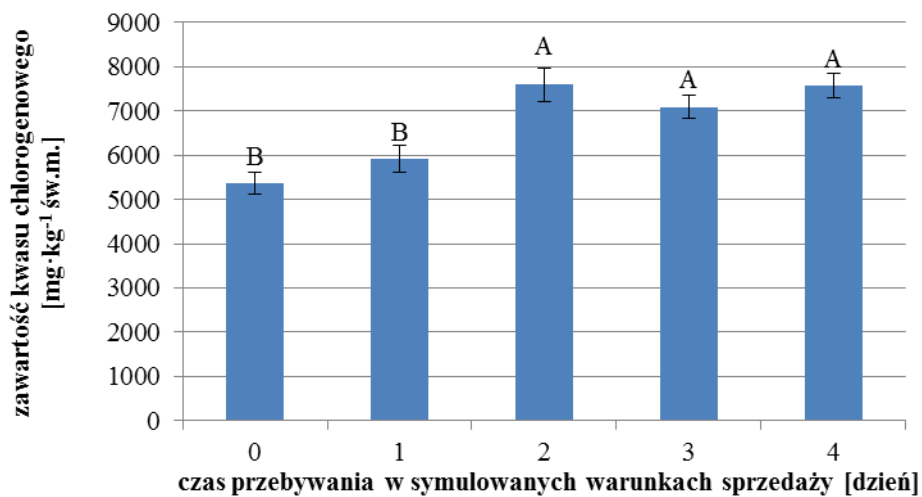
4.6. WPLYW PROMIENIOWANIA UV-C I SYMULOWANYCH WARUNKÓW SPRZEDAŻY NA ZAWARTOŚĆ KWASU CHLOROGENOWEGO

W wyniku przeprowadzonej analizy udowodniono istotny wpływ czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na zawartość kwasu chlorogenowego w owocach maliny. Nie stwierdzono natomiast wpływu promieniowania UV-C na jego poziom (Ryc. 27-29, Zał. 11). Zawartość kwasu

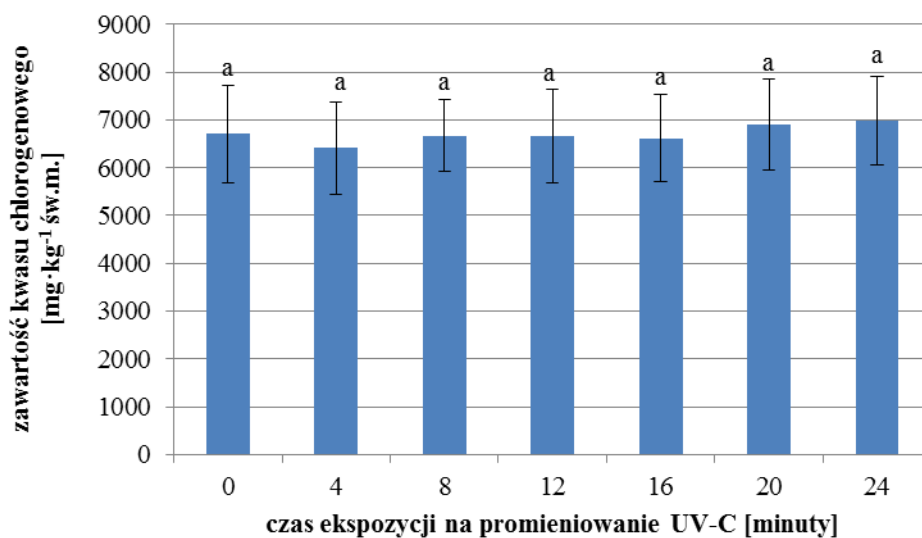
chlorogenowego w drugim, trzecim i czwartym dniu po napromieniowaniu była istotnie wyższa niż w dniach je poprzedzających (Ryc. 27 i 28).



Ryc. 27 Zawartość kwasu chlorogenowego w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=97,741; B= n.i.; B/A= n.i.; A/B=n.i.; n=8 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



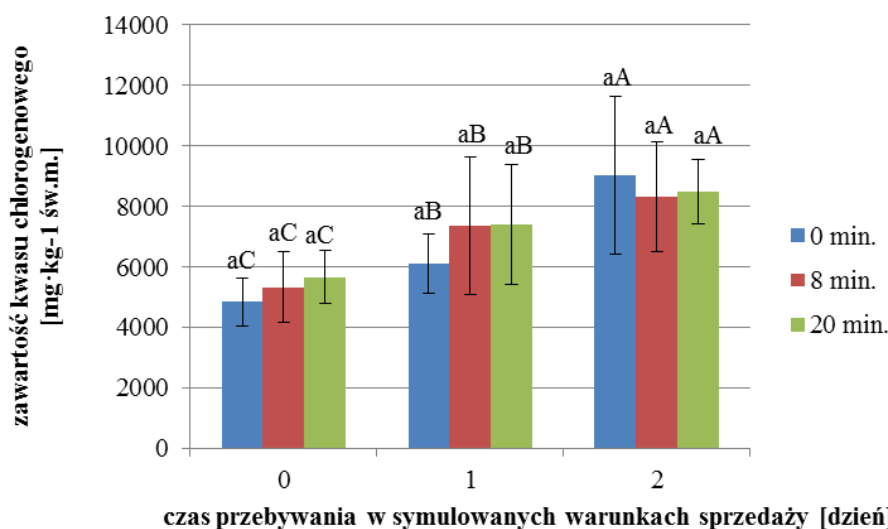
Ryc. 28 Zawartość kwasu chlorogenowego w owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=97,741; B= n.i.; B/A= n.i.; A/B=n.i.; n=56



Ryc. 29 Zawartość kwasu chlorogenowego w owocach maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków

sprzedaży w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=97,741; B= n.i.; B/A= n.i.; A/B=n.i.; n=40

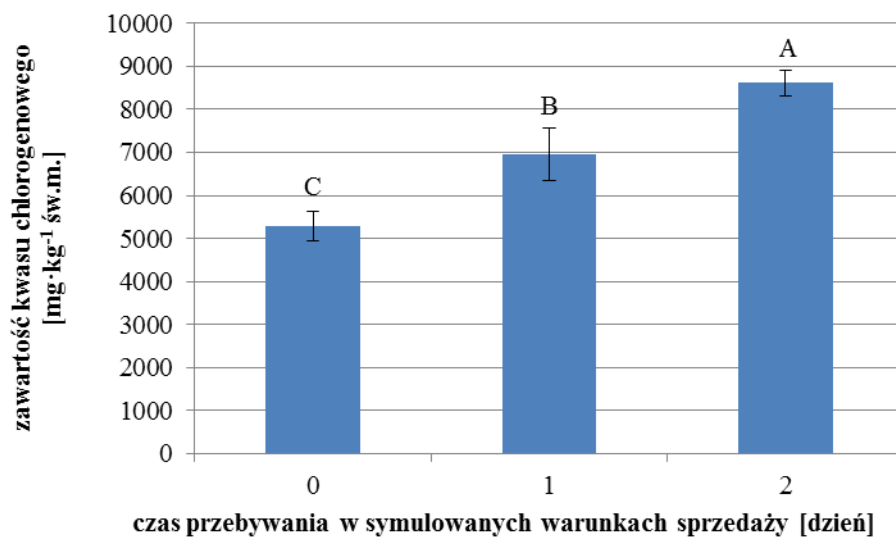
Ponadto nie udowodniono wpływu promieniowania UV-C na zawartość kwasu chlorogenowego w owocach maliny (Ryc. 29).



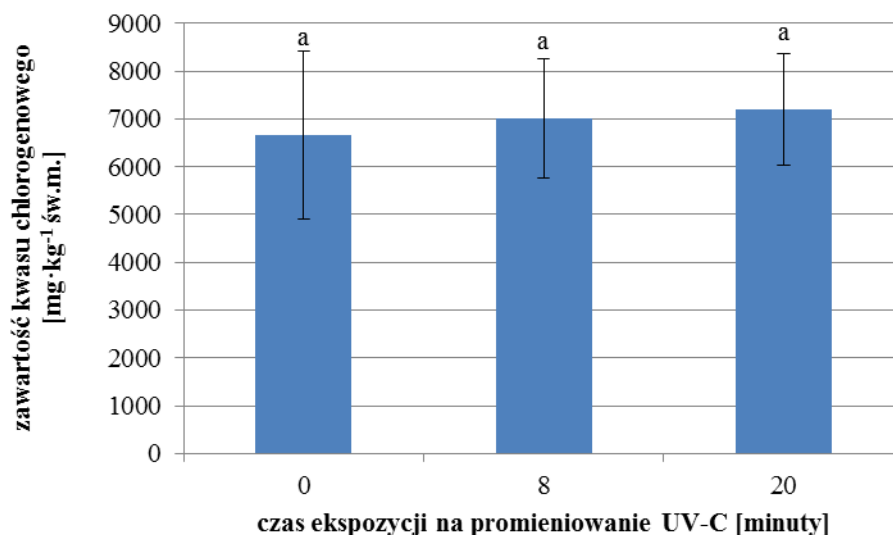
Ryc. 30 Zawartość kwasu chlorogenowego w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=99,747; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=9 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)

W celu potwierdzenia wyników przeprowadzono dalsze doświadczenia w roku 2014, porównując wybrane poziomy czynniki z lat 2012, 2013 i 2014. Badania te potwierdziły wpływ czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na zawartość kwasu chlorogenowego. (Ryc. 30, Zał. 10).

Najwyższą zawartość kwasu chlorogenowego stwierdzono drugiego dnia po napromieniowaniu i była ona istotnie wyższa niż w dniu aplikacji promieniowania UV-C (Ryc. 31).



Ryc. 31 Zawartość kwasu chlorogenowego pod wpływem przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży, owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=99,747; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=27

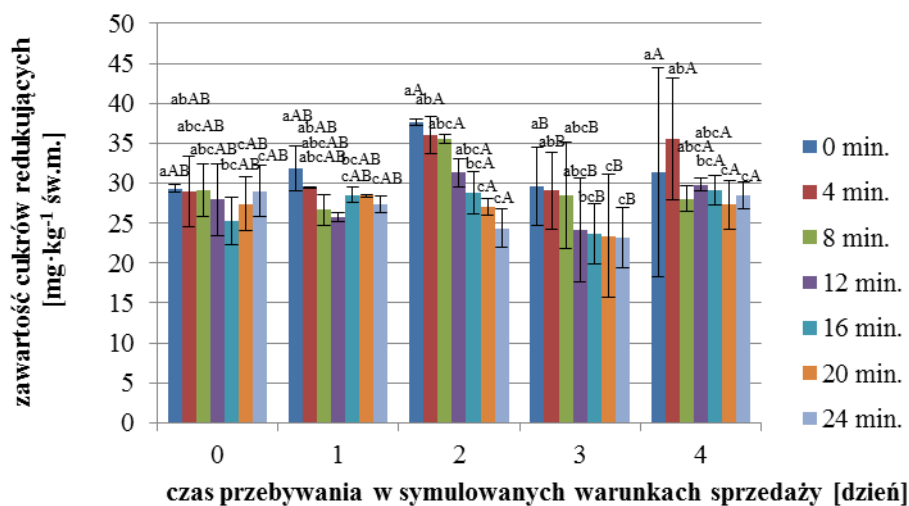


Ryc. 32 Zawartość kwasu chlorogenowego pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=99,747; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=27

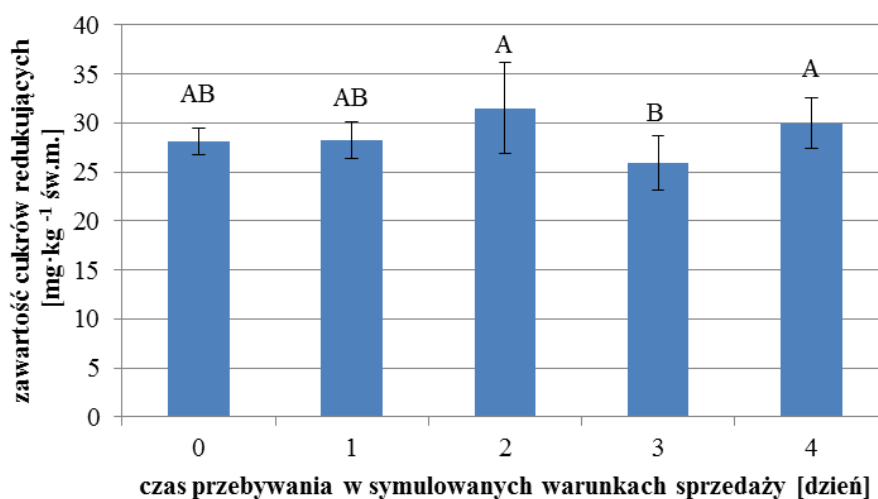
4.7 WPŁYW PROMIENIOWANIA UV-C I SYMULOWANYCH WARUNKÓW SPRZEDAŻY NA ZAWARTOŚĆ CUKRÓW REDUKUJĄCYCH

Przeprowadzone doświadczenia wykazały istotny wpływ promieniowania UV-C jak również czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na zawartość cukrów redukujących (Ryc. 33, Zał. 13). Nie zaobserwowano występowania interakcji między czynnikami doświadczenia (Zał. 13).

Zawartość cukrów redukujących w owocach maliny była najwyższa w drugim i czwartym dniu przetrzymywania owoców w symulowanych warunkach sprzedaży i różniła się istotnie od zawartości w trzecim dniu niezależnie od wielkości zastosowanej dawki promieniowania UV-C (Ryc. 34).



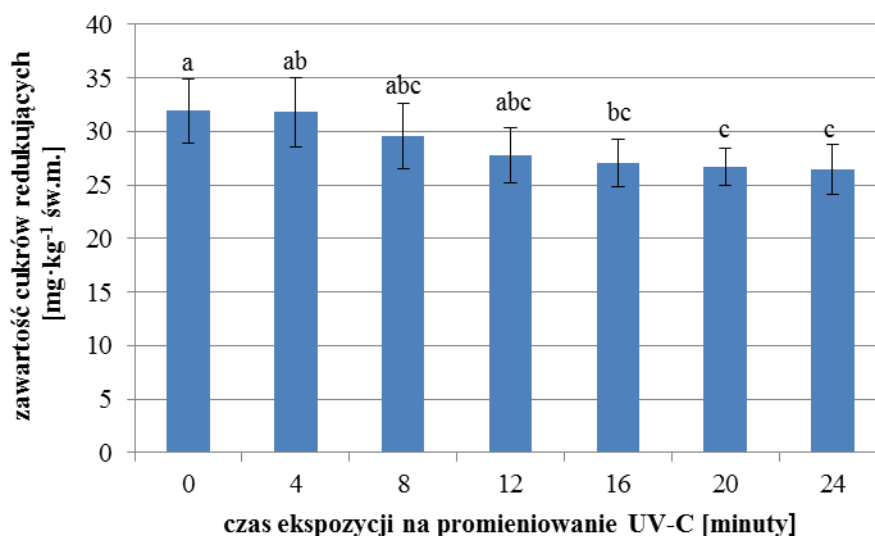
Ryc. 33 Zawartość cukrów redukujących w owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=0,381; B=0,487; B/A= n.i.; A/B=n.i.; n=8 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



Ryc. 34 Zawartość cukrów redukujących W owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu

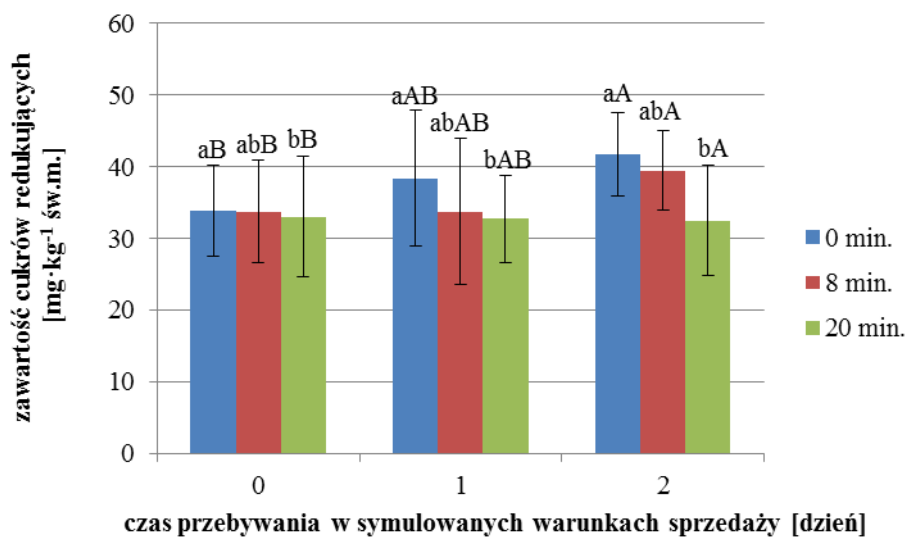
napromieniowania UV-C w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=0,381; B=0,487; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=56

Najwyższą zawartość cukrów redukujących odnotowano w próbach kontrolnych bez napromieniowania oraz po 4 minutowej aplikacji UV-C w porównaniu do aplikacji napromieniowania trwającego od 16 do 24 minut (Ryc. 35).



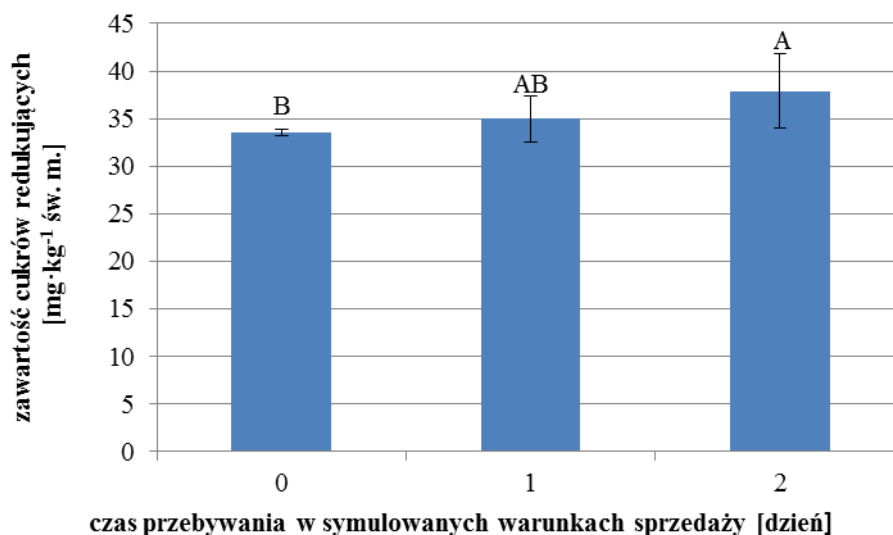
Ryc. 35 Zawartość cukrów redukujących w owocach maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. NIR (test Tukey'a): A=0,381; B=0,487; B/A= n.i.; A/B=n.i.; n=40

Aby uzyskać potwierdzenie wyników wykonano kolejne badania w roku 2014 porównując wybrane poziomy czynniki z lat 2012, 2013 i 2014. W badaniach tych potwierdzono istotność wpływu promieniowania UV-C jak również czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na zawartość cukrów redukujących w owocach maliny. Nie stwierdzono natomiast występowania istotnej statystycznie interakcji obu czynników (Ryc. 36, Zał. 14).

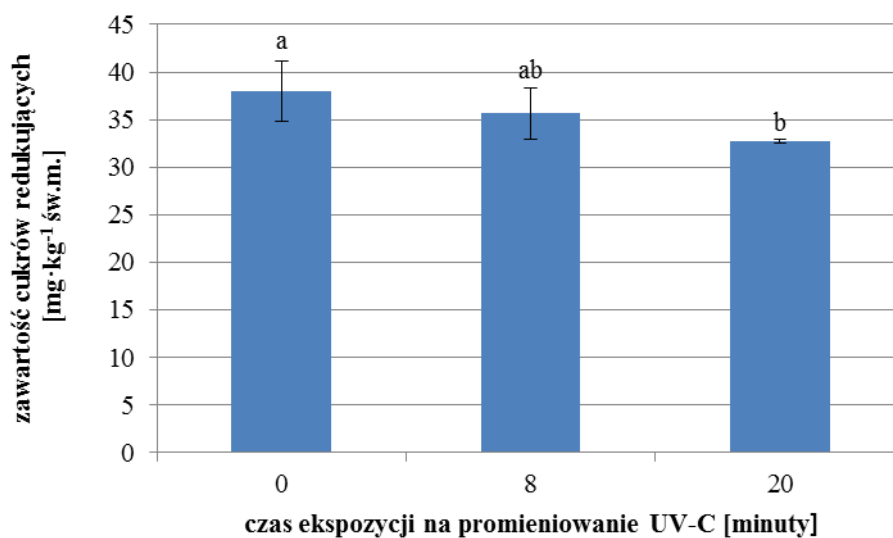


Ryc. 36 Zawartość cukrów redukujących w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,415; B=0,415; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=9 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)

Najwyższą zawartość cukrów redukujących zaobserwowano drugiego dnia przebywania owoców w symulowanych warunkach sprzedaży, która różniła się istotnie od uzyskanej w dniu poboru prób (Ryc. 37). W przypadku wpływu napromieniowania niezależnie od czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży stwierdzono najwyższą zawartość cukrów redukujących po 20-minutowej ekspozycji na promieniowanie UV-C w porównaniu z kontrolą bez napromieniowania (Ryc. 38).



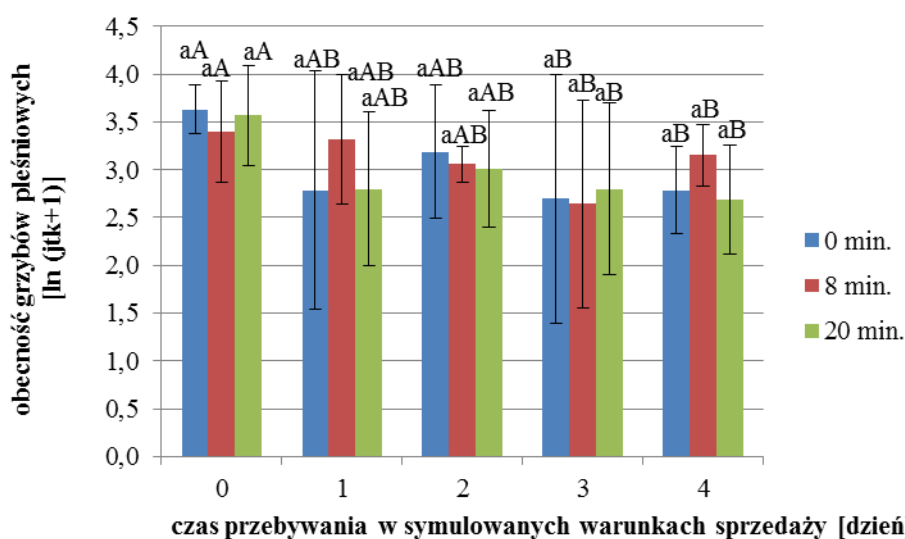
Ryc. 37 Zawartość cukrów redukujących pod wpływem przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,415; B=0,415; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=27



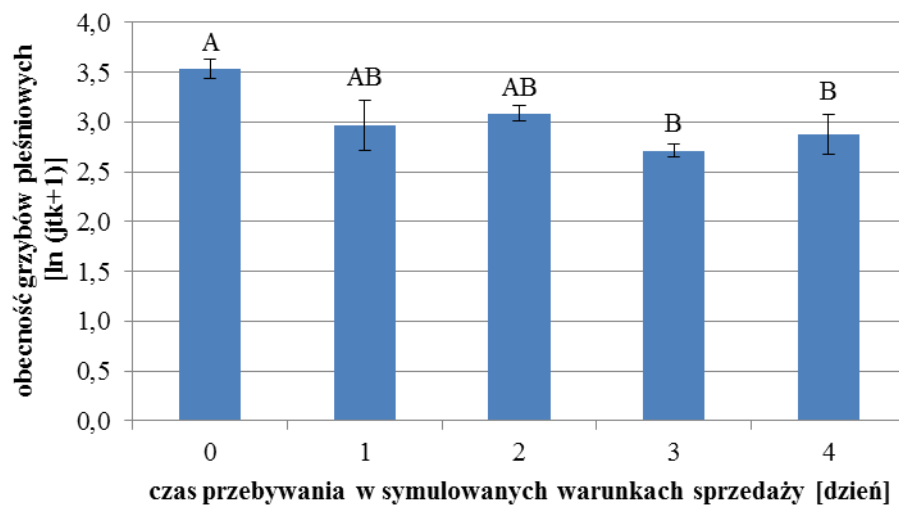
Ryc. 38 Zawartość cukrów redukujących pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,415; B=0,415; B/A=n.i.; A/B=n.i.; n=27

4.8. WPŁYW PROMIENIOWANIA UV-C I SYMULOWANYCH WARUNKÓW SPRZEDAŻY NA LICZEBNOŚĆ KOLONII GRZYBÓW PLEŚNIOWYCH

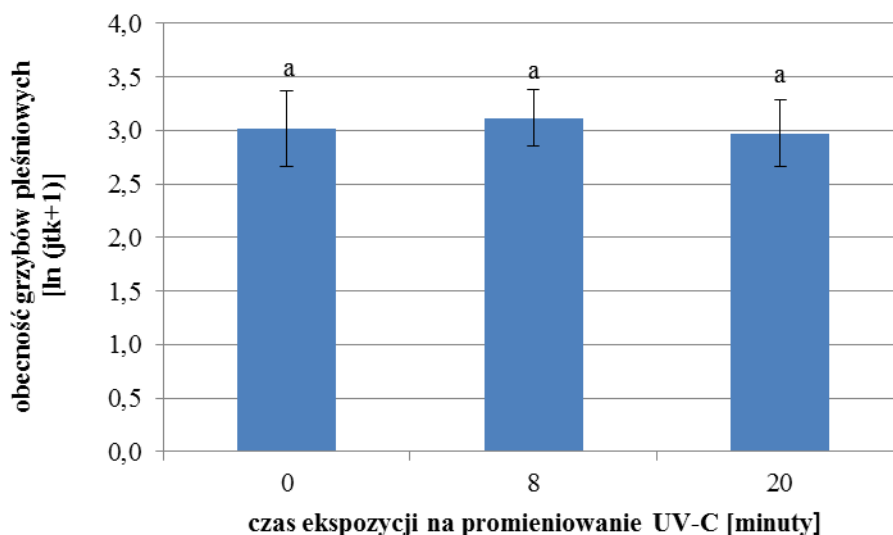
W zaprezentowanych badaniach nie udowodniono istotnego wpływu promieniowania UV-C na liczebność kolonii grzybów pleśniowych w badanych próbach. Na obecność grzybów pleśniowych wpływał natomiast czas inkubacji w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 39, Zał. 15). W dniu poboru prób liczebność kolonii grzybów pleśniowych była wyższa niż trzeciego oraz czwartego dnia przetrzymywania w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 40). Nie stwierdzono jednak bezpośredniego wpływu napromieniowania UV-C na liczebność grzybów pleśniowych na powierzchni owoców maliny niezależnie od czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 41).



Ryc. 39 Obecność grzybów pleśniowych ogółem w owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,651; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n=6$ (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



Ryc. 40 Obecność grzybów pleśniowych w owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,651; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n=18$



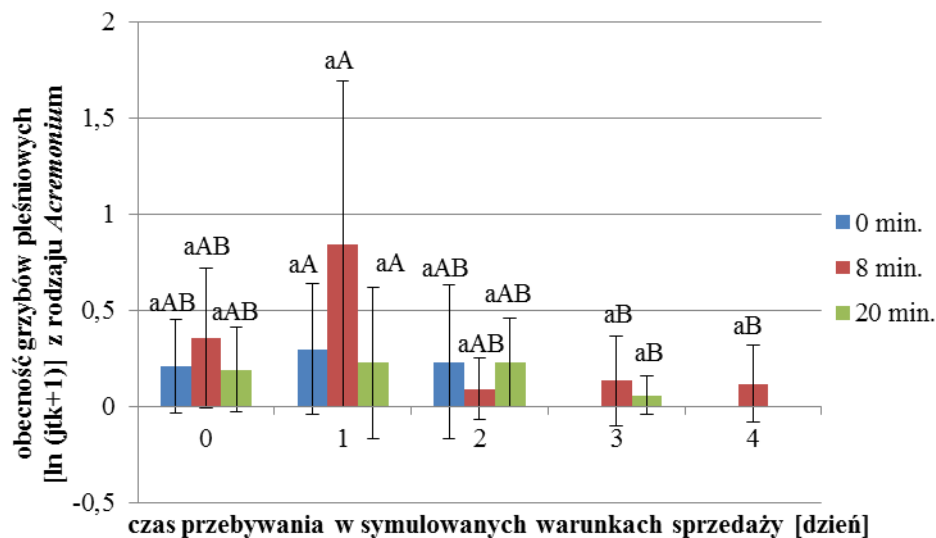
Ryc. 41 Obecność grzybów pleśniowych pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych waunków sprzedaży w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,651; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n = 30$

Oprócz badania wpływu promieniowania UV-C i przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na liczbę kolonii grzybów pleśniowych obecnych na owocach maliny, testowano także wpływ tych czynników na skład rodzajowy kolonii. Promieniowanie UV-C nie okazało się być czynnikiem o istotnym oddziaływaniu na skład rodzajowy grzybów pleśniowych pojawiających się na owocach maliny, natomiast przebywanie w symulowanych warunkach sprzedaży wpływało istotnie na obecność grzybów z rodzaju *Acremonium*, *Penicillium* oraz *Rhizopus* (Tab. 1).

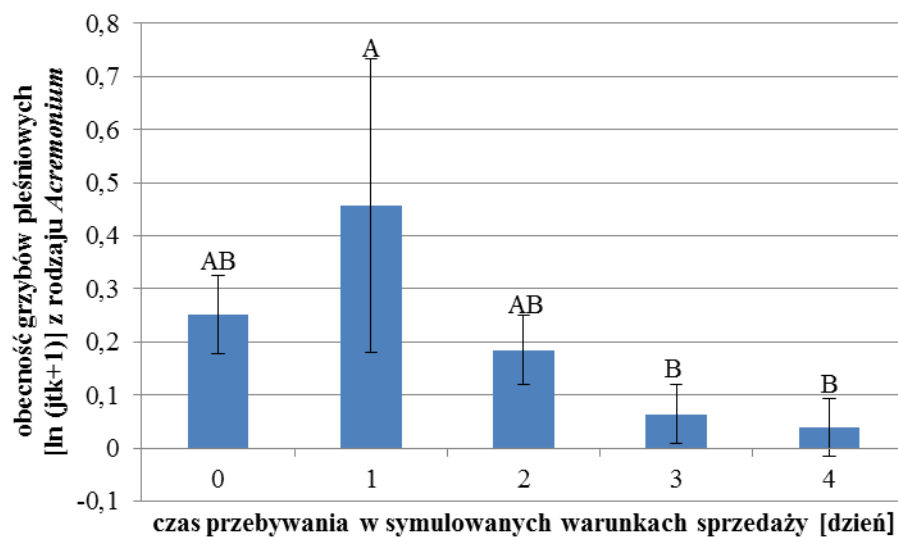
Tab. 1 Wpływ promieniowania UV-C oraz symulowanych warunków sprzedaży na rodzaj grzybów pleśniowych na powierzchni owoców maliny. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 0,05$; A-czas przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży, B-czas ekspozycji na promieniowanie UV-C.

Rodzaj	NIR _A	NIR _B	NIR _{B/A}	NIR _{A/B}
<i>Acremonium spp.</i>	0,359	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Alternaria spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Aspergillus spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Aureobasidium spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Botrytis spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Botrysporium spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Cladosporium spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Fusarium spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Mucor spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Monillinia spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Oidodendron spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Penicillium spp.</i>	0,679	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Rhizopus spp.</i>	0,774	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Scopulariopsis spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Torula spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
<i>Trichoderma spp.</i>	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

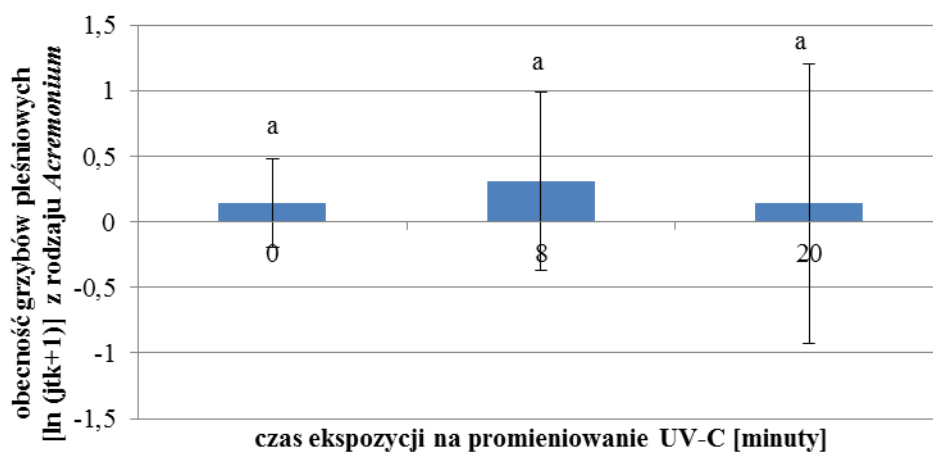
Najwyższą ilość grzybní z rodzaju *Acremonium* zaobserwowano pierwszego dnia po napromieniowaniu, przy czym ich liczebność była istotnie wyższa w porównaniu do trzeciego i czwartego dnia przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 42 i 43, Zał. 16).



Ryc. 42 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Acremonium* na owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,359; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n= 6 (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



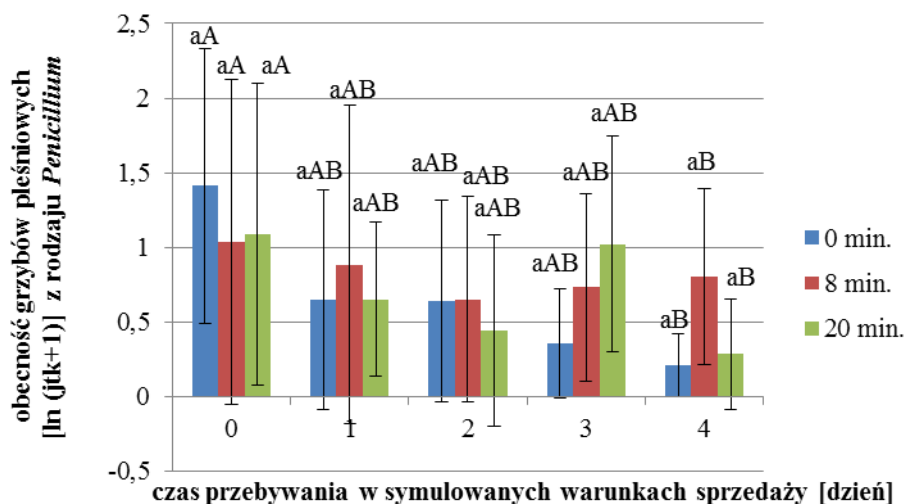
Ryc. 43 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Acremonium* na owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,651; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n= 18



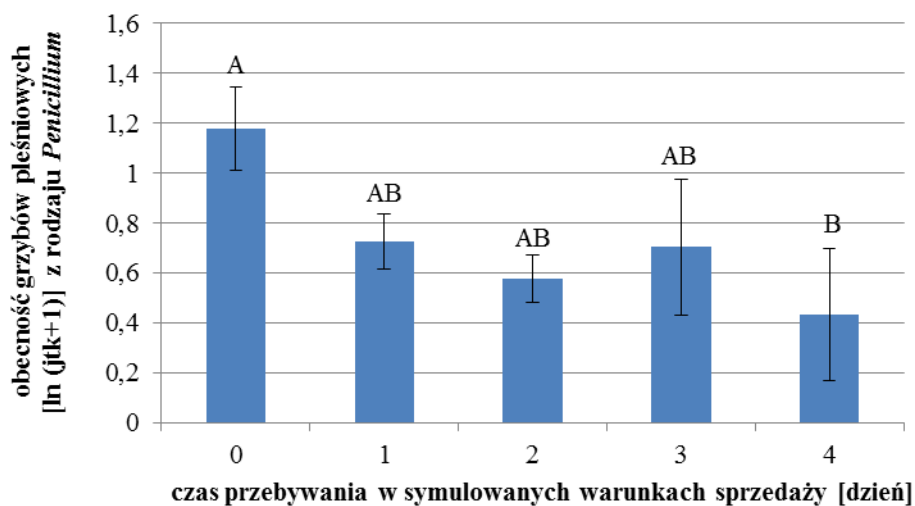
Ryc. 44 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Acremonium* na owocach maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,651; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=30

W przypadku wpływu dawki promieniowania z pominięciem czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży nie stwierdzono jego statystycznie istotnego wpływu na ilość jednostek tworzących kolonie grzybów z rodzaju *Acremonium* (Ryc. 44, Zał. 16).

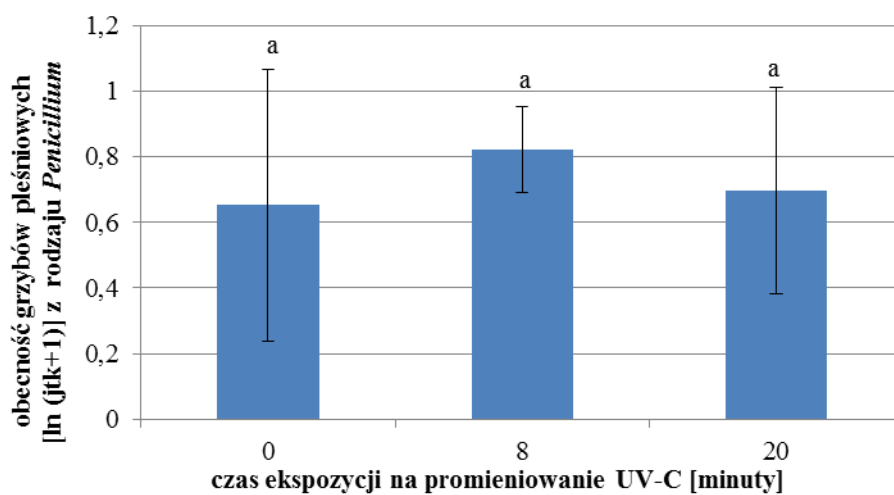
Na obecność grzybnii z rodzaju *Penicillium* wpłynęło przebywanie w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 45, Zał. 17). Po upływie czwartej doby w symulowanych warunkach sprzedaży ilość grzybnii z rodzaju *Penicillium* na owocach była istotnie mniejsza niż w dniu zbioru z pola (Ryc. 46, Zał. 17). Nie wykazano natomiast wpływu promieniowania UV-C na liczebność kolonii *Penicillium*, ani nie otwierdzono statystycznie występowania interakcji między czynnikami doświadczenia. (Ryc. 47, Zał.17).



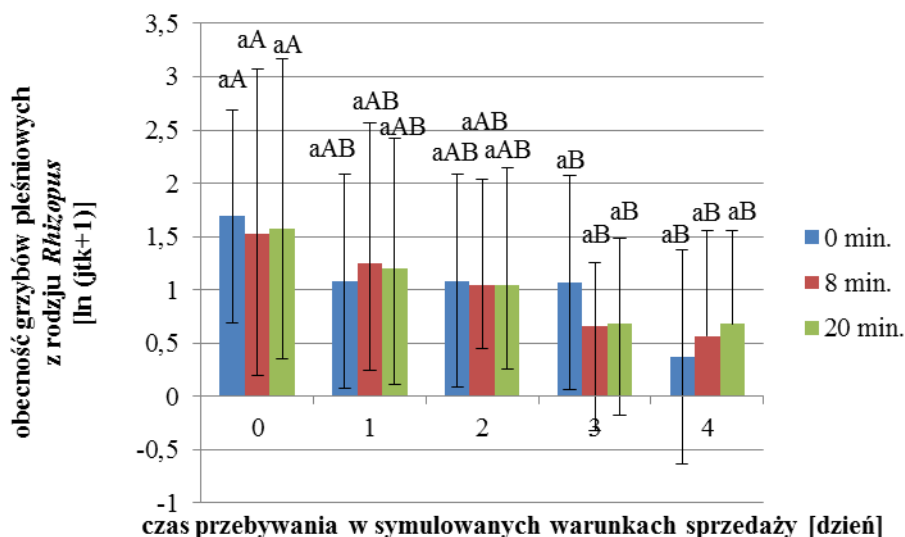
Ryc. 45 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Penicillium* na owocach maliny w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,679; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n=6$ (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)



Ryc. 46 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Penicillium* na owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,679; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=18

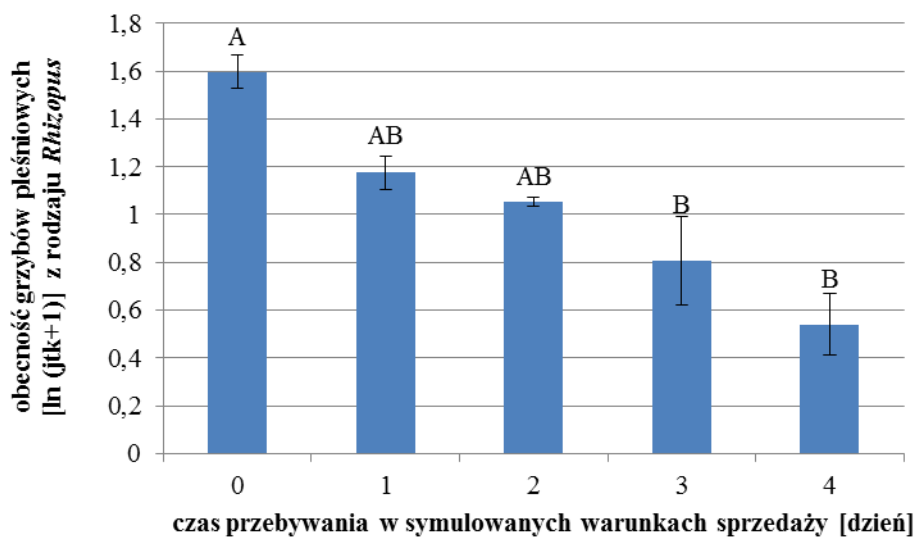


Ryc. 47 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Penicillium* na owocach maliny pod wpływem promieniowania UV-C. C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,679; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=30



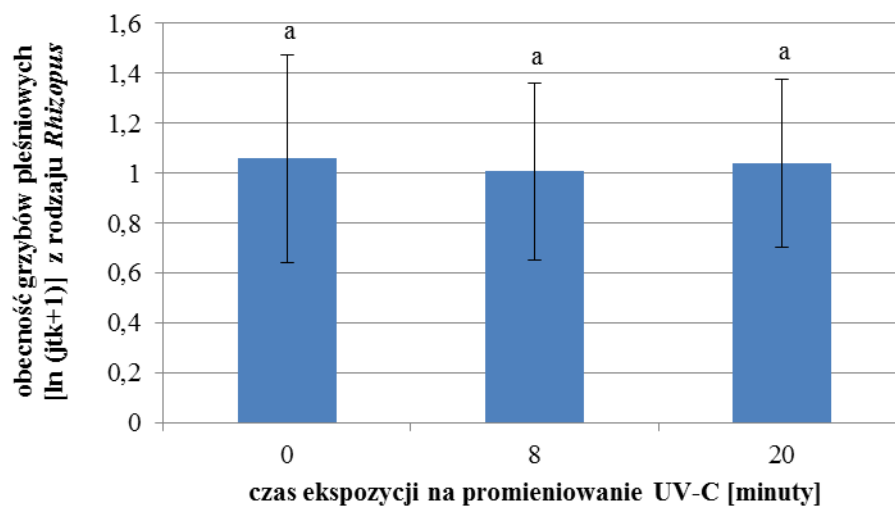
Ryc. 48 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Rhizopus* w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,774; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n=6$ (małymi literami oznaczono istotność czasu napromieniowania, dużymi literami oznaczono istotność czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży)

Na obecność grzybnii z rodzaju *Rhizopus* wpłynęło przebywanie w symulowanych warunkach sprzedaży (Ryc. 48, Zał. 18). Przeprowadzone badania wykazały, iż wraz z czasem przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży zmniejszeniu uległa liczba kolonii grzybów z rodzaju *Rhizopus*, przy czym statystycznie istotne różnice wystąpiły pomiędzy trzecim oraz czwartym dniem przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży a dniem zbioru (Ryc. 49, Zał.18).



Ryc. 49 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Rhizopus* na owocach maliny w zależności od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży z pominięciem zastosowanego czasu napromieniowania UV-C w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,774; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; n=18

Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu dawki promieniowania UV-C niezależnie od czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży na ilość jednostek tworzących kolonie grzybów z rodzaju *Rhizopus* (Ryc. 50, Zał.18).



Ryc. 50 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Rhizopus* na owocach maliny pod wpływem promieniowania UV-C niezależnie od czasu trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2013-2014. NIR (test Tukey'a): A=0,774; B=n.i.; B/A=n.i.; A/B=n.i.; $p \leq 0,005$; $n=30$

4.9. ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY BADANYMI CECHAMI W OWOCACH MALINY PODCZAS PRZETRZYMYWANIA W SYMULOWANYCH WARUNKACH SPRZEDAŻY

Badane składniki antyoksydacyjne poddano analizie korelacji (Tab. 2) w celu wykazania ich udziału w reakcji hormezy i wpływu na ogólną pojemność antyoksydacyjną.

Tab. 2 Związek pomiędzy wybranymi zawartymi w owocach maliny składnikami przeciwutleniającymi w poszczególnych dniach przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży pod wpływem promieniowania UV-C wyrażony przez współczynnik korelacji Pearsona niezależnie od czasu ekspozycji na promieniowanie UV-C oraz czasu przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży (dla $p \leq 0,005$)

	KA	ANT	CR	FRAP	KCH	FEN
KA	1,000000	-0,391035	-0,488756	-0,446319	-0,410389	-0,581535
ANT	-0,391035	1,000000	0,217809	0,339428	0,556958	0,442604
CR	-0,488756	0,217809	1,000000	0,526018	0,109542	0,588846
FRAP	-0,446319	0,339428	0,526018	1,000000	0,163927	0,601778
KCH	-0,410389	0,556958	0,109542	0,163927	1,000000	0,463332
FEN	-0,581535	0,442604	0,588846	0,601778	0,463332	1,000000

Skróty: KA-kwas askorbinowy, ANT-antocyjany, CR-cukry redukujące, FRAP-zdolność antyoksydacyjna (mmol Fe), KCH-kwas chlorogenowy, FEN-związki fenolowe ogółem

Zdolność antyoksydacyjna pozostawała w najsilniejszym związku z związkami fenolowymi, następnie cukrami redukującymi, kwasem askorbinowym i antocyjanami. Zdolność antyoksydacyjna pozostawała w korelacji o ujemnym kierunku jedynie z zawartością kwasu askorbinowego, co może wskazywać na znaczny udział kwasu dehydroksyaskorbinowego w łącznej puli witaminy C. Ponadto stwierdzono ujemną zależność zawartości kwasu askorbinowego w stosunku do pozostałych cech, przy czym związek ten był średniej mocy. Natomiast zawartość związków fenolowych była pozytywnie skorelowana ze wszystkimi uwzględnionymi parametrami, co wskazuje na ich centralne znaczenie w mechanizmie powstawania hormezy.

5. DYSKUSJA

Promieniowanie UV-C jako czynnik stresowy może zaburzać homeostazę komórki roślinnej poprzez indukcję reaktywnych form tlenu. Jednocześnie w sytuacji, gdy zainicjowana zostaje synteza enzymów oraz antyoksydantów drobnocząsteczkowych uczestniczących w neutralizowaniu reaktywnych form tlenu lub usuwających skutki reakcji utleniania zmniejszona zostaje podatność komórki na czynniki stresowe.

Wzrost stężenia nadtlenu wodoru będącego prekursorem bardziej reaktywnego anionu ponadtlenkowego oraz rodnika hydroksylowego jest zjawiskiem towarzyszącym dojrzewaniu owoców [Bartosz 2009]. W celu utrzymania równowagi między reakcjami utleniania-redukcji, a tym samym ochrony komórki przed stresem oksydacyjnym nadtlenek wodoru jest usuwany przez katalazę, a także angażowane przez obecne w cytoplazmie peroksydazy askorbinianowe uczestniczące w cyklu Halliwella-Asady [Bartosz 2009].

W doświadczeniu polegającym na aplikacji promieniowania UV-C m.in. w celu oceny wpływu na zawartość antyoksydantów w owocach maliny, zaobserwowano tendencję do akumulacji kwasu askorbinowego po aplikacji promieniowania UV-C, w szczególności bezpośrednio po jego zastosowaniu. Efekt utrzymywał się przez 3 doby w symulowanych warunkach sprzedaży tj. temperaturze 24 °C i 70% wilgotności względnej powietrza. Znaczenie uzyskanego w wyniku aplikacji promieniowania UV-C wzrostu syntezy kwasu L-askorbinowego wyjaśnia doświadczenie Conklin i in. (1996), w którym wrażliwość mutantów *Arabidopsis thaliana* na działanie ozonu była wynikiem ograniczonej genetycznie możliwości syntezy kwasu L-askorbinowego. Zjawisko recyklingu kwasu L-askorbinowego na etapie redukcji dehydroksyaskorbinianu w wyniku nadekspresji reduktazy chroni błony komórkowe *Arabidopsis thaliana* przed działaniem stresu oksydacyjnego. W reakcji niezbędny jest udział glutationu, w przeciwnym razie zamiast regeneracji kwasu L-askorbinowego, z kwasu dehydroksorbinowego powstawałby kwas 2,3-diketogulonowy (Wang i in. 2010). Nadekspresja syntazy glutamylcysteinowej nie wystarczyłaby, by zapobiec chlorozie i nekrozie, ponieważ wzrostowi stężenia glutationu w wyniku nadekspresji genu syntazy towarzyszy obniżenie potencjału antyoksydacyjnego. Natomiast wzrost stężenia kwasu askorbinowego oraz glutationu na drodze nadekspresji DHAR związany jest ze wzrostem potencjału antyoksydacyjnego obu tych związków [Chen i in. 2003]. Oznacza to, że dla ochrony przed skutkami stresu oksydacyjnego istotny jest sprawny system utrzymania potencjału antyoksydacyjnego kwasu L-askorbinowego oraz glutationu. W doświadczeniu własnym nie stwierdzono zmian potencjału antyoksydacyjnego, co może oznaczać stan równowagi między formą utlenioną a zredukowaną kwasu L-askorbinowego lub też kompensację potencjału antyoksydacyjnego, stanowiącego wspólny „wkład” kwasu L-askorbinowego oraz glutationu, co z kolei wg Chen i in. (2003) równoważne jest z brakiem stresu oksydacyjnego.

Wzrost zawartości kwasu L-askorbinowego może być wynikiem „recyklingu” kwasu dehydroaskorbinowego w cyklu Haliwell-Asady lub też wynikiem syntezy przy udziale cukrów. W przypadku recyklingu - potencjał antyoksydacyjny kwasu L-askorbinowego rósłby, a w doświadczeniu nie wykazano zmian potencjału antyoksydacyjnego pod wpływem promieniowania UV-C. Drugim argumentem jest fakt, że promieniowanie UV-C obniżyło zawartość cukrów redukujących. Wykazany w doświadczeniu własnym wzrost zawartości kwasu L-askorbinowego może nie wynikać zatem z eliminacji skutków stresu oksydacyjnego w procesie recyklingu wskutek nadekspresji genu reduktazy dehydroaskorbinianu (DHAR), ale może być wynikiem pobudzenia metabolizmu wtórnego.

Jak przedstawiono powyżej, aktywność antyoksydacyjna (FRAP) po zastosowaniu promieniowania UV-C nie różniła się od kontroli. Uważa się, że aktywność antyoksydacyjna kwasu askorbinowego jest największa przy jego niskich stężeniach, podczas gdy dominują reakcje redukcji reaktywnych form tlenu. Natomiast w warunkach zbyt wysokiego stężenia kwasu askorbinowego w reakcji wolnorodnikowej może dojść do uwolnienia rodnika askorbylowego oraz anionu nadtlenkowego [Grajek 2007]. Jeśli zatem w bieżącym doświadczeniu oddziaływaniu promieniowania UV-C na kwas L-askorbinowy towarzyszył niezmienny potencjał antyoksydacyjny komórki, oznaczać to może występowanie zjawiska eustresu [Hideg i in. 2013], którego konsekwencją jest synteza antyoksydantów oraz regeneracja potencjału redukcyjnego NADPH wystarczająca na utrzymanie równowagi między nimi a reaktywnymi formami tlenu [Gill i Tuteja 2010].

W przeprowadzonych badaniach promieniowanie UV-C wpłynęło na podniesienie zawartości kwasu askorbinowego przy jednoczesnym obniżeniu zawartości cukrów. Najwyższą zawartość kwasu askorbinowego stwierdzono po 24 min. aplikacji promieniowania UV-C, która nie różniła się statystycznie od 12 do 20 min. jego stosowania. Natomiast zawartość cukrów była najwyższa dla kontroli, a następnie dla aplikacji promieniowania w przedziale od 4 do 12 min. W badaniach Barki i in. (2000) wykazano, że aktywność enzymów degradujących ścianę komórkową spada pod wpływem promieniowania UV-C. Aktywność tę obliczono jako ilość jednostek uwolnionych z wielocukrów. Spadek aktywności enzymów rozkładających ścianę komórkową pod wpływem promieniowania UV-C następował szybciej niż w warunkach kontrolnych. Ponadto aktywność enzymów była niższa w owocach napromieniowanych niż kontrolnych.

Zawartość kwasu askorbinowego wykazuje tendencję spadkową w ciągu okresu przetrzymywania owoców w symulowanych warunkach sprzedaży, natomiast promieniowanie UV-C hamował ten proces. Efekt ten można tłumaczyć zużywaniem jednostek cukrowych na syntezę kwasu askorbinowego. Inną możliwością jest utlenianie glukozy w cyklu pentozofosforanowym, by pozyskać NADPH do redukcji utlenionego glutationu lub też do reakcji syntez [Kączkowski 1982]. Z drugiej strony według badań przeprowadzonych na

transgenicznym tytoniu przewaga zredukowanej formy askorbinianu nad utlenioną oraz wzrost zawartości zredukowanego glutationu była wynikiem zablokowania ekspresji genu dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej. Wynikiem było uruchomienie alternatywnych źródeł potencjału redukcyjnego, jakimi są enzymy o działaniu dehydrogenaz [Debnam i in. 2004].

Wpływ promieniowania UV-C na zawartość kwasu askorbinowego przebadano w niewielu doświadczeniach, gdzie główną uwagę poświęcano wpływowi na zawartość flawonoidów, które kształtują właściwości antyoksydacyjne oraz cechy organoleptyczne owoców.

Chociaż promieniowanie UV-C hamowało spadek zawartości kwasu askorbinowego w owocach maliny, jednak sam okres przebywania w symulowanych warunkach sprzedaży nie sprzyjał jednoznacznie wzrostowi jego zawartości. Zdaniem Krüger i in. (2011) stadium dojrzałości jak czas i warunki przechowywania nie wpływają na zawartość witaminy C oraz zawartość polifenoli w owocach maliny, natomiast sprzyjają one wzrostowi zawartości antocyjanów. Istnieją opinie, że promieniowanie UV-C nie wyzwała natychmiastowego efektu poprawy zawartości związków biologicznie czynnych. Wykazano, że pozytywny wpływ tej metody widoczny jest dopiero po kilkudniowym okresie aktywacji enzymów uczestniczących w ukierunkowanych reakcjach biochemicznych [Erkan i in. 2008; Perkins-Veazie i in. 2008; Vanamala i in. 2007]. Wówczas niekorzystne zmiany, które są następstwem procesów dojrzewania i starzenia się owoców mogą zostać opóźnione [Maharaj i in. 1999; Stevens i in. 2004].

W bieżącym doświadczeniu między dniem, w którym napromieniowano owoce, a pierwszym dniem po jego zastosowaniu zawartość kwasu askorbinowego spadła, jak również drugiego dnia była niższa niż dnia trzeciego, podczas gdy w tym samym czasie zaobserwowano wzrost zawartości związków fenolowych oraz zdolności antyoksydacyjnej. Sugeruje to, że kwas askorbinowy ma w tym czasie mniejszy udział u rodzaju *Rubus* w tworzeniu pojemności antyoksydacyjnej niż związki fenolowe [Deighton i in. 2000]. W owocach maliny, truskawki i jagody niepoddanych promieniowaniu UV-C, natomiast przechowywanych w temperaturach: 0, 10, 20 i 30 °C niezależnie od zdolności antyoksydacyjnej występowała silna korelacja między nią a zawartością związków fenolowych ($r=0,83$), a także między zdolnością antyoksydacyjną a zawartością antocyjanów (0,9), natomiast wkład kwasu askorbinowego w zdolność antyoksydacyjną był mniejszy ($r=0,4$), co niejako pokrywa się z bieżącymi wynikami [Kalt i in. 1999].

W badaniach własnych nie stwierdzono stymulującego syntezę związków fenolowych i antocyjanów wpływu promieniowania UV-C ani też poprawy zdolności antyoksydacyjnej mierzonej jako FRAP. Potencjał antyoksydacyjny wzrastał w przeciągu dwóch dób po napromieniowaniu, a jednocześnie zawartość związków fenolowych pozostawała bez zmian, co może wskazywać na zmniejszenie udziału wolnych kwasów hydroksycynamonowych uczestniczących w jej tworzeniu, przy jednoczesnym zachowaniu całkowitej

puli związków fenolowych [Zheng i in. 2003]. Oznaczałoby to, że zamiast spodziewanej zmiany ilościowej wystąpiły ich zmiany jakościowe. Promieniowanie UV-C nie wpłynęło również na zawartość antocyjanów oraz zdolność antyoksydacyjną owoców granatu [López-Rubira i in. 2005]. Przebadanie wpływu promieniowania UV-C u owoców czarnej jagody nie potwierdziło wpływu promieniowania UV-C na zawartość kwasu chlorogenowego, cjanidyno-3-galaktozydu, a także kemferol-3-glukuronidu [Wang i in. 2009], a także nie wpłynęło na zawartość związków fenolowych ogółem oraz zdolność antyoksydacyjną m. in. w soku z białego i czerwonego winogrona [Pala i Toklucu 2013] oraz na całkowitą zawartość antocyjanów w soku z granatu [Pala i Toklucu 2011]. Być może ma to przełożenie na owoce maliny, które również charakteryzuje niska wytrzymałość mechaniczna, a także niski udział pektyn. Skoro na zawartość antocyjanów, polifenoli i zdolności antyoksydacyjnej wpływa gatunek, odmiana i stopień dojrzałości owoców [Wang i in. 2000], to przypuszczalnie kierunek zmian ich zawartości pod wpływem promieniowania UV-C jest zależny również od tych czynników. W literaturze nie znaleziono badań prowadzonych na owocach maliny, natomiast badania, których przedmiotem są inne owoce, w tym jagodowe, przeważnie nie potwierdzają one wyników badań własnych. Promieniowanie UV-C może hamować aktywność oksydazy polifenolowej w m. in. w owocach truskawki [Falguera i in. 2012; Mohammadi i in. 2012]. Stymulujący wpływ promieniowania UV-C na zawartość związków fenolowych w owocach truskawki tłumaczy się wzrostem aktywności amoniakolizy fenyloalaninowej w ciągu 12 godzin przechowywania pod wpływem dawki $0,5 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ [Nigro i in. 2000], jak również spadkiem aktywności oksydazy polifenolowej w ciągu 5 dni przechowywania w temperaturze $10 \text{ }^\circ\text{C}$ niezależnie od zastosowanej dawki promieniowania UV-C [Mohammadi i in. 2012]. W bieżącym doświadczeniu zawartość związków fenolowych jest najwyższa w ciągu 4 dni po aplikacji UV-C, jednak nie jest to konsekwencją promieniowania UV-C, natomiast prawdopodobnie samych symulowanych warunków sprzedaży. Podczas doświadczenia dotyczącego trwałości owoców maliny, obejmującego 8- dniowy okres przechowywania w temperaturze $20 \text{ }^\circ\text{C}$, zawartość polifenoli wzrosła 1,5-krotnie, antocjanów 2,5-krotnie. Zmiany te były wyraźniejsze niż w temperaturze $0 \text{ }^\circ\text{C}$, $10 \text{ }^\circ\text{C}$ czy $30 \text{ }^\circ\text{C}$, natomiast zawartość witaminy C spadła o 22% [Kalt i in. 1999]. Zatem w bieżącym doświadczeniu wskutek zastosowania promieniowania UV-C uzyskano przeciwne do zachodzących podczas klasycznego przechowywania zmiany zawartości ocenianych przy badaniu trwałości owoców parametrów.

Podobnie jak u owoców truskawki [Erkan i in. 2008] promieniowanie UV-C nie podziało stymulująco na zawartość antocyjanów, jednak ich zawartość wzrosła w czasie. W innym doświadczeniu (Pan i in. 2004) promieniowanie UV-C spowodowało zmniejszenie akumulacji antocyjanów na skutek zbyt intensywnego napromieniowania UV-C, co z drugiej strony może hamować stymulujący wpływ na syntezę związków biologicznie czynnych.

W literaturze nie znaleziono badań zastosowania promieniowania UV-C w odniesieniu do owoców maliny. W dostępnych publikacjach przedstawiane są wyniki badań wpływu promieniowania UV-C na ogólną zawartość związków fenolowych oraz antocyjanów, co dla każdego z badanych gatunków oznacza analizę odmiennego profilu związków biologicznie czynnych i ich interakcji. Nie bez znaczenia dla efektu działania metody radiacyjnej pozostaje, które z nich dominują w składzie badanych owoców, a także istotna jest ich lokalizacja w organach roślinnych. Zawartość naringeniny w miąższu grejpfruta poddanego działaniu promieniowania gamma spadła, bez zmian pozostała natomiast zawartość naringeniny w skórce. Na zawartość innego flawonoidu- natriuretyny w miąższu nie wpłynęło ani promieniowanie UV-C ani czas ani warunki przechowywania. Wzrosła ona natomiast w skórce dopiero po aplikacji promieniowania w wysokiej dawce 300 Gy, a także po dłuższym czasie przechowywania. Zawartość ponceryny w miąższu spadła dla dawki 150 Gy względem kontroli bez napromieniowania i dawki 300 Gy, zaś w skórce była ona najniższa dla dawki 300 Gy [Vanamala i in. 2007]. Zatem efekt promieniowania zależy może od rodzaju docelowego związku biologicznie czynnego i miejsca jego występowania. W profilu związków fenolowych dojrzałych owoców maliny przeważają ilościowo procyanidyny, epikatechina, katechina, glukuronid i glukozyd kwercetyny oraz kwas elagowy, jednak u odmian relacje te są zmienne. Niektóre odmiany pozbawione są możliwości syntezy pochodnych rutynozydu kwercytyny oraz kemferolu, w zamian wytwarzają inne glukozidy flawonoli [Carvalho i in. 2013a]. Czas inkubacji po napromieniowaniu może sprzyjać akumulacji związków polifenolowych i antocyjanów, co znalazło odzwierciedlenie w badaniach dotyczących wpływu promieniowania UV-C na syntezę związków polifenolowych w kulturze kalusa *Vitis vinifera* [Cetin 2014].

W doświadczeniu nie zaobserwowano spadku zawartości kwasu chlorogenowego względem kontroli, stanowiącego przyczynę ciemnienia wielu płodów rolnych i pogorszenia ich wartości biologicznej [Keutgen i in. 2014]. Znane jest jednakże hamując rozwój grzybów patogennych działanie kwasu chlorogenowego i kawowego, co więcej produkty ich utlenienia cechują się silniejszym działaniem antygrzybowym niż jego substraty [Kermasha i in. 1993]. Najwyższą aktywność oksydazy polifenolowej (PPO) u maliny stwierdzono dla katechin, natomiast kwas kawowy i kwas chlorogenowy nie są w owocach maliny substratami dla PPO [González i in. 1999]. Poza tym produkty utleniania kwasu chlorogenowego dają jaśniejszy kolor niż produkty utleniania katechin [Oszmianski i Lee 1990]. Współwystępowanie kwasu askorbinowego obok związków fenolowych zapobiega powstawaniu chinonów [Takahama i in. 2008]. Co więcej kwasy hydroksycynamonowe są inhibitorami aktywności PAL [Durst 1976 cyt. za Szkutnicka 1979], co w bieżącym doświadczeniu mogło nie sprzyjać syntezie związków fenolowych i antocyjanów.

Promieniowanie UV-C nie zwiększyło pojemności antyoksydacyjnej, zawartości polifenoli i antocyjanów. Brak spodziewanego wzrostu można też tłumaczyć faktem, że aktywność amoniakolizazy fenyloalaninowej jest wysoka w owocach o niskiej zawartości związków fenolowych [Szkutnicka i in. 1979], natomiast owoce maliny są w nie bogate. Owoce maliny czerwonej osiągają najwyższą zdolność antyoksydacyjną w fazie dojrzałości pełnej, a takie były poddane doświadczeniu, natomiast najniższa przypada na fazę różową. Zawartość antocyjanów także wzrasta wraz ze stopniem dojrzałości owoców, również zawartość związków fenolowych rośnie między fazą różową a fazą dojrzałości [Wang i in. 2000]. Rozbieżności w zawartości związków polifenolowych oraz antocyjanów obserwowane w latach 2012-2014 mogą wynikać ze współzawodnictwa enzymów o substrat w punkcie, gdzie krzyżują się szlaki metaboliczne prowadzące do syntezy stilbenów oraz do syntezy chalkonów, będących prekursorami antocyjanów [Richter i in. 2006]. W profilu związków fenolowych zawartych w owocach maliny zidentyfikowano stilbeny z grupy resweratrolu oraz dihydrochalkony, których obecność dotąd kojarzono głównie z owocami winorośli oraz jabłoni [Carvalho i in. 2013a]. Promieniowanie UV-C stymuluje syntezę resweratrolu w wyniku ekspresji genu syntazy stilbenowej [Wang i in. 2010], natomiast promieniowanie UV-A pobudza ekspresję genu syntazy chalkonowej, a w jej wyniku akumulację antocyjanów [Wang i in. 2012]. Oznaczać to może, że synteza związków biologicznie czynnych o właściwościach potencjalnie fungistatycznych wymaga pochłonięcia fali elektromagnetycznej o większej częstotliwości, a więc większej dawki energii niż synteza związków chroniących zewnętrzne warstwy komórki roślinnej przed nadmierną absorpcją promieniowania. Stwierdzony w bieżącym doświadczeniu brak wpływu aplikowanych dawek promieniowania UV-C na akumulację antocyjanów oraz związków fenolowych przy braku efektu fungistatycznego świadczyć może o uruchomieniu szlaków syntezy innych niebadanych dotąd związków. Związki o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej np. kwas askorbinowy cechują się dużą stabilnością wobec promieniowania UV-C. Obecność kwasu askorbinowego w różny sposób oddziałuje na związki fenolowe, przykładowo może przyspieszać utlenianie katechin, natomiast hamować utlenianie kwasu galusowego [Volf i in. 2014].

Askorbinian jest przede wszystkim donorem elektronów dla peroksydazy askorbinianowej w celu usunięcia nadtlenu wodoru, jednak w sytuacji, gdy nadtlenek wodoru utlenia flawonoidy, może służyć też jako reduktor rodników fenoksylowych [Yamasaki i in. 1997]. W apoplacie stężenie kwasu L-askorbinowego jest bardzo niskie w porównaniu ze stężeniem jego formy utlenionej DHA, dlatego substratami reduktazy monodehydroaskorbinianowej (MDA) stają się rodniki fenoksylove. Pojawiają się one podczas syntezy ligniny ze związków fenolowych [Sakihama 2000]. Ponieważ nie stwierdzono wpływu promieniowania UV-C na zawartość związków fenolowych, prawdopodobnie nie uległa zmianie zawartość związków ligninowych w ścianie komórkowej. Także spadek zawartości cukrów redukujących po aplikacji

promieniowania UV-C trwającej od 16 do 24 min. nie wydaje się być związany z syntezą polimerów ścian komórkowych, natomiast niezależnie od teorii syntezy kwasu L-askorbinowego w roślinach, jego związkami prekursorowymi są cukry proste: L- galaktoza wg szlaku Smirnoffa-Wheelera, D-glukoza czy D-galaktoza po redukcji kwasu D-galakturonowego ściany komórkowej (Smirnoff i in. 2001). W ścianie komórkowej owocu maliny przeważa arabinoza, następnie ksyloza i galaktoza [Vicente i in. 2007]. W zaawansowanym stadium dojrzałości owoce zawierają naj wyższą zawartość cukrów, zatem można się spodziewać, że skuteczność grzybobójczego działania promieniowania UV-C jest na tym etapie dojrzałości najtrudniejsza do uzyskania. Chociaż nie wykazano istotnego statystycznie wpływu UV-C na liczbę kolonii grzybów pleśniowych, hamowało ono wzrost zawartości cukrów redukujących, a efekt ten zwiększał się w przypadku intensywniejszego napromieniowania. Przeciwny efekt oddziaływania promieniowania UV-C na zawartość cukrów redukujących zaobserwowano w plastrach owocu ananasa [Pan i Zu 2012]. Ponadto promieniowanie UV-C nie hamowało spadku zawartości kwasu askorbinowego jak miało to miejsce w bieżącym doświadczeniu na owocach maliny.

W bieżącym doświadczeniu promieniowanie UV-C nie zwiększyło również ubytków świeżej masy w porównaniu z kontrolą, tak jak w doświadczeniu Marquenie i in. 2002, w którym dawki 1 oraz 1,5 J·cm⁻² nie powodowały utraty jędrności owoców truskawki w ciągu 10-dniowego okresu obserwacji, jednak niższe dawki skutkowały spadkiem ich jędrności. UV-C nie pogarszało też jędrności owoców czereśni, ale inaczej niż w przypadku truskawki, nie hamowało rozwoju grzybów. Sugeruje to, że chociaż struktura owocu może wpływać na dostępność mikroorganizmów dla promieniowania [Cia i in. 2007], poprawa szczelności bariery mechanicznej nie wystarcza, by zapobiec rozwojowi grzybów pleśniowych na owocach [Marquenie i in. 2002]. Na skuteczność metody radiacyjnej wpływać może położenie owoców względem lamp – zalecane jest stosowanie jednostronnej bądź całkowitej ekspozycji, ekspozycja dwustronna w mniejszym stopniu hamuje infekcję [D'hallewin i in. 2000; Stevens i in. 2004; González-Aguilar i in. 2007]. Maliny poddano naświetlaniu obustronnemu – z dołu i z góry, co ze względu na rozmiar owoców miało zapewnić ekspozycję całej powierzchni. Zastosowane dawki promieniowania UV-C nie wpłynęły na liczebność oraz skład rodzajowy grzybów pleśniowych, jednakże zauważono, że ich liczebność była ograniczona w próbach, gdzie pojawiły się bakterie. Podobnie promieniowanie UV-C nie zniszczyło grzybów pleśniowych oraz drożdży na pestkach granatu, za to obecność bakterii zależna była od zastosowanej dawki [López-Rubira i in. 2005].

Wzrost zawartości kwasu L-askorbinowego poprzez zakwaszenie środowiska sprzyja obecności grzybów pleśniowych. Prawdopodobnie obserwowana przez wielu autorów synteza związków fenolowych oraz flawonoidów sprzyjała utrzymaniu środowiska bardziej korzystnego dla

kolonizacji przez bakterie, a tym samym skład mikroflory mógłby zostać zmieniony na niekorzyść grzybów pleśniowych. Promieniowanie UV-C wywoływało zmiany liczebności i składu gatunkowego mikroorganizmów na liściach pomidora. Zmiany te zależały od dawki promieniowania, a polegały na wydzielaniu związków organicznych jak i mineralnych przez organy roślinne. Wskutek syntezy m.in. związków polifenolowych chroniących komórkę roślinną przed wpływem promieniowania UV-C dochodziło do hydrolizy związków złożonych do prostych, których rodzaj decydował o składzie mikroflory. Obecności bakterii proteo- i amylolitycznych towarzyszyło ograniczenie występowania grzybów strzępkowych [Panova i Chernousov 2008].

W doświadczeniach, w których promieniowanie UV-C ograniczało gnicie owoców obserwowano wzrost syntezy flawonoidów, a także aktywności enzymów takich jak amoniakoliza fenyloalaninowa (González-Aguilar i in. 2007) czy syntaza chalkonowa. Jednocześnie są to związki wzmacniające ścianę komórkową, a tym samym chroniące przed wnikaniem strzępków grzyba (D'hallewin i in. 1999). Spory *Botrytis cinerea* *in vitro* zostały całkowicie zniszczone, gdy promieniowanie poprzedzono metodą termiczną, wymagało to jednak zastosowania wyższej temperatury niż dla *Monilinia fructigena*, gdzie promieniowane aplikowano przed zastosowaniem podwyższonej temperatury. Połączenie z metodą termiczną pozwoliło na dziesięciokrotne zmniejszenie skutecznej dawki promieniowania UV-C [Marquenie i in. 2002]. Wydaje się, że jest to obiecujący kierunek, jednak formy przetrwalnikowe uważane są za bardziej podatne na działanie promieniowania UV-C niż grzybnia wegetatywna. Skuteczność metody nie została jednak potwierdzona *in vivo* na owocach papai [Cia i in. 2007], ani też zbadana na owocach truskawki czy wiśni [Marquenie i in. 2002]. U niektórych autorów zastosowanie promieniowania UV-C jako metody ograniczenia występowania bakterii, a także grzybów pleśniowych zakończyło się powodzeniem. W doświadczeniach tych aplikacja promieniowania wraz z okresem inkubacji poprzedzała inokulację drobnoustrojami. Dodatkowo promieniowanie poprzedzano sterylizacją owoców, co eliminuje autochtoniczną mikroflorę [Stevens i in. 2004]. W bieżącym doświadczeniu owoce po aplikacji promieniowania przebywały w warunkach naturalnego fotoperiodu, natomiast według [Stevens i in. 1998] umieszczenie owoców brzoskwini w ciemności zapobiega procesowi fotoodwracalności. W wyniku takiego podejścia zaindukowano odporność, jednak trudno, by znalazło to zastosowanie w praktyce rolniczej. Zebrane z pola płody rolne nie są pozbawione własnej mikroflory, a poprzedzanie promieniowania UV-C dezynfekcją chemiczną [González-Aguilar i in. 2007] mija się z celem zastosowania metody fizycznej. Mikroorganizmy saprofityczne wykazują większą odporność na promieniowanie UV-C niż inokulum [Taze i in. 2015]. Jeśli promieniowanie UV-C aplikowano przed inokulacją, okazało się skuteczniejsze w usuwaniu grzybów pleśniowych na owocach niż na podłożu hodowlanym. Większą skuteczność działania promieniowania UV-C w badaniach *in vivo* niż *in vitro* tłumaczyć może antagonistyczne oddziaływanie

autochtonicznej mikroflory [Stevens i in. 1998]. Inny wynik uzyskano porównując działanie promieniowania UV-C *in vivo* oraz *in vitro* aplikowanego po inokulacji. Promieniowanie hamowało wzrost grzybni wyłącznie w warunkach *in vitro*, na owocach papai nie zahamowano ekspansji antraknozy [Cia i in. 2007].

Skoro dla grzybobójczego działania promieniowania UV-C istotna jest kolejność jego aplikacji względem inokulacji, to należałoby je aplikować przed wykiełkowaniem spor na powierzchni owoców. Przed osiągnięciem dojrzałości pełnej stężenie cukrów jest niższe, a turgor i podatność na uszkodzenia wyższe, a ponieważ w miarę dojrzewania owoców jak i wraz z wydłużaniem trzydniowego okresu przechowywania zawartość antocyjanów wzrasta [Krüger i in. 2011]. Daje to podstawę przypuszczać, że doświadczenie mogłoby przynieść inne rezultaty, gdyby działaniu promieniowania UV-C poddać owoce jeszcze przed stadium dojrzałości pełnej.

6. WNIOSKI

1. Promieniowanie UV-C dla owoców maliny skutkowało wzrostem syntezy kwasu askorbinowego oraz spadkiem zawartości cukrów prostych, przypuszczanie zużywanych na jego syntezę.

2. Wzrost zawartości kwasu askorbinowego przy stosunkowo stabilnej zdolności antyoksydacyjnej sugerował zachowanie stanu równowagi między jego postacią zredukowaną a utlenioną.

3. Promieniowanie UV-C w niskim natężeniu dawce nie wywoływał zatem silnego stresu oksydacyjnego.

4. Nie udowodniono wpływu promieniowania UV-C na zawartość związków fenolowych ogółem oraz zawartość antocyjanów, a także kwasu chlorogenowego, a także w sposób jednoznaczny na wartość pojemności antyoksydacyjnej FRAP, których zmiany obserwowane były podczas senescencji owoców.

5. Najkorzystniejszą dawką promieniowania UV-C przynoszącą wzrost zawartości kwasu askorbinowego stanowiło napromieniowanie trwające 16 oraz 20 min., a jego działanie w pełni uwidoczniło się po dniach od czasu napromieniowania.

6. Promieniowanie UV-C było czynnikiem obojętnym dla liczebności jednostek tworzących kolonie oraz nie zmieniało składu rodzajowego grzybów pleśniowych.

7. Aplikacja promieniowania UV-C w fazie dojrzałości pełnej owoców maliny nie pozwoliło na pełne wykorzystanie jego potencjalnych właściwości sanitarnych.

|

7. LITERATURA

- [1] Agar I. T., Streif J., Bangerth F. 1997. Effect of high and controlled atmosphere (CA) on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. PBT. 11, 47-55.
- [2] Apel K., Hirt H. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. Ann. Rev. Plant. Biol. 55, 373-399.
- [3] Atalla M. M., Hassanein N.M., El-Beih A.A., Youssef Y.A. 2004. Effect on fluorescent and light on mycotoxin production under different relative humidities in wheat grains. IJAB 6 (6), 1006-1012.
- [4] Atroshi F., Biese I., Saloniemi H. 2000. Significance of apoptosis and its relationship to antioxidants after ochratoxin A administration in mice. J. Pharm. Pharmaceut. Sci. 3 (3), 281-291.
- [5] Atroshi F., Rizzo A., Westermarck T., Ali-Vehmas T. 2002. Antioxidant nutrients and mycotoxins. Toxicology 180, 151-167.
- [6] Barka E. A., Kalantari S., Makhlouf, J., Arul, J. 2000a. Effects of UV-C irradiation on lipid peroxidation markers during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits. Aust. J. Plant. Physiol. 27(2), 147-152.
- [7] Barka E. A., Kalantari S., Makhlouf, J., Arul, J. 2000b. Impact of UV-C irradiation on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (tomato (*Lycopersicon esculentum* L.)). J. Aric. Food Chem. 48, 667-671.
- [8] Bartosz G. 2009. Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. PWN wydanie drugie zmienione s. 144, 149, 308.
- [9] Becatti E., Petroni K., Giuntini D., Castagna A., Calvenzani V., Serra G., Mensuali-Sodi A., Tonelli C., Ranieri A.M. 2009. Solar UV-B radiation influences carotenoid accumulation of tomato fruit through both ethylene-dependent and -independent mechanisms. J. Agric. Food Chem. 57, 10979-10989.
- [10] Bhattacharjee S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. Current Sci. 89 (7), 1113-1121.
- [11] Brown J. E., Lu T. Y., Stevens C., Khan V. A., Lu J. Y., Wilson C. L., Collins D.J., Wilson M. A., Igwegbe E. C. K., Chalutz E., Droby S. 2001. The effect of low dose ultraviolet light-C seed treatment on

induced resistance in cabbage to black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*). Crop Prot. 20, 873-883.

- [12] Cantos E., Espin J. C., Fernandez M. J., Oliva J., Tomas-Barberan F. A. 2003. Postharvest UV-C irradiated grapes as a potential source for producing stilbene-enriched red wines. J. Agric. Food Chem. 51, 1208-1216
- [13] Carvalho E., Franceschi P., Feller A., Palmieri L., Wehrens R., Martens S. 2013a. A targeted metabolomics approach to understand differences in flavonoid biosynthesis in red and yellow raspberries. Plant Physiol. Bioch. 72, 79–86.
- [14] Carvalho E., Fraser P. D., Martens S. 2013b. Carotenoids and tocopherols in yellow and red raspberries. Food Chem. 139, 744-752.
- [15] Cetin E.S. 2014. Induction of secondary metabolite production by UV-C radiation in *Vitis vinifera* L. Öküzgözü callus cultures. Biol. Res. 47(1), 37.
- [16] Chanjirakul K., Wang S. Y., Wang C.Y, Siriphanich J. 2006. Effect of natural volatile compounds on antioxidant capacity and antioxidant enzymes in raspberries. PBT40, 106-115.
- [17] Charles M. T., Mercier J., Makhoul J., Arul J. 2008. Physiological basis of UV-C-induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit I. Role of pre- and post-challenge accumulation of the phytoalexin-rishitin. PBT47, 10-20.Skrót
- [18] Charles M. T., Tano K., Asselin A., Arul J. 2009. Physiological basis of UV-C-induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit. V. Constitutive defense enzymes and inducible pathogenesis-related proteins. PBT51, 414-424.
- [19] Chen L., Xin X., Zhang H., Yu Q. 2013a. Phytochemical properties and antioxidant capacities of commercial raspberry varieties. J. Funct. Foods 5, 508-513.
- [20] Chen T., Xu Y., Wang J., Wang Z., Yang J., Zhang J., 2013b. Polyamines and ethylene interact in rice grains in response to soil drying during grainfilling. J. Exp.Bot. 64 (8), 2523–2538.
- [21] Chen Z., Young T. E., Ling J., Chang S.-C., Gallie D. R. 2003. Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling. Plant Biol. 100(6), 3525-3530

- [22] Cia P., Pascholati S. F., Benato E. A., Camili E. C., Santos C. A. 2007. Effects of gamma and UV-C irradiation on the postharvest control of papaya anthracnose. *PBT43*, 366-373.
- [23] Conklin P. L., Williams E.H., Last R. L., 1996. Environmental stress sensitivity of an ascorbic acid-deficient *Arabidopsis* mutant. *Plant Biol.* 93, 9970-9974.
- [24] Danon A., Gallois P., 1998. UV-C radiation induces apoptotic-like changes in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 437, 131-136.
- [25] Debnam P.M., Fernie A.R., Leisse A., Golding A., Bowsher C.G., Grimshaw C., Knightand J. S., Emes M. J. 2004. Altered activity of the P2 isoform of plastidic glucose6-phosphate dehydrogenase in tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) causes changes in carbohydrate metabolism and response to oxidative stress in leaves. *The Plant J.* 38, 49-59.
- [26] Deighton N., Brennan R., Finn C., Davies H. V. 2000. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *J.Sci. of Food Agr.* 80, 1307-1313.
- [27] De Michelis A. 2003. Parameters affecting pre-cooling, storage and transport of red raspberry fruits, individually frozen in discontinuous tunnels. Comparison among five varieties of *Rubus* sp. *Int. J. Refrig.* 26, 586-592.
- [28] D'hallewin G., Schirra M., Manueddu E., Piga A., Ben-Yehoshua S. 1999. Scoparone and scopoletin accumulation and ultraviolet-C induced resistance to postharvest decay in oranges as influenced by harvest date. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124 (6), 702-707.
- [29] D'hallewin G., Schirra M., Pala M., Ben-Yehoshua S. 2000. Ultraviolet C irradiation at 0,5 kJ·m⁻² reduces decay without causing damage or affecting postharvest quality of 'Star Ruby' grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.). *J. Agric. Food Chem.* 48, 4571-4575.
- [30] Durst F. 1976. The correlation of phenylalanine ammonia-lyase and cinnamic acid-hydroxylase activity changes in Jerusalem artichoke tuber tissues. *Planta* 132, 221-227.
- [31] Ebrahim S., Usha K., Bhupinder S. 2011. Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism. In: Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. A. Méndez-Vilas (Ed.).

- [32] Erkan M., Wang S. Y., Wang C. Y. 2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *PBT* 48, 163-171.
- [33] Falguera V., Pagán J., Garza S., Garvín A., Ibarz A. 2012. Inactivation of polyphenol oxidase by ultraviolet irradiation: Protective effect of melanins. *J. Food Eng.* 110, 305-309.
- [34] Fassatiova O. 1983. *Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej*. Wyd. Nauk. Techn. Warszawa, 268.
- [35] Fernández-Cruz M. L., Mansilla M. L., Tadeo J. L. 2010. Mycotoxins in fruits and their processed products: analysis, occurrence and health implications. *JAR* 1, 113-122.
- [36] Final report on plant protection products EGTOP /3/2011.
- [37] Fischer F. 2011. UV-ABC screens of luteolin derivatives compared to edelweiss extract. *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology* 103, 8-15.
- [38] Gao C., Xing D., Li L., Zhang L. 2008. Implication of reactive oxygen species and mitochondrial dysfunction in the early stages of plant programmed cell death induced by ultraviolet-C overexposure. *Planta* 227, 755-767.
- [39] Garcia-Palazon A., Suthanthangjai W., Kajda P., Zabetakis L. 2004. The effects of high hydrostatic pressure on β -glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Food Chem.* 88, 7-10.
- [40] Gill S.S., Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Bioch.* 48 (12), 909-30.
- [41] Giusti M. M., Wrolstad R. E. 2000. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Protocol F1.2, 1-10. CPFAC
- [42] González-Aguilar G. A., Zavaleta-Gatica R., Tiznado-Hernández M.E. 2007. Improving postharvest quality of mango 'Haden' by UV-C treatment. *PBT* 45, 108-116.
- [43] Grayer R. J., Kokobun T. 2001. Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry* 56, 253-263.

- [44] González E.M., de Ancos B., Cano M.P. 1999. Partial characterization of polyphenol oxidase activity in raspberry fruits. *J. Agric. Food Chem.* 47(10), 4068-72.
- [45] Griffiths D. W., Bain H., Dale M.F.B. (1992): Development of rapid colorimetric method for the determination of chlorogenic acid in freeze-dried potato tubers. *J. Sci. Food Agric.* 58, 41-48.
- [46] Haffner K., Rosenfeld H.J., Skrede G., Wang L. 2002. Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *PBT24*, 279-289.
- [47] Hall H. K., Hummer K. E., Jamieson A. R. Jennings S. N, Weber C. A. 2009. Raspberry breeding and genetics. *Plant breeding reviews* 32, 39–353.
- [48] Han C., Zhao Y., Leonard S.W., Traber M.G. 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus idaeus*). *PBT 33*, 67-78.
- [49] He J., Giusti M.M. 2010. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annu. Rev/Food Sci. and Technol.* 1, 163-187.
- [50] Hideg É., Jansen M. A.K., Strid Å. 2013. UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? *Trends Plant Sci.* 18(2), 107–115.
- [51] Holossy F. 2002. Effects of ultraviolet radiation to plant cells. *Micron* 33, 179-197.
- [52] Huvig A., Freimund S., Kappeli O., Dutler H. 2001. Mycotoxin detoxification of Animals feed by different adsorbents,; *Toxicol. Lett.* 122, 179-188.
- [53] Ionescu V., Catana M., Catana L., Negoita M., Iorga E., Balea A., Campeanu G. 2010. Evaluation of patulin contamination of apple juice, using high performance liquid chromatography. *Chem. Bull. "POLITEHNICA" Univ. (Timisoara)* 55 (69), 186-188.
- [54] Jansen M.A.K., Gaba V., Greenberg B.M. 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in Plant Sci.*, vol. 3, no. 4, p. 131-135.

- [55] Kalt W., Forney C.F., Martin A., Prior R.L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4638-4644.
- [56] Kermasha S., Goetghebeur M., Monfette A., Metche M., Rovel B. 1993. Studies on inhibition of mushroom polyphenol oxidase using chlorogenic acid as substrate. *J. Agr.Food Chem.* 41 (4), 526–531.
- [57] Keutgen A.J., Pobereźny J., Wszelaczyńska E., Murawska B., Spychaj-Fabisiak E. 2014. Wpływ przechowywania na procesy ciemnienia bulw ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) i ich właściwości prozdrowotne. *Inż. Ap. Chem.* 53, 2: 86-88.
- [58] Keutgen A. J., Pawelzik E. 2007. Modifications of Strawberry Fruit Antioxidant Pools and Fruit Quality under NaCl Stress. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4066-4072.
- [59] Keutgen A.J., Pawelzik E. (2008): Influence of pre-harvest ozone exposure on quality of strawberry fruit under simulated retail conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 10-18.
- [60] Khatami F., Ghanati F., 2011. Effects of UV radiation on cell viability, anthocyanin, and flavonoid contents of callus-cultured *Malva neglecta* cells. *IPCBE* vol. 3, 198-201.
- [61] Kinoshita, S., Masui H., Yosida S., Murata I. 1999. Radiation Hormesis. Stimulatory Effects of Low Level Ionizing Radiation on Plant. *Technol Rep Osaka Univ*, 49, No. 2338/2347, 19-28.
- [62] Krüger E., Dietrich H., Schöpplein E., Rasim S., Kürbel P. 2011. Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *PBT* 60, 31-37.
- [63] Lester G. E. 2000. Polyamines and their cellular anti-senescence properties in honey dew muskmelon fruit. *Plant Science* 160. 105-112.
- [64] Liu M., Li X. Q., Weber C., Lee C. Y., Brown J., Liu R. H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities on raspberries. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2926-2930.
- [65] Loarca-Piña G., Kuzmicky P. A., González de Mejía E., Kado N. Y. 1998. Inhibitory effects of ellagic acid on the direct –acting mutagenicity of aflatoxin B₁ in the *Salmonella* microsuspension assay. *Mutation Research* 398, 183-187.

- [66] López-Rubira V., Conesa A., Allende A., Artés F. 2005 Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. *PBT* 37 (2), 174–185.
- [67] Lütz C., Navakoudisb E., Seidlitzc H.K., Kotzabasis K. 2005. Simulated solar irradiation with enhanced UV-B adjust plastid- and thylakoid-associated polyamine changes for UV-B protection. *BBA1710*, 24-33.
- [68] Maharaj R., Arul J., Nadeau P. 1999. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *PBT* 15(1), 13–23.
- [69] Marcinowska J. 2003. Oznaczanie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin. Fundacja Rozwój SGGW. Warszawa, 328.
- [70] Marquenie D., Michiels C.W., Geeraerd A.H., Schenk A., Soontjens C., Van Impec J.F., Nicolaia B.M. 2002. Using survival analysis to investigate the effect of UV-V and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. *Int. J. Food Microbiol.* 73, 187-196.
- [71] McKenzie K. S., Sarr A.B., Mayura K., Bailey R.H., Miller D.R., Rogers T.D. , Norred W.P., Voss K.A., Plattner R.D., Kubena L.F., Phillips T.D. 1997. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins rising a novel source of ozone. *Food Chem. Toxicol.* 35, 807-820.
- [72] Mohammadi N., Mohammadi S., Abdossi V., Mashhadi A., Boojar A. 2012. Effect of UV-C radiation on antioxidant enzymes in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa) *JABS* 7(10), 860-864.
- [73] Aziz N. H., Smyk B. 2002. Influence of UV radiation and nitrosamines on the induction of mycotoxins synthesis by nontoxicogenic moulds isolated from feed samples. *Nahrung* 46 (2), 118 –21.
- [74] Aziz N. H., Mattar Z.A., Mahrous S.R. 2006. Contamination of grains by mycotoxin-producing molds and mycotoxins and control by gamma irradiation. *J. Food Safety* 26, 184-201.
- [75] Nigro F., Ippolito A., Lattanzio V., Di Venere D., Salerno M. 2000. Effects of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. *JPP* 82 (1), 29-37.
- [76] O'Brien I. E.W., Murray B. G., Baguley B.C., Morris B. A.M., Ferguson I. B. 1998a. Major changes in chromatin condensation

suggest the presence of an apoptotic pathway in plant cells. *Exp. Cell Res.* 241, 46-54.

- [77] O'Brien I. E.W., Baguley B. C, Murray B. G., Morris B. A. M., Ferguson I. B. 1998b. Early stages of the apoptotic pathway in plant cells are reversible. *The Plant Journal* 13 (6), 803-814.
- [78] O'Neill T., Wedgwood E., Berrie A. M., Allen J., Xu X. 2012. Managing grey mould on raspberry grown under protection without use of fungicides during flowering and fruiting. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 673-682.
- [79] Oszmianski J., Lee C.Y. 1990. Enzymic oxidative reaction of catechin and chlorogenic acid in a model system. *J. Agr. Food Chem.* 38 (5), 1202–1204.
- [80] Pala C.U., Toklucu A.K. 2011. Effect of UV-C light on anthocyanin content and other quality parameters of pomegranate juice. *J. Food Compos. Anal.* 24(6), 790-795.
- [81] Pala C.U., Toklucu A.K. 2013. Effects of UV-C light processing on some quality characteristics of grape juices. *Food Bioprocess Tech.* 6, 719–725.
- [82] Pan J., Vicente A. R., Martínez G. A., Chaves A. R., Civello P. M. 2004. Combined use of UV-C irradiation and heat treatment to improve postharvest life of strawberry fruit. *J. Sci.Food Agr.* 84 (14), 1831–1838.
- [83] Pan Y.-G., Zu H. Effect of UV-C radiation on the quality of fresh-cut pineapples. 2012. *Procedia Eng.* 37, 113-19.
- [84] Panova G.G., Chernousov I.N. 2008. Reaction of plants and concomitant microorganisms to the effect of UV-C radiation. *Radiobiology* 34(5), 312-314.
- [85] Perkins-Veazie P., Collins J. K., Howard L. 2008. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *PBT* 47, 280-285.
- [86] Perkins-Veazie P., Nonnecke G. 1992 Physiological changes during ripening of raspberry fruit. *Hortscience* 27(4), 331-333
- [87] Richter H., Pezet, R. Viret O., Gindro K. 2006. Characterization of 3 new partial stilbene synthase genes out of over 20 expressed in *Vitis*

vinifera during the interaction with *Plasmopara viticola*. *Physiol. Mol. Plant P.* 67, 248-260.

- [88] Rigotti S., Gindro K., Richter H., Viret O. 2002. Characterization of molecular markers for specific and sensitive detection of *Botrytis cinerea* Pers. in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) using PCR. *FEMS Microbiol. Lett.* 209, 169-174.
- [89] Roy M., Wu R. 2002. Overexpression of S-adenosymethionine decarboxylase gene in rice increases polyamine level and enhances sodium chloride-stress tolerance. *Plant Sci.* 163, 987-992.
- [90] Rybuś-Zajac M., Kubiś J. 2010. Effect of UV-B radiation on antioxidative enzyme activity in cucumber cotyledons. *Acta Biol. Cracov. Ser.Bot.* 52/2: 97-102.
- [91] Sakihama Y., Cohen M. F., Grace S. C., Yamasaki H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177, 67-80.
- [92] Sakihama Y., Mano J., Sano S., Asada K., Yamasaki H. 2000. Reduction of phenoxyl radicals mediated by monodehydroascorbate reductase. *BBRC* 279, 949-954
- [93] Sancho T., Giménez-Jurado G., Malfeito-Ferreira M., Loureiro V. 2000. Zymological indicators: a new concept applied to the detection of potential spoilage yeast species associated with fruit pulps and concentrates. *Food Microbiology* 17, 613-624.
- [94] Scalbert A., Manach C., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci.* 45(4), 287-306.
- [95] Schmidt-Heydt M., Rüfer C., Raupp F., Bruchmann A., Perrone G., Geisen R. 2011. Influence of light relevant fungi with emphasis on ochratoxin producing species. *Int. J. Food Microbiol.* 145, 229-237.
- [96] Schumpp O., Bruderhofer N., Monod M., Wolfender J.-L., Gindro K. 2012. Ultraviolet induction of antifungal activity in plants. *Mycoses* 55, 507-513.
- [97] Sexton R., Palmer J. M., Whyte N. A., Littlejohns S. 1997. Cellulase, fruit softening and abscission in red raspberry *Rubus idaeus* L. cv. Glen Clova. *Ann. Bot.* 80, 371-376.

- [98] Smirnoff N., Conklin P. L., Loewus F. A. 2001. Biosynthesis of ascorbic acid in plants: A renaissance. *Annu.Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 437-67.
- [99] Stevens C., Liu J., Khan V.A., Lu J.Y., Kabwe M.K., Wilson C.L., Igwegbe E.C.K., Chalutz E., Droby S. 2004. The effects of low-dose ultraviolet light-C treatment on polygalacturonase activity, delay ripening and *Rhizopus* soft rot development of tomatoes. *Crop Prot.* 23, 551-554.
- [100] Stevens C., Khan V.A., Lu J.Y., Wilson C.L., Pusey P.L., Kabwe M.K., Igwegbe E.C.K., Chalutz E., Droby S. 1998. The germicidal and hermetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeast microflora of peaches. *Crop Prot.* 17 (1), 75-84.
- [101] Stewart D., Iannetta P. P.M., Davies H. V. 2001. Ripening- related changes in raspberry cell wall composition and structure. *Phytochemistry* 56, 423-428.
- [102] Strik, B.C. 2007. Berry crops: Worldwide area and production systems. In *Berry Fruit: Value-Added Products for Health Promotion*, 1st ed.; Zhao, Y., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 3–51.
- [103] Szkutnicka K. 1979. Amoniakoliza L-fenyloalaniny (PAL).1. Charakterystyka, występowanie, zmiany aktywności i rola fizjologiczna enzymu w roślinach. *Wiad. Botan.* 23 (2), 89-101.
- [104] Takahama U., Tanaka M., Hirota S. 2008. Interaction between ascorbic acid and chlorogenic acid during the formation of nitric oxide in acidified saliva. *J.Agric. Food Chem.* 56 (21), 10406–10413.
- [105] Talburt W., Smith F.O. 1987. *Potato processing*. An. Avi. Book. Nostrand Reinhold Company, New York
- [106] Taze B.H., Unluturk S., Buzrul S., Alpas H. 2015. The impact of UV-C irradiation on spoilage microorganisms and colour of orange juice. *JFST* 52(2), 1000–1007.
- [107] Tournas V. H., Katsoudas E. 2005. Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits. *Int.l J. Food Microbiol.* 105, 11-17.
- [108] Tournas V.H., Stack M.E. 2001. Production of alternariol and alternariol methyl ether by *Alternaria alternata* grown on fruits at various temperatures, *J. Food Prot.* 64, 528-532.

- [109] Tsuda T., Kato Y., Osawa T. 2000. Mechanism for the peroxynitrate scavenging activity by anthocyanins. *FEBS Lett.* 484, 207-210.
- [110] Tulipani S., Mezzetti B., Capocasa F., Bompadre S., Beekwilder J., Ric de Vos C. H., Capanoglu E., Bovy A., Battino M. 2008. Antioxidants, phenolic compounds and nutritional quality of different strawberry genotypes. *J. Agric. Food Chem.* 56, 696-704.
- [111] Tzortzakis N., Taybi T., Roberts R., Singleton I., Borland A., Barnes J. 2011. Low-level atmospheric ozone exposure induces protection against *Botrytis cinerea* with down-regulation of ethylene-, jasmonate- and pathogenesis- related genes in tomato fruit. *PBT* 61, 152-159.
- [112] Ustawa z 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z dnia 27 września 2006 r.).
- [113] Vanamala J., Cobb G., Loaiza J., Yoo K., Pike L. M., Patil B. S. 2007. Ionizing radiation and marketing simulation on bioactive compounds and quality of grapefruit (*Citrus paradisi* cv. Rio Red). *Food Chem.* 105(4), 1404–1411.
- [114] Vicente A. R., Ortugno C., Powell A. L. T., Greve L. C., Labavitch J. M. 2007. Temporal sequence of cell wall disassembly events in developing fruits. 1. Analysis of raspberry (*Rubus idaeus*). *J. Agric. Food Chem.* 55, 4119-4124.
- [115] Viskelis P., Bobinaite R., Rubinskiene M., Sasnauskas A., Lanauskas J. 2012. Chemical composition and antioxidant activity of small fruits. w: Horticulture, Luna Maldonado A.I. (Ed.), InTech <https://www.intechopen.com/books/horticulture/chemical-composition-and-antioxidant-activity-of-small-fruits>
- [116] Volf I., Ignat I., Neamtu M., Popa V. I. 2014. Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols. *Chem. Pap.* 68 (1), 121–129.
- [117] Vukosavljević P., Bukvić B., Janković M., Mašović S. 2003. Change of anthocyanins content during raspberry extraction. *J. Agr.Sci.* 48, 1, 85-102.
- [118] Wang C. Y., 2003. Maintaining postharvest quality of raspberries with natural volatile compounds. *Int. J. Food Sci. Tech.* 38, 869-875.
- [119] Wang C.Y., Bowen J. H., Weir I. E., Allan A.C., Ferguson I. B. 2001. Heat-induced protection against death of suspension-cultured apple fruit cells exposed to low temperature. *Plant Cell Environ.* 24, 1199-1207.

- [120] Wang S. Y., Chen C.-T., Wang C. Y. 2009. The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries. *Food Chem.* 112, 676-684.
- [121] Wang S. Y., Lin H.-S. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 48, 140-146.
- [122] Wang Y., B. Zhou, M. Sun, LI Y., Kawabata S. 2012. UV-A light induces anthocyanin biosynthesis in a manner distinct from synergistic blue + UV-B light and UV-A/blue light responses in different parts of the hypocotyls in turnip seedlings. *Plant Cell Physiol.* 53, 1470 - 1480.
- [123] Wang Z., Xiao Y., Chen W., Tang K., Zhang L. 2010. Increased vitamin C content accompanied by an enhanced recycling pathway confers oxidative stress tolerance in *Arabidopsis*. *J. Integr. Plant Biol.* 52(4), 400-409.
- [124] Yamasaki H., Sakihama Y., Ikehara N. 1997. Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiol.* 115, 1405-1412.
- [125] Yamaski H. 1997. A function of colour. *Trends plant sci.* 2 (1), 7-8.
- [126] Zhang L., Zhao L. 2008. Production of nitric oxide under ultraviolet-B irradiation is mediated by hydrogen peroxide through activation of nitric oxide synthase. *J. Plant Biol.* 51(6), 395-400.
- [127] Zheng Y., Wang C. Y, Wang S. Y., Zheng W. 2003. Effect of high-oxygen atmospheres on blueberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* 51 (24), 7162–7169.

Załączniki

Załącznik 1 Ubytki masy [% św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C i przebywających w symulowanych warunkach sprzedaży w latach 2012-2013. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 0,05$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]				śr. B
	1	2	3	4	
0	4,97±1,32	9,94±2,92	16,01±3,34	21,91±3,60	13,21±0,63 n.i.
4	6,95±1,33	11,84±0,87	16,83±0,63	22,33±0,84	14,49±0,57 n.i.
8	4,07±0,43	10,82±1,65	13,22±0,75	22,06±1,86	12,54±0,64 n.i.
12	5,19±0,99	10,37±1,67	15,31±2,04	20,75±2,01	12,90±0,58 n.i.
16	6,00±0,36	10,08±1,85	14,82±2,19	20,08±1,82	12,74±0,53n.i.
20	5,67±1,72	10,96±2,69	16,40±3,47	22,34±3,61	13,84±0,62 n.i.
24	5,62±1,28	11,01±1,71	16,31±1,80	22,04±1,26	13,75±0,61 n.i.
śr. A	5,50±0,83 D	10,72±0,60 C	15,56±1,14 B	21,64±0,81 A	

NIR (test Tukey'a): A=0,025 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Załącznik 2 Ubytki masy [% św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C i przebywających w symulowanych warunkach sprzedaży w latach 2012-2014. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 0,05$

dawka [min.]	dzień		
	1	2	śr. B
0	3,76±2,03	7,12±4,65	5,44±1,7n.i.
8	4,40±2,90	9,06±4,99	6,73±2,3n.i.
20	4,44±2,44	8,07±5,07	6,25±1,81 n.i.
śr. A	4,20±0,31 B	8,08±0,79	

NIR (testTukey'a): A=0,029 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Załącznik 3 Zawartość kwasu askorbinowego [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ św. m.] owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C i przebywających w symulowanych warunkach sprzedaży w latach 2012-2013. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 0,05$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					śr. B
	0	1	2	3	4	
0	134,1±36,7	103,4±16,9	96,2±17,5	103,9±3,6	106,5±4,7	108,8±13,1 d
4	140,5±28,8	105,1±15,8	102,9±19,5	107,1±1,0	112,5±5,6	113,6±13,8 cd
8	144,1±26,1	123,2±16,5	120,6±1,3	126,2±8,9	114,9±2,2	125,8±9,9 bc

12	169,5±42,2	119,5±18,7	125,5±1,4	130,2±1,1	119,4±2,9	132,8±18,8 ab
16	163,7±26,0	112,4±27,8	133,0±6,1	141,2±6,1	126,1±10,2	135,3±17,1 ab
20	177,7±30,2	114,6±19,8	129,0±12,5	142,5±5,1	125,8±14,5	137,9±21,8 ab
24	187,5±38,0	119,7±16,9	132,4±15,4	152,8±10,5	118,2±25,0	142,1±25,9 a
śr. A	159,6±18,8 A	114,±6,9 C	119,70±13,6 BC	129,1±17,0 B	117,6±6,5 C	

NIR (test Tukey'a): A=1,033 B=1,322 B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 4 Zawartość kwasu askorbinowego [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 0,05$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]			śr. B
	0	1	2	
0	116,1±39,3 bA	125,1±33,6 bA	11,1±51,3bA	124,1±6,1 b
8	141,5±21,6 bA	151,6±42,3 aA	150,5±42,4aA	147,9±4,5 a
20	193,7±33,5 aA	150,2±46,6 aB	159,5±44,3 bAB	167,8±18,7 a
śr. A	150,4±32,3 n.i.	142,3±12,2 n.i.	147,0±11,9 A n.i.	

NIR (test Tukey'a): A=n.i. B=2,002 B/A=3,468 A/B=3,468

Załącznik 5 Zawartość związków fenolowych ogółem [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ św.m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 0,05$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					
	0	1	2	3	4	śr. B
0	2766,2±628,4	3209,4±563,1	3562,0±1055,2	2994,5±188,4	3985,5±692,4	3303,5±430,1n.i.
4	2661,8±291,4	3351,4±378,6	3491,4±1036,9	2828,6±40,2	4301,2±1342,7	3326,9±577,5n.i.
8	2887,8±381,0	3288,8±414,3	3493,8±937,6	3044,1±171,3	3398,9±481,5	3222,7±224,9n.i.
12	2780,7±152,6	3317,0±145,0	3466,4±951,1	2788,8±299,3	3431,4±374,6	3142,0±295,8n.i.
16	2543,8±150,8	3353,6±603,3	3548,4±1153,5	2690,1±157,3	3334,4±218,6	3058,3±384,0n.i.
20	2773,5±351,2	1571,3±471,6	3348,4±1120,2	3137,6±821,5	3096,4±250,2	3109,4±192,0n.i.
24	2913,6±406,1	1410,6±391,0	3172,9±734,1	2973,2±658,7	3050,9±288,4	3060,6±104,4n.i.
śr. A	2761,0±C117,7	3273,0±67,6AB	3440,5±126,8A	2922,4±146,1BC	3476,9±446,1A	

NIR (test Tukey'a): A=41,977 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 6 Zawartość związków fenolowych [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania i przebywających w symulowanych warunkach sprzedaży w latach 2012-2014. Literami oznaczono grupy jednorodnie przy $p \leq 0,05$

dawka [min.]	dzień			śr. B
	0	1	2	
0	2586,7±572,5	2599,7±977,2	2840,6±1335,3	2675,6±116,8 n.i.
8	2650,4±457,7	2671,1±936,7	2818,2±1224,3	2713,2±74,7 n.i.
20	2349,7±664,3	2559,3±1008,6	2650,1±1345,9	2519,7±125,8 n.i.
śr. A	2528,9±129,3 n.i.	2610,0±46,3 n.i.	2769,7±85,0 n.i.	

NIR (test Tukey'a): A=n.i. B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 7 Zawartość antocyjanów [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ św.m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 0,05$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					śr. B
	0	1	2	3	4	
0	432,1±49,7	531,7±40,5	613,0±12,6	605,9±17,3	556,0±28,1	547,7±65,3 n.i.
4	410,7±89,1	514,9±76,2	616,8±5,2	464,5±35,2	627,9±49,7	527,0±84,6 n.i.
8	531,6±130,6	523,6±68,7	718,4±23,3	553,3±23,3	553,8±110,6	577,4±71,4 n.i.
12	467,4±94,2	550,0±83,3	683,8±35,3	621,7±99,4	524,5±87,1	569,5±75,6 n.i.
16	410,5±114,8	585,3±56,1	561,2±13,4	753,7±287,1	468,4±106,1	555,8±117,3 n.i.
20	450,9±73,6	527,6±71,2	618,1±72,3	561,3±2,9	536,3±96,0	538,8±54,1 n.i.
24	451,4±15,5	532,4±81,4	537,0±111,4	565,1±63,0	544,1±88,2	526,0±39,0 n.i.
śr. A	451,5±40,4 B	537,9±21,7AB	621,2±58,7 A	589,4±81,5 A	544,4±43,7AB	

NIR (test Tukey'a): A=12,497 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 8 Zawartość antocyjanów [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]			
	0	1	2	śr. B
0	375,7± 89,5	559,3±51,2	626,0± 21,1	520,3±105,9 n.i.
8	476,5± 148,6	637,9± 42,7	679,2±73,1	597,8±87,4 n.i.
20	408,8±84,6	537,0±59,7	677,3± 102,5	541,0±109,7 n.i.
śr. A	420,3±42,0 B	578,0±43,3 A	660,8±24,6 A	

NIR (test Tukey'a): A=11,258 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 9 Zdolność antyoksydacyjna [$\text{mmol Fe}^{2+}\cdot\text{kg}^{-1}$ św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					
	0	1	2	3	4	śr. B
0	133,9±21,0 abC	270,9±4,1 aA	266,5±26,6abA	171,2±13,4abBC	257,1±1,2 aAB	219,9±56,4 ab
4	134,3±33,4 abB	269,5±19,3aA	217,6±21,5 abAB	206,3±12,5abAB	229,5±37,2 abA	211,5±44,1 ab
8	155,1±20,5 aB	262,8±17,6 aA	274,1±23,4 aA	228,2±10,9 aAB	196,7±36,4abAB	223,4±43,7 a
12	165,5±32,2 abC	219,2±4,1 abAB	240,1±32,6 abA	165,3±3,7 abC	167,8±13,3 abBC	191,6,±31,8 ab

16	181,3±9,1 bC	184,5±1,0 abAB	204,4±47,7 bA	164,9±7,5 bC	149,5±7,6 bBC	176,9±18,6 b
20	198,8±16,0abC	209,0±13,2abAB	222,4±64,6 abA	153,9±2,4 abC	193,5±24,5abBC	195,5±23,0 ab
24	197,3±4,2 bC	150,0±48,5 bAB	201,3±43,5 bA	157,2±15,6 bC	185,9±21,2 abBC	178,3±20,9 b
śr. A	166,6±25,2 C	223,7±43,2 AB	232,4±26,8 A	178,1±26,0 C	197,1±33,6 bc	

NIR (test Tukey'a): A=3,435 B= 4,393 B/A= 9,823 A/B=9,088

Załącznik 10 Zdolność antyoksydacyjna [mmol Fe²⁺·kg⁻¹ św. m.] owoców maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania w symulowanych warunkach sprzedaży w latach 2012-2014. Literami oznaczono grupy jednorodne przy p ≤ 005

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]			
	0	1	2	śr. B
0	201,9±97,7	286,2±21,9	277,9±27,0	255,3±37,9 n.i.
8	216,1±87,9	281,0±29,4	293,9±33,9	263,7±34,1 n.i.
20	240,4±60,2	242,8±49,1	269,8±85,3	251,0±13,3 n.i.
śr. A	219,4±15,9 B	270,0±19,3 A	280,6±10,0 A	

NIR (test Tukey'a): A=4,639 B= n.i. B/A= n.i. A/B= n.i.

Zał. 11 Zawartość kwasu chlorogenowego [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013 Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					
	0	1	2	3	4	śr. B
0	5045,4±888,3	6021,8±1190,2	7267,9±960,0	7674,8±2482,8	7551,3±2134,5	6712,2±1019,2 n.i.
4	5037,0±794,8	5502,3±1175,5	7376,4±1282,4	6844,6±17143,3	7309,7±1982,5	6414,0±963,4 n.i.
8	5716,3±1249,5	5882,6±1165,2	7108,0±663,6	7013,3±1948,9	7653,6±2522,4	6674,7±749,2 n.i.
12	5295,3±959,3	5708,3±1440,9	7497,1±615,8	7030,8±1694,4	7784,0±2419,4	6663,1±986,9 n.i.
16	5403,3±522,4	5703,1±910,3	7847,2±138,2	7002,6±1661,3	7158,2±1422,2	6622,9±923,4 n.i.
20	5543,9±1047,8	6200,6±1204,7	7823,9±556,5	6940,4±1542,7	8054,3±1661,2	6912,6±950,3 n.i.
24	5545,6±1044,0	6443,7±1574,1	8290,1±81,2	7132,8±1959,5	7497,3±1691,9	6981,9±933,0 n.i.
śr. A	5369,5±240,2 B	5923,2±300,2 B	7601,5±378,0A	7091,3±251,7 A	7572,6±275,3 A	

NIR (test Tukey'a): A=97,741 B= n.i. B/A= n.i. A/B=n.i.

Załącznik 12 Zawartość kwasu chlorogenowego [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]			
	0	1	2	śr. B
0	4834,0±784,5	6101,6±978,3	9036,0±2620,5	6657,2±1759,9
8	5325,3±1160,4	7359,0±2294,4	8328,0±1808,5	7004,1±1251,3
20	5664,2±872,3	7410,5±1973,6	8504,0±1063,8	7192,9±1169,5
śr. A	5274,5±340,8 C	6957,0±605,2 B	8622,7±301,0 A	

NIR (test Tukey'a): A=99,747 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Załącznik 13 Zawartość cukrów redukujących [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2013. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					śr. B
	0	1	2	3	4	
0	29,3±0,4	31,9±2,8	37,6±0,4	29,6±4,9	31,3±13,1	32,0±3,0 a
4	29,0±4,4	29,5±0,1	36,0±2,3	29,0±4,9	35,5±7,6	31,8±3,2 ab
8	29,1±3,3	26,7±1,9	35,6±0,6	28,5±6,7	28,1±1,6	29,6±3,1 abc

12	27,9±4,5	25,7±0,6	31,3±1,8	24,2±6,5	29,8±0,8	27,8±2,6 abc
16	25,2±3,0	28,5±0,9	28,8±2,7	23,6±3,8	29,1±1,9	27,1±2,2 bc
20	27,4±3,4	28,4±0,2	27,1±1,1	23,4±7,7	27,3±3,0	26,7±1,7 c
24	29,0±3,2	27,4±1,0	24,3±2,4	23,2±3,8	28,5±1,6	26,5±2,3 c
śr. A	28,1±1,3 AB	28,3±1,9 AB	31,5±4,7 A	25,9±2,7 B	29,9±2,6 A	

NIR (test Tukey'a): A=0,381 B=0,487 B/A= n.i. A/B= n.i.

Załącznik 14 Zawartość cukrów redukujących [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ św. m.] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2012-2014. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 0,05$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]			śr. B
	0	1	2	
0	433,9±6,9	38,4±9,5	41,7±5,8	38,0±3,2 a
8	33,8±7,2	33,8±10,2	39,5±5,6	35,7±2,7ab
20	33,0±8,4	32,7±6,1	32,5±7,7	32,7±0,2 b
śr. A	33,5±0,4 B	35,0±2,5 AB	37,9±3,9 A	

NIR (test Tukey'a): A=0,415 B=0,415 B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 15 Obecność grzybów pleśniowych ogółem ln (jtk+1)] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2013-2014. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					śr. B
	0	1	2	3	4	
0	3,63±0,25	2,79±1,24	3,19±0,70	2,70±1,30	2,79±0,45	3,02±0,35 n.i.
8	3,40±0,53	3,32±0,68	3,06±0,18	2,64±1,09	3,15±0,32	3,11±0,26 n.i.
20	3,57±0,52	2,80±0,81	3,00±0,61	2,80±0,89	2,69±0,57	2,97±0,31 n.i.
śr. A	3,53±0,10 A	2,97±0,25 AB	3,08±0,08 AB	2,71±0,06 B	2,88±0,20 B	

NIR (test Tukey'a): A=0,651 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 16 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Acremonium* ln (jtk+1)] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2013-2014. Literami oznaczono grupy jednorodne przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					śr. B
	0	1	2	3	4	
0	0,21±0,24	0,30±0,34	0,23±0,40	0,00±0,00	0,00±0,00	0,15±0,34 n.i.
8	0,36±0,37	0,84±0,85	0,09±0,16	0,13±0,23	0,12±0,20	0,31±0,68 n.i.
20	0,19±0,22	0,23±0,39	0,23±0,23	0,06±0,10	0,00±0,00	0,14±1,07 n.i.

śr. A	0,25±0,07AB	0,46±0,28 A	0±0,07 AB	0,06±0,05 B	0,04±0,05 B
-------	--------------------	--------------------	------------------	--------------------	--------------------

NIR (test Tukey'a): A=0,359 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 17 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Penicillium* ln (jtk+1)] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2013-2014. Literami oznaczono grupy jednorodnie przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					śr. B
	0	1	2	3	4	
0	1,41±0,92	0,65±0,74	0,64±0,68	0,36±0,37	0,21±0,21	0,65±0,41n.i.
8	1,04±1,09	0,88±1,07	0,65±0,69	0,73±0,63	0,80±0,59	0,82±0,13n.i.
20	1,09±1,01	0,65±0,52	0,44±0,64	1,02±0,73	0,28±0,37	0,70±0,31n.i.
śr. A	1,18±0,17 A	0,73±0,11 AB	0,58±0,10 AB	0,70±0,27 AB	0,43±0,27 B	

NIR (test Tukey'a): A=0,679 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.

Zał. 18 Obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Rhizopus* ln (jtk+1)] w owocach maliny odmiany 'Polka' poddanych promieniowaniu UV-C podczas trwania symulowanych warunków sprzedaży w latach 2013-2014. Literami oznaczono grupy jednorodnie przy $p \leq 005$

czas [min.]	symulowane warunki sprzedaży [dzień]					śr. B
	0	1	2	3	4	
0	1,69±1,22	1,08±1,28	1,08±1,10	1,07±0,86	0,37±0,64	1,06±0,42

8	1,52±1,54	1,24±1,33	1,04±1,00	0,66±0,59	0,57±0,98	1,01±0,36
20	1,58±1,59	1,20±1,22	1,05±1,09	0,69±0,79	0,68±0,87	1,04±0,34
śr. A	1,60±0,07 A	1,17±0,07 AB	1,06±0,02 AB	0,81±0,19 B	0,54±0,13 B	

NIR (test Tukey'a): A=0,774 B=n.i. B/A=n.i. A/B=n.i.