המעבדה למו"פ אחסון פירות
קרית שמונה
טל. 04-6817421, 04-6940208, פקס. 04-6940113
www.fruitlab.co.il
E-mail: fruit.storage.lab@gmail.com

ניסויי אפרסק-נקטרינה

דו"ח לשנת 2014

טלי גולדברג, דני גמרסני, אוהד נריה, אלה צבילינג,
היבא איברהים, סיון מרגלית, זוהר דרומר,
רות בן-אריה

אפריל 2015

תקציר

בעונה 2014 בוצעו ניסויי אפרסק-נקטרינה הבאים: (א) פיתוח שיטה לאבחון עסיסיות בפירות; (ב) שימוש באולטרסאונד לעיכוב התפתחות גורמי ריקבון בצלחות פטרי ועל גבי הפירות. בניסוי לבחינת העסיסיות, אוחסנו הפירות למשך 5 שבועות בתנאים שעודדו היווצרות נזקי צינה. במהלך תקופת האחסון נדגמו מהאחסון פירות ונבחנה מידת עסיסיותם. נמצא כי עסיסיות הפירות יורדת במהלך האחסון ובאופן חד יותר במהלך חיי-מדף. כמו-כן נמצא קשר חזק ומובהק בין מדדי העסיסיות: אחוז המיץ, מוצקות אקוסטית ומבחן טעם.

בניסוי לבחינת עיכוב התפתחות גורמי הריקבון ע"י טיפול אולטרסוני, מבחנות תרחיפי נבגים של פטריות מסוג עובש אפור (*Botrytis cinerea*) ועובש כחול (*Penicillium expansum*) נחשפו לגלי אולטרסאונד בתנאים שונים של עוצמה, טמפ' ומשך זמן. לאחר הטיפול נזרעו דוגמאות בצלחות פטרי ונערך מעקב אחר התפתחות הפטריות בצלחות. בנוסף, פירות נקטרינה עברו טיפול אולטרסוני לאחר שאולחו בנבגי פניציליום. נמצאה השפעה מובהקת של טמפ' החשיפה על כמות הנבגים שהתפתחו בצלחות וכן שימוש בגלי US ב-40°C למשך 5 דק' עכב את התפתחות הרקבונות במהלך חיי מדף של הפרי.

פיתוח שיטה לאבחון עסיסיות אפרסק ונקטרינה

מבוא

אחד הגורמים המגבילים את משך האחסון של פירות אפרסק ונקטרינה הינו התכלות פיזיולוגית של הפרי המתבטאת בנזקים הנגרמים בעיקר בציפת הפרי הכוללים האדמה והתפרקות של הציפה המתחילה באזור בית הגלעין. בנוסף, הפרי מאבד את עסיסיותו ומתקבל מרקם ספוגי (mealiness). השינויים הללו בציפת הפרי מיוחסים לנזקי צינה, משמע נזקים כתוצאה מאחסון ממושך בטמפרטורה נמוכה. עפי"ר נזקים אלו לא נראים מבחוץ אך הם פוגמים קשות בטעם הפרי ולכן יש חשיבות רבה לפיתוח כלי מדידה, הניתן לבדיקה ע"י פקחים ברשתות השיווק, לניתור עסיסיות אפרסק ונקטרינה.

מטרת הניסוי

פיתוח כלי מדידה פשוט ויעיל, הניתן לבדיקה על-ידי פקחים ברשתות השיווק, לניתור עסיסיות אפרסק ונקטרינה הסובלים מחוסר עסיסיות כתוצאה מנזקי צינה.

חומרים ושיטות

פירות נקטרינה מזן 820 נאספו ממטע אורטל בתאריך ה- 18.08.14 והובאו למעבדה ביום הקטיף. הפרי אוחסן בקירור ב- 4°C למשך 5 שבועות, באוויר רגיל, תנאים שצפויים לעודד היווצרות נזקי צינה. כל שבוע הוצאו מדגמי פרי לבדיקות שנערכו הן במועד ההוצאה והן בתום 3 ימי חיי מדף (20°C, 65% לחות).

הבדיקות כללו:

א. סחיטת מיץ מפיסת פרי שקולה בעזרת "כותש שום" וחישוב אחוז המיץ החופשי.

ב. בחינת מוצקות אקוסטית, ללא הרס (יחידות firmness index-FI) במכשיר תוצרת חברת AWETA. המכשיר בודק את תגובת הפירות לדחף מכאני בתחום תדר מוגדר. מיקרופון קטן לוכד את הרטט המוחזר מהפרי ובוחן אותו ביחס למשקל הפרי.
בבדיקות שערכנו בעבר בפירות שונים בעזרת מכשירים דומים נמצא מתאם גבוה בין שיעור המים החופשיים בפרי לערכי המדידה של המכשיר.

ג. השיטות המצוינות לעיל הושוו למבחני טעימה, בדגש על עסיסיות הפרי (מדד 10-1), שנערכו על-ידי צוות מיומן.

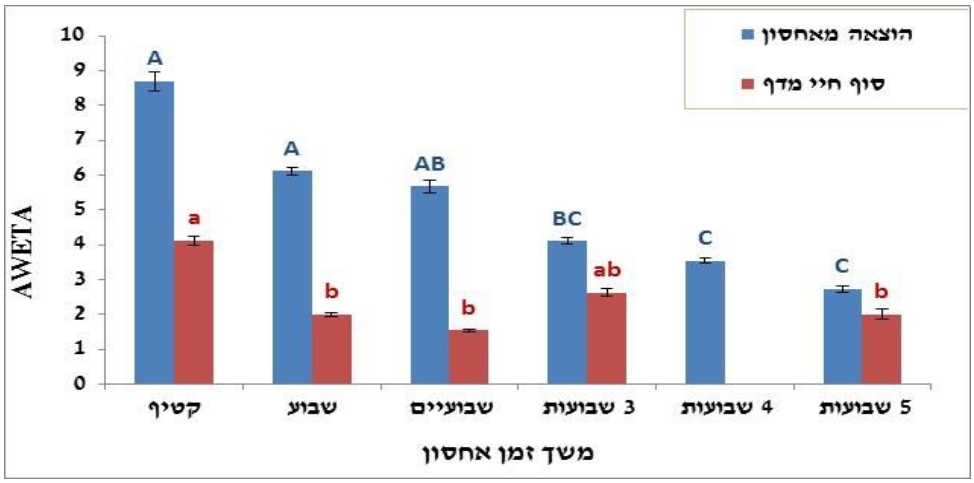
ניתוח סטטיסטי

להבדלים במדדי העסיסיות (אחוז מיץ, מוצקות אקוסטית, מבחן טעם) בין מועדי ההוצאה מאחסון, נערכו מבחני שונויות חד-כיווניים (One way Anova).
לבדיקת הקשר בין מדדי העסיסיות, עם ההוצאה מהאחסון ולאחר 3 ימים בחיי מדף בנפרד, נערכו מבחני קורלציות (פירסון) כאשר כל מועד בדיקה שמש כחזרה.

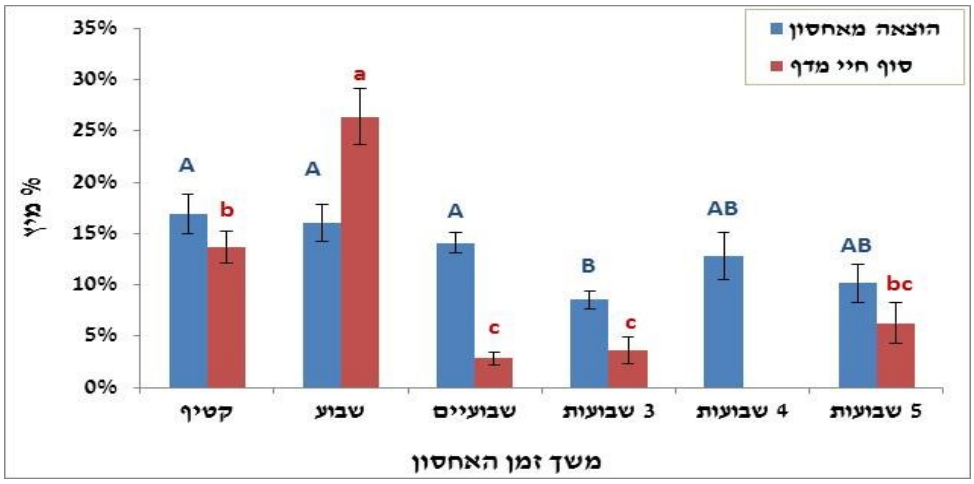
תוצאות

בחינת השפעת משך האחסון על מדדי העסיסיות

עסיסיות המיץ נבחנה בצורה ישירה על-ידי סחיטת מיץ מפיסת פרי, בעזרת כותש שום ובמבחני טעימה וכן בצורה עקיפה על-ידי בחינת המוצקות האקוסטית של הפרי.
נמצא כי ככל שמשך זמן האחסון התארך, עסיסיות הפירות ירדה ביחס לעסיסיות פירות הקטיף וכן ניכר כי מידת העסיסיות בחיי מדף נמוכה ביחס לעסיסיות הפירות בעת ההוצאה מאחסון (איורים 3-1). על-פי מדידת המוצקות האקוסטית ואחוז המיץ, הרי שלאחר 3 שבועות אחסון (בעת ההוצאה) עסיסיות הפרי ירדה ביחס לעסיסיות פירות הקטיף ואילו בחיי מדף העסיסיות ירדה כבר לאחר שבוע על-פי מדידת המוצקות (איור 1) או שבועיים על-פי מדידת אחוז המיץ (איור 2).

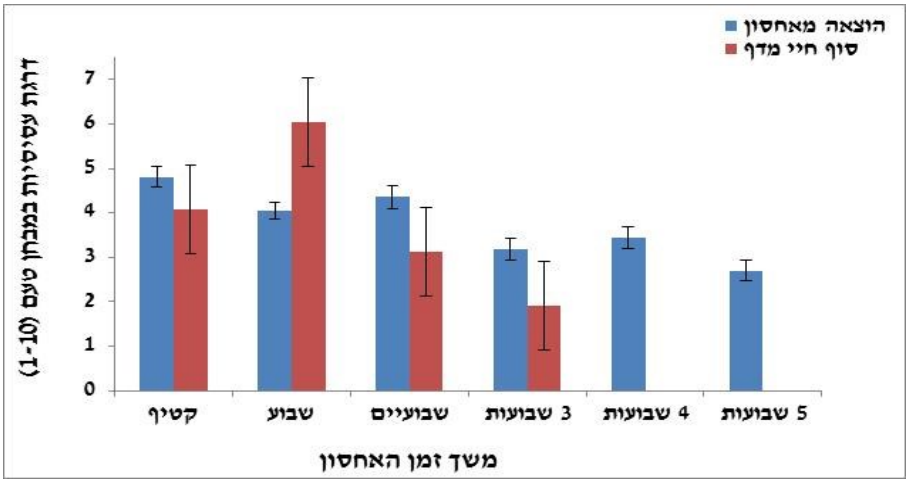


איור 1 : עסיסיות פירות נקטרינה ע"פ סחיטת הפרי בהוצאה מאחסון ובסוף חיי מדף.
A-C–הבדלים מובהקים בין מועדי הבדיקות, בעת ההוצאה מאחסון ($p<0.05$) ;
a-b–הבדלים מובהקים בין מועדי הבדיקות, בסוף חיי מדף ($p<0.05$).



איור 2: מוצקות אקוסטית של פירות נקטרינה בהוצאה מאחסון ובסוף חיי מדף.
A-C–הבדלים מובהקים בין מועדי הבדיקות, בעת ההוצאה מאחסון ($p<0.05$);
a-b–הבדלים מובהקים בין מועדי הבדיקות, בסוף חיי מדף ($p<0.05$).

גם במבחני הטעימה נמצאה עפי"ר מגמה כללית של ירידה בעסיסיות ככל שמשך זמן האחסון התארך (הבדלים לא מובהקים) וכן ניכר, בדומה למדדי המוצקות ואחוז המיץ, כי בסוף חיי מדף העסיסיות נמוכה ביחס למועד ההוצאה מהאחסון (איור 3).



איור 3: מידת עסיסיות פירות נקטרינה במבחני טעימה בהוצאה מאחסון ובסוף חיי מדף.

קורלציה בין מדדי העסיסיות

בעת ההוצאה מאחסון נמצא קשר חזק ומובהק בין שלושת מדדי העסיסיות: אחוז המיץ, מוצקות אקוסטית ומבחן טעם; בתום חיי מדף נמצאה קורלציה רק בין אחוז המיץ לעסיסיות במבחן הטעם (טבלה 1).

טבלה 1: קורלציות בין % המיץ, מוצקות אקוסטית ומבחן טעם

מדדים	מועד בדיקה	R	*p-value*
אחוז המיץ – מבחן טעם	הוצאה מקירור	0.77	0.021
	חיי מדף	0.95	0.050
אחוז המיץ – מוצקות אקוסטית	הוצאה מקירור	0.83	0.041
	חיי מדף		ל.מ
מוצקות אקוסטית – מבחן טעם	הוצאה מקירור	0.94	0.005
	חיי מדף		ל.מ

סיכום

מטרת ניסוי זה היא פיתוח של כלי מדידה, הניתן לבדיקה על-ידי פקחים ברשתות השיווק, לניתור עסיסיות אפרסק ונקטרינה הסובלים מחוסר עסיסיות. מכיוון שאין בידנו כלי אוביקטיבי, קל ונוח לבדיקה, ניתן להיעזר בבדיקה ישירה של אחוז המיץ על-ידי סחיטת פיסת פרי בעזרת כותש שום או בבדיקה עקיפה של המוצקות האקוסטית, באמצעות מכשיר ה-AWETA. עסיסיות הפרי שנמדדה הינה בקורלציה גבוהה (R=0.83) ומובהקת עם ערכי המוצקות האקוסטית בעת הוצאת הפירות מאחסון.

שימוש במדד המוצקות באמצעות מכשיר AWETA עשוי לאפשר חיזוי של התפתחות נזקי צינה במהלך אחסון קר, כאשר הפרי מאבד את עסיסיותו ומתקבל מרקם ספוגי (Hale et al 2013).

כדי לבסס את מימצאי עונת 2014, אנו ממליצים:

1. למדוד את עסיסיות הפרי (Lill and van der Mespel, 1988) על-פי הפרוטוקול המצורף בנספח 1 ולודא שאחוז המיץ בשיטת "כותש השום" קורלטיבית לשיטה המדויקת המופיעה בפרוטוקול.
2. לבצע את הניסוי במהלך עונה נוספת בה ייבחנו שוב הקורלציות בין מדדי העסיסיות: אחוז המיץ על-פי כותש שום, מוצקות אקוסטית ומבחן טעם להגדרת העסיסיות.

ספרות מצוטטת

Hale, G., Lopresti, J., Stefanelli, D., Jones, R. and Bonora, L. 2013. **Using non-destructive methods to correlate chilling injury in Nectarines with fruit maturity**. Acta Hort. (ISHS) 1012:83-89

Lill, R.E., and Van der Mespel, G.J., 1988. **A method for measuring juice content of mealy nectarines**. Sci. Hortic.,36: 267-271.

נספח 1

חישוב עסיסיות בפירות Expressible Juice (% w/w)

(א) הוצאת גליל פרי באורך של כ-2 ס"מ ושקילתו.

(ב) כתישת הגליל במכתש ועלי והעברה לאפנדורף.

(ג) סירכוז, הפרדת הנוזל ושקילתו.

שימוש באולטרסאונד לעיכוב התפתחות גורמי ריקבון בצלחות פטרי ועל-גבי הפירות

מבוא

בשנים האחרונות ניכר מאמץ מחקרי נרחב בחיפוש אחר שיטות חלופיות להדברת פטריות באמצעים פיזיקליים וביולוגיים. אחת השיטות הפיזיקליות שעשויה להיות חלופה להדברת פטריות הינה שימוש בגלי קול אולטרסוניים (על שמע). העקרון הפיזיקלי של פעולת הגלים מבוססת על תופעת הקוויטציה (Cavitation), שעיקרה הוא יצירת גל אולטרסוני בתדירות גבוהה ושידורו בתוך נוזל. תנועת הגלים בנוזל מייצרת בועות זעירות המתפוצצות ומכות במשטחי הפנים של גופים הטבולים בו והכח המכני הנוצר בתהליך זה מאופיין על ידי זרמים סילוניים מקרוסקופיים המגרדים שכבות מיקרוניות משטח הפנים, שכבה אחר שכבה. תוצאות הגרוד של מיליארדי הבועיות היא ניקוי השכבות החיצוניות של הגוף המוטבל לעומק המותנה בזמן ההשריה, כאשר תוצרי הגרוד נשארים בנוזל או מתמוססים. מתקנים אלו הפועלים על אנרגיה אולטרסונית אנרגית הגלים מסוגלת להשמיד פטוגנים וגורמי מחלות ובכך להקטין את ריכוזם באופן משמעותי ולהביא להגברת יעילות החיטוי, ללא כימיקלים (Ramos et al. 2013).

במהלך עונת 2014 בוצעו במעבדה לקירור שני ניסויים לבחינת עיכוב התפתחות גורמי ריקבון לאחר טיפול אולטרסוני.

מטרות הניסויים

- עיכוב התפתחות נבגי עובש אפור (*Botrytis cinerea*) ועובש כחול (*Penicillium expansum*) בצלחות פטרי לאחר חשיפתם ל-US.
- בדיקת ההשפעה של חשיפת פירות נקטרינה ל-US בעוצמות שונות על עיכוב התפתחות הריקבון בפירות.

ניסוי 1: שימוש באולטרסאונד לעיכוב התפתחות מושבות בוטריטיס ופניצליום בצלחות

חומרים ושיטות

פטריות מסוג עובש אפור (*Botrytis cinerea*) ועובש כחול (*Penicillium expansum*) בודדו מפרי נגוע וגודלו בצלחות פטרי על מצע PDA. הנבגים הורחפו במים מזוקקים ובוצעו מיהולים עד הגעה לריכוז 10^6/ml. תרחיף הנבגים חולק למבחנות אטומות לקראת טיפול במכשיר האולטראסאונד (US) אשר נעשה על-פי מספר גורמים: זמן החשיפה (5 או 10 דקות), טמפרטורת החשיפה (20 מ״צ, 40 מ״צ), עוצמת החשיפה (נקבעה ע״י נפח המים באמבט: עוצמה X– אמבט מלא, 6 ליטר מים; עוצמה 2X– מילוי חצי מנפח האמבט, 3 ליטר מים.

לאחר הטיפול נזרעו 20µl ו-200µl מכל אחד מתרחיפי הנבגים בצלחות על גבי מצע PDA ונשמרו באינקובטור ב-37 מ״צ. נערך מעקב אחר התפתחות הפטריות בצלחות.

תוצאות

בניסוי זה מוצגות תוצאות הזריעה של 20µl בלבד מכיוון שבתוצאות הזריעה של צלחות ה- 200µl התקבלו ספירות דשא. בכל טיפולי הניסוי לא עוכבו נבגי הפניציליום ואילו צלחות הבוטריטיס עוכבו כלהלן (טבלאות 3-1):

<u>השפעת עוצמת החשיפה על גידול המושבות בצלחת (טבלה מס' 1)</u>: טיפולי ה-US בעוצמה X ובעוצמה 2X הפחיתו את כמות המושבות של בוטריטיס בצלחות ביחס לביקורת (למעט הטיפול של 10 דקות, 20 מ"צ). בהשוואה בין עוצמה X לעוצמת 2X, עבור כל אחד מהגורמים הנבדקים, לא נראו הבדלים בעיכוב התפתחות המושבות.

<u>השפעת הטמפ' על גידול המושבות בצלחת (טבלה מס' 2)</u>: בחשיפה לאמבט בטמפ' של 40 מ"צ היה עיכוב גדול יותר של גידול מושבות הבוטריטיס ביחס לאמבט בטמפ' של 20 מ"צ (מלבד מאשר 5 דק' עוצמה X).

<u>השפעת זמן החשיפה על גידול המושבות בצלחת (טבלה מס' 3)</u>: בחשיפה ל-10 דק', 20 מ"צ, עוצמה 2X, חל עיכוב ביחס לחשיפה של 5 דק'. בשאר הטיפולים לא נראית השפעה של משך זמן החשיפה.

טבלה מס' 1: השפעת עוצמת US על התפתחות מושבות בצלחת (זריעה של 20µl)

	Botrytis cinerea			*Penicillium expansum*		
	ביקורת	עוצמה X	עוצמה 2X	ביקורת	עוצמה X	עוצמה 2X
5 דקות, 20 מ"צ	21.5a	1b	16b	דשא	דשא	דשא
5 דקות, 40 מ"צ	22.5a	3b	0b	140	174	152
10 דקות, 20 מ"צ	1b	10.7a	9.5a	לא ניתן לספירה	לא ניתן לספירה	לא ניתן לספירה
10 דקות, 40 מ"צ	130a	0.5b	0b	לא ניתן לספירה	166	181

a-b–הבדלים מובהקים בין עוצמות החשיפה והביקורת עבור כל אחד מגורמי הריקבון ($p<0.05$).

טבלה מס' 2: השפעת טמפ' מי אמבט ה-US על התפתחות מושבות בצלחת (זריעה של 20µl)

	Botrytis cinerea		*Penicillium expansum*	
	20 מ"צ	40 מ"צ	20 מ"צ	40 מ"צ
5 דקות, ביקורת	21.5	22.5	לא ניתן לספירה	140
10 דקות, ביקורת	1b	130a	לא ניתן לספירה	דשא
5 דקות, עוצמה X	1	3	139	174
10 דקות, עוצמה X	10.7a	0.5b	260	160
5 דקות, עוצמה 2X	15a	0.7b	188	152
10 דקות, עוצמה 2X	9.5a	0b	140	181

a-b–הבדלים מובהקים בין טמפ' החשיפה עבור כל אחד מגורמי הריקבון ($p<0.05$).

טבלה מס' 3: השפעת זמן החשיפה באמבט ה-US על התפתחות מושבות בצלחת (זריעה של 20µl)

	Botrytis cinerea		*Penicillium expansum*	
	5 דקות	10 דקות	5 דקות	10 דקות
20 מ"צ, ביקורת	21.5a	1b	לא ניתן לספירה	לא ניתן לספירה
40 מ"צ, ביקורת	22.5b	130a	140	260
20 מ"צ, עוצמה X	1b	10.7a	16b	86a
40 מ"צ, עוצמה X	3	0.5	174	166
20 מ"צ, עוצמה 2X	16a	9.5b	188	140
40 מ"צ, עוצמה 2X	0	0	152	181

a-b–הבדלים מובהקים בין זמני החשיפה עבור כל אחד מגורמי הריקבון ($p<0.05$).

סיכום

בניסוי זה בדקנו את השפעת טיפולי US שונים על התפתחות נבגים מסוג בוטריטיס ופניציליום בצלחות. נמצאה השפעה מובהקת של טמפ׳ החשיפה על כמות הנבגים שהתפתחו בצלחות ואילו עוצמת החשיפה ומשך זמן החשיפה לרוב לא השפיעו באופן מובהק. בנוסף נמצא כי הטיפולים לא עכבו את התפתחות נבגי הפניציליום בצלחות. יתכן כי הפניציליום עמיד יותר לטמפ׳ גבוהות ולטיפול ב-US.

<u>ניסוי 2</u>: בחינת יעילות חשיפה ל-US על עיכוב התפתחות ריקבונות בנקטרינה לאחר הקטיף

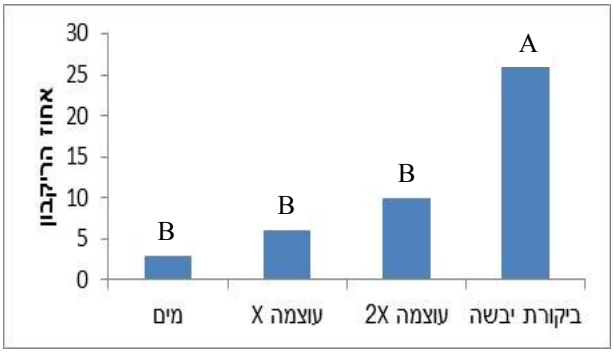
חומרים ושיטות

פירות נקטרינה מזן ״קווין ג׳אנטי״, בגודל אחיד, נקטפו בשיא העונה (06.07.14) ממטע אורטל. הפירות חוטאו באתנול בריכוז 70% על מנת להפחית את האילוח הטבעי שהגיע עם הפירות מהמטע. מחצית מהפירות אולחו בנבגי פניציליום (הכנת תרחיף הנבגים כפי שמתואר בניסוי: ״שימוש באולטרסאונד לעיכוב התפתחות מושבות בוטריטיס ופניצליום״) ע״י פציעת הפרי לעומק 2 מ״מ והחדרה של 10µl תרחיף נבגים. המחצית השנייה של הפירות נפצעה באופן דומה, אך ללא אילוח. הפירות שהו בתנאי חיי מדף (20 מ״צ, 65% לחות) במשך יממה להתבססות הנבגים ובהמשך הוכנסו לאמבט US בטמפ׳ 40 מ״צ למשך 5 דקות, בעוצמות שונות כמתואר בניסוי הנ״ל. כביקורת ניטבלו הפירות באותה טמפ׳ למשך 5 דקות במים חמים בלבד, וכן הייתה ביקורת יבשה (פירות שלא עברו טבילה כלל).

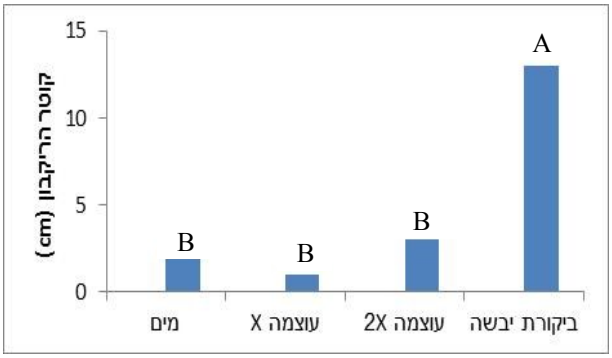
בתום הטיפול הפירות אוחסנו בחדר חיי מדף (20 מ״צ, 65% לחות), ללא עטיפה, ואחת ליומיים נערך מעקב אחר אחוז הריקבון ודרגת הריקבון על כל פרי.

תוצאות

הטיפול האולטרסוני הפחית את אחוז הריקבון בפירות (עוצמה X ועוצמה 2X) במהלך חיי מדף ביחס לביקורת יבשה, אם כי לא ביחס לטיפול ביקורת המים (גרף מס׳ 1). בנוסף, נמצא כי אחוז הריקבון בפירות שטופלו בעוצמה 2X היה גבוה יותר (הבדל לא מובהק). בבחינת קוטר הריקבון התקבלו מגמות דומות לאלו של אחוז הריקבון (גרף מס׳ 2).



גרף מס׳ 1: אחוז הריקבון בסוף חיי מדף



גרף מס׳ 2: ממוצע קוטר הריקבון בסוף חיי מדף

a-b–הבדלים מובהקים בין הטיפולים ($p<0.05$).

סיכום

בניסוי זה נבדקה השפעת גלי ה-US על התפתחות ריקבונות בפירות נקטרינה. התוצאות מראות שניתן לעכב התפתחות רקבונות במהלך חיי מדף של הפרי על ידי שימוש בגלי US ב-40°C למשך 5 דק', ללא פגיעה באיכות הפרי. בניסוי דומה שנערך בפירות תות שדה, נמצא כי טיפול אולטרסוני (40 kHz) ב-20 מ"צ למשך 10 דק' הפחית באופן מובהק את אחוז הריקבון במהלך חיי מדף (Cao et al. 2010).

ע"פ גרף 1 ניתן לראות כי בעוצמה הגבוהה (2X) אחוז הריקבון היה גבוה יותר ביחס לעוצמה הנמוכה (X) בניגוד להערכתינו כי לעוצמת US גבוהה יותר תהיה השפעה רבה יותר במניעת התפתחות רקבונות. ייתכן כי עוצמה גבוהה של גלי US מחלישה את רקמת הפרי, גורמת לפציעתה ובעקבות כך מתפתח ריקבון בפרי. לעומת זאת בעוצמה X, נראתה הפחתה מובהקת באחוז הריקבון לעומת הביקורת היבשה. בנוסף ניתן לראות כי אין הבדל מובהק בין טיפול ב-US בעוצמה X לבין טיפול במים חמים בלבד. לכן ניתן להסיק כי טיפול במים חמים בלבד מפחית את התפתחות הרקבונות.

כדי לשפר את יעילות הטיפול האולטרסוני מבלי להעלות את עוצמתו, מומלץ לשלב באמבט המים חומרי חיטוי כדוגמת כלור או חומצות אורגניות כדוגמת חומצה סיליצילית (Ramos et al. 2013, Yang et al. 2011).

ספרות מצוטטת

Cao, S., Hu, Z., Pang, B.,Wang, H., Xie, H., & Wu, F. 2010. **Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest**. Food Control, 21(4): 529–532.

Ramos B., Miller F.A., Brandão T.R.S., Teixeira P. and Silva C.L.M. 2013. **Fresh fruits and vegetables - An overview on applied methodologies to improve its quality and safety**. Innov. food sci. emerg .http://dx.doi.org/10.1016/j.if set.2013.07.002.

Yang Z., Cao S., Cai Y. and Zheng Y. 2011. **Combination of salicylic acid and ultrasound to control postharvest blue mold caused by *Penicillium expansum* in peach fruit**. Innov. food sci. emerg. 12(3): 310–314.