

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Petra TOMAŠIČ

**VPLIV RAZLIČNIH NAČINOV ZAMRZOVANJA  
VZORCEV NA VSEBNOST PRIMARNIH IN  
SEKUNDARNIH METABOLITOV V ROBIDAH  
(*Rubus fruticosus* L.)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Petra TOMAŠIČ

**VPLIV RAZLIČNIH NAČINOV ZAMRZOVANJA VZORCEV NA  
VSEBNOST PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV V  
ROBIDAH (*Rubus fruticosus* L.)**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**INFLUENCE OF DIFFERENT TYPES OF FREEZING ON CONTENT  
OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN  
BLACKBERRY SAMPLES (*Rubus fruticosus* L.)**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2014

Diplomsko delo predstavlja zaključek univerzitetnega študija agronomije. Opravljeno je bilo na katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, Oddelka za agronomijo. Poskus je potekal v laboratoriju katedre na Biotehniški fakulteti v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Roberta Veberiča.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Marijana Jakše  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Robert Veberič  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Jernej Jakše  
Univerza v Ljubljani, biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

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

Petra TOMAŠIČ

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn  
DK UDK 634.713:631.526.32:664.8.03:543.61(043.2)  
KG sadjarstvo/robida/*Rubus fruticosus*/sorte/metode zamrzovanja/kemična sestava/primarni metaboliti/sekundarni metaboliti/sladkorji/organske kisline/fenolne spojine  
AV TOMAŠIČ, Petra  
SA VEBERIČ, Robert (mentor)  
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo  
LI 2014  
IN VPLIV RAZLIČNIH NAČINOV ZAMRZOVANJA VZORCEV NA VSEBNOST PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV V ROBIDAH (*Rubus fruticosus* L.)  
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)  
OP IX, 32 str., 11 pregl., 10 sl., 37 vir.  
IJ SI  
JI sl/en  
AI Namen diplomske naloge je bil preučiti, kako dva različna načina zamrzovanja robid, zamrzovanje s tekočim dušikom in zamrzovanje na -20 °C in dolgotrajno hranjenje pri -20 °C vplivajo na vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov v plodovih. Analizirali smo 6 sort robide: 'Loch Ness', 'Thornless Evergreen', 'Black Satin', 'Chester Thornless', 'Thornfree' in 'Čačanska Bestrna'. Vsem sortam smo izmerili vsebnost fenolnih spojin, vitamina C, sladkorjev, organskih kislin (HPLC), pH soka, ter ton in intenziteto barve. Vsebnost sladkorja in organskih kislin se pri vseh sortah po zamrzovanju poviša, razmerje sladkorjev in organskih kislin pa ostane nespremenjeno. Vsebnost vitamina C se po obeh načinih zamrzovanja pri vseh obravnavanih sortah zmanjša. Pri večini sort se vsebnost vitamina C bolj zmanjša po zamrzovanju s tekočim dušikom. Barva robid je postala pri večini sort bolj intenzivna po obeh načinih zamrzovanja. Ton barve se je glede na ton ob obiranju po obeh načinih zamrzovanja značilno povišal. Nekoliko bolj se je povišal po zamrzovanju na -20 °C. Pri vseh sortah in po obeh načinih zamrzovanja in hranjenju se je pH povišal. Vsebnost fenolnih spojin se po obeh načinih zamrzovanja poviša, statistično značilno se poviša po zamrzovanju na -20 °C. Ugotovili smo, da se različne sorte robid pri enakih pogojih hranjenja odzovejo različno. Na zamrzovanje in hranjenje je najmanj občutljiva sorta 'Thornfree'. Ob obiranju pa ima sorta 'Loch Ness' najboljše izmerjene vrednosti.

## KEY WORD DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 634.713:631.526.32:664.8.03:543.61(043.2)
- CX fruit growing/blackberries/*Rubus fruticosus*/freezing methods/chemical composition/primary metabolites/secondary metabolites/sugars/organic acids/phenols
- AU TOMAŠIČ, Petra
- AA VEBERIČ, Robert (mentor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- PY 2014
- TI INFLUENCE OF DIFFERENT TYPES OF FREEZING ON CONTENT OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN BLACKBERRY SAMPLES (*Rubus fruticosus* L.)
- DT Graduation thesis (university studies)
- NO IX, 32 p., 11 tab., 10 fig., 37 ref.
- LA SI
- AL sl/en
- AB The purpose of the thesis was to examine how two different ways of freezing blackberries, freezing with liquid nitrogen and freeze at -20 °C and long-term frozen storage affects the content of primary and secondary metabolites in fruits. We analyzed six varieties of blackberries: 'Loch Ness', 'Thornless Evergreen', 'Black Satin' 'Chester Thornless', 'Thornfree' and 'Čačanska Bestrna'. We measured content of phenolic compounds, vitamin C, sugars, organic acids for all cultivars (HPLC). We also measured pH of the juice and the tone and intensity of color. Sugar and organic acids increased after both methods of freezing. The ratio of sugars and organic acids remain unchanged. The content of vitamin C after both methods of freezing is reduced. The color of blackberries has become more intense after both methods of freezing for most cultivars. The juice tone after freezing compared to the tone at harvest significantly increased. It increased more by freezing at -20 °C. For all cultivars and both methods of freezing and storage the pH increased. The content of phenolic compounds after freezing increases. It increases more after freezing at -20 °C. We found that different cultivars of blackberries under the same conditions of storage reacts differently. The less sensitive on storage and freezing is cultivar 'Thornfree'. Cultivar 'Loch Ness' had at harvest best measured values.

## KAZALO

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key word documentation	IV
Kazalo	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	IX
Okrajšave in simboli	X
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 VZROK ZA RAZISKAVO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3 NAMEN RAZISKAVE	1
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>2</b>
2.1 NAVADNA ROBIDA ( <i>Rubus sp.</i> )	2
2.2 PLOD ROBIDE	2
2.3 KEMIČNA SESTAVA ROBIDE	3
<b>2.3.1 Ogljikovi hidrati</b>	<b>3</b>
<b>2.3.2 Organske kisline</b>	<b>3</b>
<b>2.3.3 Vitamin C v sadju</b>	<b>4</b>
<b>2.3.4 Fenoli – sekundarni metaboliti</b>	<b>4</b>
2.4 SHRANJEVANJE PLODOV	5
<b>3 MATERIALI IN METODE</b>	<b>7</b>
3.1 RASTLINSKI MATERIAL	7
<b>3.1.1 Sorta 'Black Satin'</b>	<b>7</b>
<b>3.1.2 Sorta 'Thornfree'</b>	<b>7</b>
<b>3.1.3 Sorta 'Loch Ness'</b>	<b>7</b>
<b>3.1.4 Sorta 'Chester Thornless'</b>	<b>7</b>
<b>3.1.5 Sorta 'Thornless Evergreen'</b>	<b>8</b>
<b>3.1.6 Sorta 'Čačanska Bestrna'</b>	<b>8</b>
3.2 METODE DELA	8

<b>3.2.1</b>	<b>Priprava vzorcev</b>	8
<b>3.2.2</b>	<b>Ekstrakcija sladkorjev in organskih kislin iz plodov</b>	8
<b>3.2.3</b>	<b>Ekstrakcija vitamina C iz plodov</b>	8
<b>3.2.4</b>	<b>Ekstrakcija in fenolov iz plodov</b>	9
<b>3.2.5</b>	<b>Merjenje barve in pH</b>	9
<b>3.2.6</b>	<b>Statistična analiza</b>	9
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b>	10
4.1	VSEBNOST SKUPNIH SLADKORJEV	11
4.2	VSEBNOST SKUPNIH ORGANSKIH KISLIN	12
4.3	RAZMERJE KISLINE/SLADKORJI	13
4.4	VSEBNOST VITAMINA C	14
4.5	VSEBNOST RAZLIČNIH SKUPIN FENOLNIH SNOVI	16
<b>4.5.1</b>	<b>Elagna kislina</b>	16
<b>4.5.2</b>	<b>Flavonoli</b>	17
<b>4.5.3</b>	<b>Antocianini</b>	18
4.6	INTEZITETA BARVE	20
4.7	TON BARVE	21
4.8	SPREMEMBA pH	22
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI</b>	24
5.1	RAZPRAVA	24
5.2	SKLEPI	26
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	28
<b>7</b>	<b>VIRI</b>	29
	<b>ZAHVALA</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Stopnja statistične značilnosti glede na obravnavanje, sorto, ter njuna interakcija med sortami 'Black Satin', 'Chester Thornless', 'Thornless Evergreen', 'Čačanska Bestrna', 'Loch Ness', 'Thornfree'	10
Preglednica 2: Povprečje skupnih sladkorjev vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja	12
Preglednica 3: Povprečje skupnih organskih kislin vseh sort (g/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja	12
Preglednica 4: Povprečje razmerja med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja	14
Preglednica 5: Povprečje vsebnosti vitamina C vseh sort (mg/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja	15
Preglednica 6: Povprečje vsebnosti elagne kisline vseh sort (mg/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja	17
Preglednica 7: Povprečje vsebnosti flavonolov vseh sort (mg/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja	18
Preglednica 8: Povprečje vsebnosti antocianinov vseh sort (mg/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja	19



- Preglednica 9: Povprečje intenzivnosti barve vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja 20
- Preglednica 10: Povprečje tona barve vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja 21
- Preglednica 11: Povprečje pH soka vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja 23

## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Skupni sladkorji v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	11
Slika 2: Skupne organske kisline v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	13
Slika 3: Razmerje med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	14
Slika 4: Vsebnost vitamina C v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	15
Slika 5: Vsebnost elagne kisline v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	16
Slika 6: Vsebnost flavonolov v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	17
Slika 7: Vsebnost antocianinov v proučevanih sortah robide ( <i>Rubus sp.</i> ) pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	18
Slika 8: Intenziteta barve v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	20
Slika 9: Ton barve v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	22
Slika 10: Sprememba pH v proučevanih sortah robide ( <i>Rubus sp.</i> ) pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	23

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

HPLC	Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti; High Performance Liquid Chromatography
SN	Standardna napaka
Sod.	Sodelavci
NS	Ni značilno
S/OK	Razmerje skupnih organskih kislin in skupnih sladkorjev
ANOVA	Dvosmerna statistična analiza variance

## 1 UVOD

### 1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

V poletnem času zorijo številne sadne vrste, med njimi tudi robida. Vse plodove je težko uporabiti dokler so sveži, zato je ustaljena praksa, da se plodovi do uporabe hranijo v zamrzovalniku. V razpoložljivi literaturi vpliva predelave in shranjevanja robid, so večinoma navedene študije o soku robid, pireju in sadju v pločevinkah. Študije, ki obravnavajo zamrzovanje in shranjevanje svežega sadja so redke in omejene le na nekaj spojin. Zato, da bi povečali razumevanje o tem, kaj se dogaja z zamrznjenimi plodovi pri dolgotrajnem shranjevanju, so potrebne dodatne študije.

### 1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Plodovi se bodo, zamrznjeni pri  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  ali zamrzovanju s tekočim dušikom in po večmesečnem hranjenju pri  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , razlikovali v barvi soka, vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov (fenolov), vsebnosti vitamina C, ter vsebnosti sladkorjev in organskih kislin. Predvidevamo, da bo pH soka plodov pri obeh načinih zamrzovanja višji od pH soka plodov ob obiranju, kar bo vplivalo na barvo soka. Vsebnost fenolov, vitamina C in sladkorjev pa bo manjša.

### 1.3 NAMEN RAZISKAVE

Naš namen je preveriti, koliko fenolnih snovi, sladkorjev, organskih kislin in vitamina C se ohrani oziroma izgubi pri hranjenju plodov zamrznjenih s tekočim dušikom in zamrznjenih na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  v primerjavi s plodovi ob obiranju. Ugotoviti želimo tudi razlike med posameznimi sortami. Rezultati bodo dali informacijo za raziskovalce kako način shranjevanja vzorcev vpliva na vsebnost in uspešnost ekstrakcije primarnih in sekundarnih metabolitov. Ti rezultati bodo uporabni tudi za pridelovalce in predelovalno industrijo.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 NAVADNA ROBIDA (*Rubus* sp.)

Robida, *Rubus* sp. spada v družino rožnic (Rosaceae). Največkrat temno rdeč do črn sadež spada med birne koščičaste plodove. Svetovno proizvodnjo robid ocenjujejo približno na 154.570 ton letno, v Sloveniji je pridelek robid zelo majhen. Po količini pridelka si po padajočem vrstnem redu sledijo Severna Amerika, Evropa, Azija, Južna Amerika. Plod robide tehta od 3 do 12 gramov odvisno od sorte. Robide večinoma uživamo sveže, uporabljajo pa jih tudi za predelavo. Ponavadi jih prodajajo kot hitro zamrznjene plodove, sok, koncentrat ali pire brez semen. V industriji jih uporabljajo za prehranska dopolnila, sladoled, marmelado in druge slaščice (Kaume in sod., 2012).

Zaradi visoke vsebnosti antocianinov in elagne kisline, ter drugih fenolnih spojin, ki prispevajo k visoki antioksidativni aktivnosti, je vedno več zanimanja za robide (Kaume in sod., 2012).

So trajnice, ki običajno poženejo dvoletna stebila iz trajnega koreninskega sistema. V svojem prvem letu primarno steblo bujno raste do polne dolžine 3-6 m (v nekaterih primerih tudi do 9 m), če rastlina nima opore se usloči in plazi po tleh, ima velike dlanasto sestavljene liste s petimi ali sedmimi lističi. V prvem letu rastlina cveti. V drugem letu rasti, poženejo stranski brsti (ki imajo manjše liste s tremi ali petimi lističi), steblo se ne podaljša. Eno in dve-letni poganjki imajo običajno zelo ostre, kratke in ukrivljene bodice, katere se pogosto napačno označi kot trne. Razvite so bile tudi sorte brez bodic (Krewer in sod., 2004).

V pozni pomladi in zgodnjem poletju na rozetastih poganjih, na konicah stranskih brstov, rastlina cveti. Vsak cvet ima premer približno 2-3 cm in pet belih ali blede roza venčnih listov (Krewer in sod., 2004).

### 2.2 PLOD ROBIDE

Sadež je oblikovan iz skupka več malih koščičastih plodov (koščičast birni plod). Ti koščičasti plodovi so pritrjeni k cvetišču, ki je vlaknato središče sadeža, in je lahko zelenkasto-bele ali vijolične barve. Koščičasti plodovi se razvijejo le okoli semenskih zasnov, ki jih oplodi moška gameta iz pelodnega mešička. Najverjetnejši vzrok nerazvitih semenskih zasnov je nezadostno oprашevanje. Vsaka manjša sprememba vremenskih razmer, naj bo to deževen dan ali prevroč dan, ki čebelam preprečuje oprășevanje, lahko zmanjša število čebel, ki obiščejo cvet. Posledično se s tem zmanjša količina in kakovost plodov. Nepopolna razvitost koščičastih plodov je lahko tudi simptom izčrpanih rezerv v koreninah rastline same, ali pa znak infekcije z virusom kot je virus razraščanja in pritlikavosti (Green, 2001).

Pri malinah se cvetišče loči od sadeža in pusti prazno središče, pri robidah pa cvetišče ostane pritrjeno na sadež, in se tako ob obiranju loči od rastline. Robide so rdeče ali rjavordeče barve in trde na otip, ko so nezrele, ob zorenju pa spremenijo barvo v sijočo črno in postanejo mehkejšje. Zrel sadež je mehak in sočen ter ima temno vijoličasto barvo in gladko, tanko kožo (Cecilia in Nunes, 2008). Ker sadje ne zori več, ko je enkrat obrano, je priporočeno, da se plodove obira, ko so sijoče črne barve, je na videz in otip nabrekli, in se jih lahko zlahka odtrga (Cecilia in Nunes, 2008). Če so nabrane, ko so delno obarvane, so precej trpke, saj imajo visoko vsebnost kislin in fenolov. Čeprav je barva sadeža, ki je najbolj primerna za prodajo, črna (Daubeny, 1996), nekatere sorte ohranijo trpkost in kislost tudi ko dozori. Take sorte je najbolje obrati, ko so sadeži zamolklo črne barve (Cecilia in Nunes, 2008).

### 2.3 KEMIČNA SESTAVA PLODA ROBIDE

Plod robide v povprečju vsebuje 88 % vode, 9,6 % ogljikovih hidratov, 1,4 % beljakovin in 5 % vlaknin, 11-28 mg vitamina C in manjše količine drugih vitaminov na 100 g sadeža (Cecilia in Nunes, 2008).

Robide so znane po visoki vsebnosti hranilnih vlaknin, vitamina C (25 %), vitamina K (19 %), folne kisline (vitamin B) in esencialnega minerala mangana (31 %) (Wada in Ou, 2002).

#### 2.3.1 Ogljikovi hidrati

Primarni produkt fotosinteze so ogljikovi hidrati. Sladkorji pa so njihov glavni delež. Fruktaza, glukoza in saharoza so v sadju glavni sladkorji. Glukoza in fruktoza pa sta v razmerju 1:1 in sicer robida ju vsebuje približno 3 %. Glukoza in fruktoza sta monosaharida skupaj pa sestavljata disaharid saharozo. Robida vsebuje saharozo le v manjših koncentracijah (0,06 %) (Gvozdenović, 1989).

Vsebnost sladkorja in pH vrednost soka naraščata, ko sadež dozoreva, obenem pa se manjša vsebnost kislin (Cecilia in Nunes, 2008; Siriwoharn in sod., 2004). Kislost se zmanjša z 2-3 % (nezrel sadež) na 1 % ali manj (sadež sijoče črne barve) (Cecilia in Nunes, 2008; Siriwoham in sod., 2004). Vsebnost sladkorja naraste z 200 µg pri tehtanju suhe mase rdečih sadežev na 600 µg pri tehtanju suhe mase črnih sadežev. V povprečju je 5-6 % robide sladkor, od katerega je 1-5 % saharoze, 44-48 % glukoze in 47-49 % fruktoze (Cecilia in Nunes, 2008).

#### 2.3.2 Organske kisline

Organske kisline so v sadju v celicah v obliki soli, estrov ali pa kot nevezane. Sodelujejo pri fotosintezi in celičnemu dihanju. Vsebnost organskih kislin ali pa razmerje med organskimi kislinami in sladkorjem je povezano z zrelostjo plodov

(Gvozdrenović, 1989). Bolj kot je plod zrel, bolj se zmanjšuje količina organskih kislin (Gliha, 1997). V robidi prevladujeta jabolčna in citronska kislina, vendar je njuna vsebnost v sortah različna. V divjih sortah robid prevladuje citronska kislina, v gojenih pa prevladuje jabolčna kislina. Vsebnost organskih kislin vpliva na okus ploda, ki je odvisen od razmerja sladkorjev in kislin (Nikolić in Milivojević, 2010).

### **2.3.3 Vitamin C v sadju**

Tla, osvetljenost, lega rastline, izvor sadeža, vrste tkiva, podnebje, zrelosti in sorte sadja so vse dejavniki, ki vplivajo na vsebnost vitamina C v sadju. Po fiziološki zrelosti začne vsebnost vitamina C padati. Veliki odkloni vsebnosti vitamina C se pojavljajo tudi znotraj iste vrste. Robide, pomaranče, limone, kivi, papaja, banana, itd. spadajo med sadje, ki so bogate z vitaminom C. Ker vrednosti vitamina C v sadju zelo nihajo vedno govorimo o povprečnih vrednostih. Sveže robide vsebujejo do 21 mg na 100 g vitamina C (Gvozdrenović, 1989).

### **2.3.4 Fenoli – sekundarni metaboliti**

Sekundarni metaboliti ne vplivajo neposredno na razmnoževanje, rast in razvoj rastlin. Dolgo časa ni bila znana natančna vloga teh spojin, zdaj pa je znano, da imajo te spojine pomembno vlogo pri varovanju rastlin pred patogeni in rastlinojedi. Privabljajo tudi opravevalce (Taiz in Zeiger, 2006).

Sekundarne metabolite razdelimo v tri večje skupine: terpeni, fenoli in dušik vsebujoče spojine. So kemično zelo raznolika skupina, ki vsebuje veliko različnih posameznih skupin, ki izvirajo iz različnih presnovnih poti (Taiz in Zeiger, 2006).

Plodovi vsebujejo veliko zdravih antioksidantov in hranil, na primer antocianinov, salicilne kisline, elagne kisline in vlaknin. Antocianini so snovi, ki so odgovorni za intenzivno temno barvo robid. Najbolj koristna snov v robidi je elagna kislina, katere ima sadež v izobilju (Sellappan in sod., 2002).

Robide vsebujejo polifenolne snovi, naravne kemikalije, ki blagodejno vplivajo na metabolne procese pri nekaterih sesalcih. Trpke korenine robid se včasih uporablja v zeliščarstvu in kot sredstvo proti driski in griži. So visoko na lestvici sadja z veliko vsebnostjo antioksidantov, saj vsebujejo velike količine polifenolov kot so elagna kislina, tanini, elagitanini, kvercetin, galna kislina, antocianini (Nutritiondata, 2012).

Vsebnost fenolov pri robidah je prav tako odvisna od sorte, zrelosti sadja, sezone obiranja in področja pridelovanja. Vsebnost skupnih fenolov se tako ne zveča drastično med zorenjem (975-903 mg na 100 g sadeža), večja razlika pa je opazna pri sadežih v zreli do prezreli fazi (903-1541 mg na 100 g sadeža) (Siriwoharn in sod., 2004). Robide, vključene v meritve, ki rastejo na Novi Zelandiji in v ZDA, imajo vsebnost skupnih fenolov med

292,2 mg in 1058,1 mg na 100 g sadeža (Cecilia in Nunes, 2008; Connor, 2005). Robide v Grčiji imajo, odvisno od sorte, vsebnost fenolov od 1703 mg do 2349 mg na 100 g sadeža (Cecilia in Nunes, 2008).

Robide vsebujejo veliko antocianinov. Tako kot pri drugih fenolih pa na vsebnost antioksidantov (sposobnost upočasnjevanja ali preprečevanja oksidacije molekul) vpliva sorta in zrelost robide, okoljske razmere med rastjo, sezona obiranja in področje pridelovanja (Connor in sod., 2005; Cecilia in Nunes, 2008; Reyes-Carmona in sod., 2005; Siriwoharn in sod., 2004; Wang in Lin, 2000). Tako je na primer vsebnost antocianinov pri robidah, ki so bile vključene v meritvene poskuse, pridelanih na Novi Zelandiji od 66,0 mg do 167,8 mg na 100 g, vsebnost antocianinov pri robidah, ki so bile vključene v meritvene poskuse pridelane v ZDA pa od 58,3 mg do 363,1 mg na 100 g (Cecilia in Nunes, 2008; Connor in sod., 2005; Siriwoharn in sod., 2004).

#### 2.4 SHRANJEVANJE PLODOV

Da sadež po obiranju kar najdlje zdrži, se robide v roku 4 ur ohladi na 5 °C. Zatem se sadež hrani na temperaturi blizu 0 °C, vlažnost naj bo med 90 % in 95 %. V takih razmerah robide ohranijo svežino še 5-14 dni po obiranju (Cecilia in Nunes, 2008).

Hitra izguba kakovosti sadja po obiranju je glavni razlog ponudbe slabega sadja na tržišču. Zaradi pomanjkanja primernih obratov za hlajenje, včasih pa tudi zaradi pomanjkanja znanja o primerni shranitvi sadja, se robide večkrat shranjuje na neprimerni temperaturi, ki je včasih visoka tudi do 10 °C (Cecilia in Nunes, 2008).

Temperatura ima velik vpliv na spremembe v kemični sestavi robid med hrambo. Vsebina topnih snovi v robidah tako niha pri hrambi pri 2 °C, 5 °C in 10 °C (Cecilia in Nunes, 2008). Vsebnost topnih snovi in kislin se pri sortah 'Navaho' in 'Chester' zmanjša pri skladiščenju na 3 °C ± 2 °C, kar povzroči, da ima sadje neprijeten okus in ni primerno za prodajo po 3 tednih hrambe. Pri skladiščenju robid 12 dni pri 20 °C se vsebnost topnih snovi zmanjša za 53 %, medtem, ko pri sadju skladiščnem na 2 °C ni opaznih razlik v topnosti. Vsebnost sladkorja robid, ki se skladiščijo pri 2 °C, se zmanjša za 22,6 %, in čeprav se rahlo zmanjša količina saharoze in fruktoze, se poveča količina glukoze v sadju (Cecilia in Nunes, 2008).

Količina askorbinske kisline v robidah se po 12 dneh hrambe pri 20 °C zmanjša z začetnih 80 mg na 40 mg na 100 g sadeža. Sadje shranjeno pri 2 °C izgubi 51 % manj askorbinske kisline kot sadje, skladiščeno pri 20 °C (Cecilia in Nunes, 2008).

Vsebnost antocianinov v robidah se poveča pri sadju, ki je skladiščeno na 2 °C, 5 °C in 10 °C. Količina antocianinov v robidah, ki se skladiščijo pri 2 °C, ostane stabilna 12 dni, po 7 dneh na 10 °C pa se poveča za 48 %-86 %, odvisno od sorte robide. Višje temperature stimulirajo sintezo pigmenta, in tako močno vplivajo na akumulacijo antocianina. Čeprav



se vsebnost antocianina med skladiščenjem poveča, se pri hrambi robid pri  $3\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  za 3 tedne količina antocianina zmanjša, kar gre pripisati predvsem starosti sadja in spremembam pH vrednosti soka in barve sadeža (Cecilia in Nunes, 2008).

Količina fenolov v robidah sort 'Arapaho' in 'Shawnee' se precej poveča pri sadju, ki je skladiščeno 7 dni na  $2\text{ °C}$ , zmanjša pa se vsebnost antocianinov in antioksidantov. Če dobi skladiščenja dodamo še 2 dneva na  $20\text{ °C}$  se vsebnost antioksidantov poveča. Vzrok temu je verjetno sinteza antocianinov ali pa povečana stopnja prostih antocianinov v sadju, ki se ga skladišči na višjih temperaturah. Kljub temu je količina antioksidantov manjša v primerjavi z vrednostmi pri svežem sadju. Aktivnost antioksidantov, katero se meri po metodi ORAC (Oxygen radical absorbance capacity - raven absorpcije kisikovih radikalov), se ne poveča po skladiščenju na  $2\text{ °C}$  (Cecilia in Nunes, 2008).

V naših razmerah plodove robide ne shranjujemo v svežem stanju, pač pa jih takoj ohladimo na  $0$  do  $1\text{ °C}$ , kasneje pa jih zamrznemo v komorah na  $-35\text{ °C}$  do  $-40\text{ °C}$ . V praksi prezreli plodovi v postopku zamrzovanja na  $-35\text{ °C}$  delno izgubijo barvo in s tem tudi tržno vrednost, zato se priporoča postopno zamrzovanje pri nekoliko višjih temperaturah od  $-18\text{ °C}$  do  $-20\text{ °C}$  do prodaje ali postopka predelave (Nikolić in Milivojević, 2010).

### **3 MATERIALI IN METODE**

#### **3.1 RASTLINSKI MATERIAL**

Za naše analize smo izbrali 6 sort robide. Popolnoma zrele plodove robide sort: 'Black Satin', 'Chester Thornless', 'Čačanska Bestrna', 'Thornless Evergreen', 'Loch Ness' in 'Thornfree', smo med 27. julijem in 6. avgustom obrali v sadovnjaku Kmetijskega inštituta Slovenije na Brdu pri Lukovici.

##### **3.1.1 Sorta 'Black Satin'**

Sorta izvira iz ZDA, plod je srednje velik bleščeče črn, praznega in kislega okusa. Rastlina ima dolga rodna stebela, debela s številnimi rodnimi vejicami, pridelek je zelo velik. Sorta zori konec julija. Občutljiva je na nizke zimske temperature, delno občutljiva na sivo plesen ter odporna proti odmiranju stebel (Štampar in sod., 2009).

##### **3.1.2 Sorta 'Thornfree'**

Sorta je vzgojena v ZDA in je ena najstarejših sort brez bodic. Listje je intenzivno zelene barve in veliko. Sorta je občutljiva na nizke temperature, občutljiva je tudi na glivične bolezni. Cveti od začetka junija, pa nekje do sredine avgusta, zori pa šele sredi septembra in ima velik rodni potencial. Jagode tehtajo od 3,5 do 5,8 g in so srednje debele do debele. Zrel plod je črne barve in sočen, ter prijetno sladko-kislega okusa (Črnko, 1990).

##### **3.1.3 Sorta 'Loch Ness'**

Sorta izvira iz Škotske (Scottish Crop Research Institute) leta. Sorta zori zgodaj, ponekod že v začetku julija. Zorenje se zaključuje v sredini avgusta. Plod je velik, lepe črne barve v obliki podolgovatega stožiča in prijetno sladek (Nikolić in Milivojević, 2010).

##### **3.1.4 Sorta 'Chester Thornless'**

Pokončna in zelo bujna sorta, ki zori srednje pozno, z velikim pridelkom izvira iz ZDA. Zori srednje pozno, obiranje se začne v tretji dekadi julija in traja vse do konca septembra. Plod je srednje velik, bleščeče črn, čvrst in prijetno sladko-kislega okusa. Sorta je odporna na zimski mraz in občutljiva na škodljivce (Nikolić in Milivojević, 2010).

### **3.1.5 Sorta 'Thornless Evergreen'**

Zimzelena robida z okusnimi, sladkimi, velikimi črnimi plodovi in listi, ki so globoko deljeni. Poleti cveti v belem. Sadimo jo v hranljiva tla ter na sončne lege. Je izredno odporna sorta in zraste v srednje velik grm s poganjki brez bodic (Hull, 1975).

### **3.1.6 Sorta 'Čačanska Bestrna'**

Je srednje zgodnja sorta robide z izredno velikimi plodovi, ki so sijoče črne barve in prijetno sladkega okusa. Sorta je zelo odporna na zimski mraz. Uporablja se za sveže uživanje, predelavo. Primerna je za transport (Meiosis, 2013).

## **3.2 METODE DELA**

### **3.2.1 Priprava vzorcev**

Po obiranju smo plodove takoj premestili v laboratorij in jih razdelili na 3 obravnavanja: 1) plodovi ob obiranju; sveži plodovi so bili analizirani takoj po obiranju; 2) plodovi zamrznjeni s tekočim dušikom; plodove smo hitro zamrznili s tekočim dušikom za 5 min in potem shranili v zamrzovalnik na -20 °C; 3) plodovi zamrznjeni na -20 °C; plodove smo shranili v zamrzovalnik na -20°C brez predhodnega hitrega zamrzovanja s tekočim dušikom. Vzorce smo hranili v zamrzovalniku na -20 °C 7 mesecev. Za vsako sorto smo za vsako obravnavanje naredili po pet ponovitev (n=5).

### **3.2.2 Ekstrakcija sladkorjev in organskih kislin iz plodov**

Plodove smo odmrznili pri sobni temperaturi, jih v terilnici zmečkali in v čašo zatehtali 5 g sveže mase, ter to prelili z 25 ml bidestilirane vode. Pripravljene vzorce smo pustili ekstrahirati na mešalniku pri sobni temperaturi pol ure. Tekoči del smo odlili v centrifugirke, vzorce centrifugirali 7 minut pri 10.000 obratih, nato pa prefiltrirali skozi celulozni filter, ter prelili v vijale. Vijale smo hranili na -20 °C do analiz HPLC (Mikulič-Petkovšek in sod., 2013).

### **3.2.3 Ekstrakcija vitamina C iz plodov**

Pri sobni temperaturi odmrznjene plodove, smo zmečkali v terilnici in v čašo zatehtali 5 g sveže snovi, ter jo prelili z 10 ml 2 % metafosforne kisline. Vzorce smo pustili ekstrahirati na mešalniku pri sobni temperaturi pol ure. Po tridesetih minutah smo v centrifugirke odlili tekoči del, vzorce smo centrifugirali 7 min pri 10.000 obratih nato prefiltrirali skozi filter v vijale, ki smo jih analizirali na HPLC (Mikulič-Petkovšek in sod., 2013).

### 3.2.4 Ekstrakcija fenolov iz plodov

V čaše smo zatehtali 5 g sveže mase zmečkanih plodov. Ekstrakcijo smo izvedli z 10 ml metanola +3 % mravljične kisline brez BHT. Vzorce smo pustili v ultrazvočni kopeli 1 uro. Po 1 uri smo vzorce centrifugirali 7 minut na 4 °C pri 10.000 obratih, nato pa prefiltrirali skozi Chromafil A0-20/25 poliamidni filter (Macherey-Nagel, Düren, Germany) v vialo in shranili pri -80 °C do HPLC analiz (Mikulič-Petkovšek in sod., 2013).

### 3.2.5 Merjenje barve in pH

V terilnici smo zmečkali robide. Tekoči del smo dali v centrifugirke, ter vzorce centrifugirali pri 5000 obratih 7 minut. Sok, ki smo ga dobili smo prelili v majhne čaše in izmerili pH (S20 SevenEasy pH meter, Mettler Toledo, Columbus, OH, USA). Ko smo izmerili pH, smo sok razredčili z zakisano destilirano vodo v razmerju 1:40. Raztopino smo prelili v kivete in s spektrofotometrom (Perkin-Elmer, UV-vis Lambda Bio 20 spectrophotometer, Waltham, MA, USA) izmerili absorbanco na valovnih dolžinah 420 nm, 520 nm in 620 nm.

S pomočjo izmerjenih absorbanc smo izračunali intenziteto barve (CI-enačba (1)) in ton barve (To-enačba (2)). Intenziteta predstavlja skupno vsoto izmerjenih absorbanc pri valovnih dolžinah 420 nm, 520 nm in 620 nm (Fragoso in sod., 2011).

Ton barve predstavlja razmerje med rumeno - ornažnimi pigmenti (420 nm) in rdečimi pigmenti (520 nm) (Fragoso in sod., 2011).

$$CI = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad \dots (1)$$

$$To = A_{420} / A_{520} \quad \dots (2)$$

### 3.2.6 Statistična analiza

Podatke analiz smo v programu Microsoft Office Excel 2007 uredili v tabele in jih obdelali z dvosmerno statistično analizo variance (ANOVA). Pri čemer smo imeli dejavnike obravnavanje in sorte, ter interakcija sorta × obravnavanje. Razlike med sortami in interakcijo sorta × obravnavanje so bile testirane z uporabo Duncanovega testa pri stopnji tveganje 0,05, medtem ko so bile razlike med obravnavanji testirane z uporabo LSD testa pri stopnji tveganosti 0,05. Povprečja in standardne napake so bile izračunane iz meritev pri petih ponovitvah (n=5) (Veberič in sod., 2014)

## 4 REZULTATI

Analizirali smo plodove robide različnih sort, in sicer tako da smo plodovom vsake sorte ob obiranju izmerili vsebnost fenolov, vitamina C, sladkorjev, organskih kislin, pH, intenziteto barve soka in ton barve soka. Po tem smo robide zamrzili na dva različna načina: počasno zamrzovanje na -20 °C in hitro zamrzovanje s tekočim dušikom in potem hranjenje vseh vzorcev na -20 °C. Po približno sedmih mesecih smo plodove odmrznili in jim po enakih postopkih, kot smo jih uporabili za meritev plodov ob obiranju, ponovno izmerili vsebnost fenolov, vitamina C, sladkorjev, organskih kislin, pH, intenziteto barve soka in ton barve soka.

Preglednica 1: Stopnja statistične značilnosti glede na obravnavanje, sorto, ter njuna interakcija

	Obravnavanje	Sorta	Interakcija (sorta × obravnavanje)
Skupni sladkorji	***	***	***
Organske kisline	***	***	***
Razmerje S/OK	NS	***	***
Vitamin C	***	***	***
pH	***	***	***
Ton barve	***	***	***
Intenziteta barve	***	***	***
Elagna kislina	***	***	***
Flavonoli	***	***	**
Antocianini	***	***	***

NS –ni značilno; \* -značilno pri  $p \leq 0,05$ ; \*\* -značilno pri  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* -značilno pri  $p \leq 0,001$

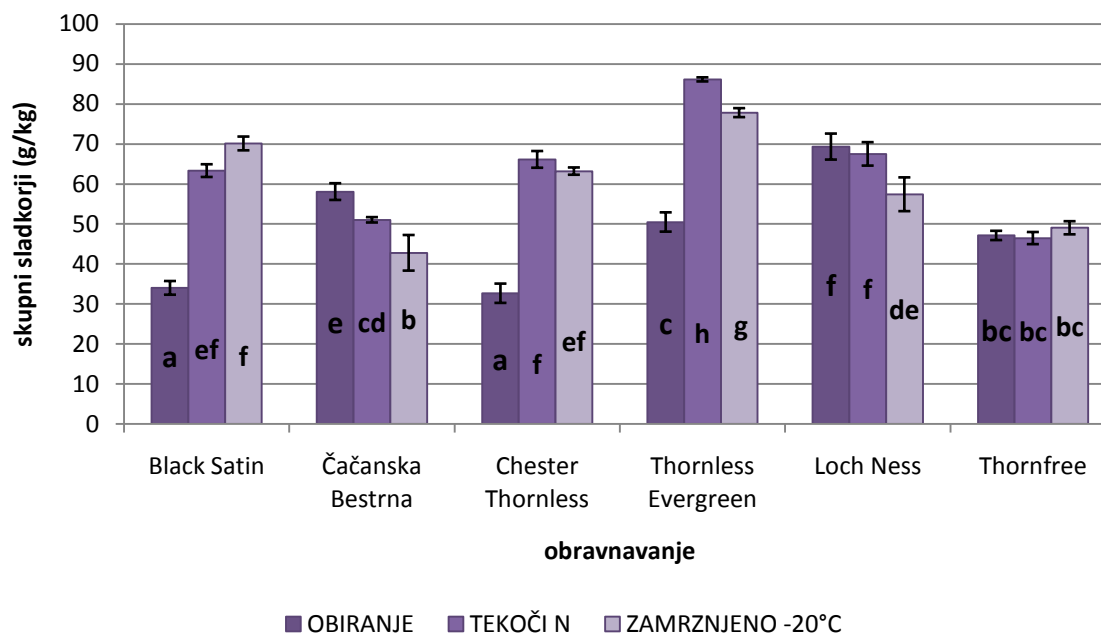
V preglednici 1 vidimo, da med obravnavanji obstajajo statistično značilne razlike pri stopnji  $p \leq 0,001$ , razen pri razmerju med sladkorji in organskimi kislinami.

Statistično značilne razlike pri stopnji  $p \leq 0,001$  so tudi med vsemi sortami. Prav tako so statistično značilne razlike pri stopnji  $p \leq 0,001$  pri njuni interakciji, razen pri flavonolih kjer obstajajo statistično značilne razlike pri stopnji  $p \leq 0,01$

V nadaljevanju grafično prikazujemo interakcijo sorta × obravnavanje, razlike med obravnavanji in sortami pa so prikazane v preglednicah.

#### 4. 1 VSEBNOST SKUPNIH SLADKORJEV

Slika 1 nam prikazuje skupne sladkorje pri različnih načinih zamrzovanja



Opomba: različne črke (a, b, c,...) prikazujejo značilne razlike med sortami robid in načinom zamrzovanja

Slika 1: Skupni sladkorji v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

Iz slike 1 je razvidno, da se sorte statistično značilno razlikujejo v vsebnosti sladkorja že ob obiranju. Izjema sta sorti 'Black Satin' in 'Chester Thornless' med katerima statistično značilnih razlik v vsebnosti sladkorjev ob obiranju ni.

Vsebnost skupnih sladkorjev je najvišja pri sorti 'Thornless Evergreen', in sicer po zamrzovanju s tekočim dušikom. Pri sorti 'Black Satin' se vsebnost sladkorjev najbolj poveča po zamrzovanju na -20 °C.

Pri zamrzovanju s tekočim dušikom najbolj izstopa sorta 'Thornless Evergreen' pri kateri se je vsebnost sladkorja statistično značilno najbolj povišala.

Pri sorti 'Čačanska Bestrna' in 'Loch Ness' se je vsebnost sladkorja najbolj znižala pri zamrzovanju na -20 °C. Med vrednostmi so statistično značilne razlike.

Preglednica 2: Povprečje skupnih sladkorjev vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	Skupni sladkorji (g/kg)		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	48,62	2,17	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	63,43	1,55	C
Zamrzovanje na -20 °C	60,06	2,34	B

V preglednici 2 vidimo da je bila najnižja vsebnost sladkorjev izmerjena ob obiranju. Po zamrzovanju s tekočim dušikom se je v povprečju zvišala najbolj. Zvišala se je tudi po zamrzovanju na -20 °C vendar nekoliko manj.

#### 4.2 VSEBNOST SKUPNIH ORGANSKIH KISLIN

Preglednica 3: Povprečje skupnih organskih kislin vseh sort (g/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

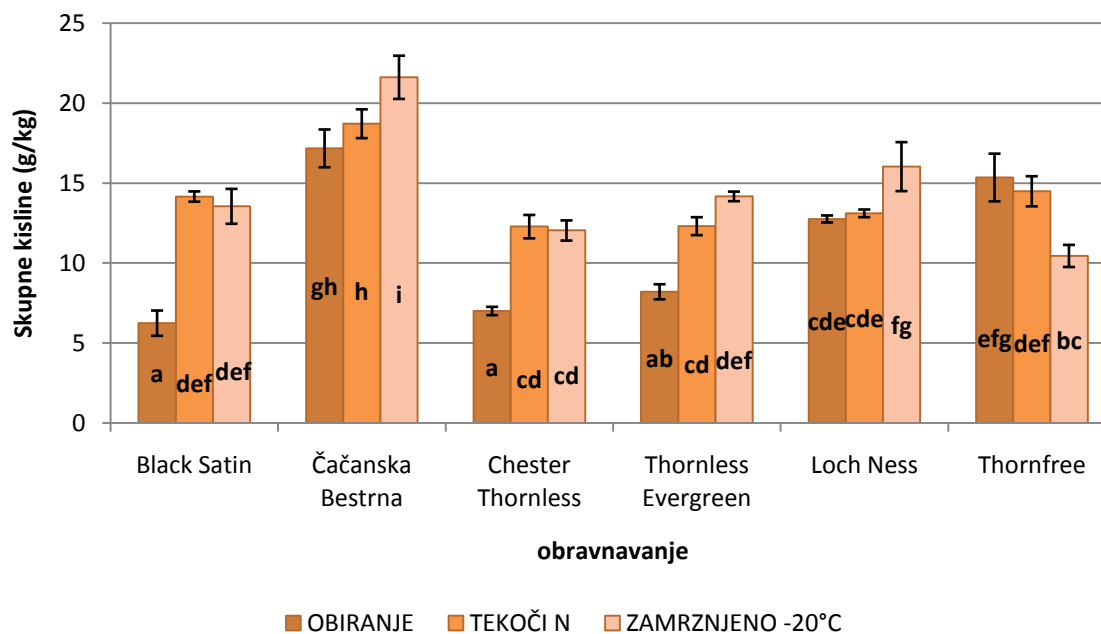
Obravnavanje	Organske kisline (g/kg)		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	11,13	0,74	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	14,18	0,62	B
Zamrzovanje na -20 °C	14,64	0,93	B

Iz preglednice 3 je razvidno, da smo ob obiranju izmerili najnižjo vrednost skupnih organskih kislin. Vrednost organskih kislin po obeh načinih zamrzovanja se zviša. Vsebnost organskih kislin po zamrzovanju s tekočim dušikom se statistično značilno ne razlikuje od vsebnosti po zamrzovanju na -20 °C.

Slika 2 nam prikazuje, da je najnižja vsebnost organskih kislin ob obiranju bila izmerjena pri sortah 'Black Satin', 'Chester Thornless' in 'Thornless Evergreen', med katerimi ni statistično značilnih razlik. Ostale sorte so imele izmerjeno statistično značilno višjo vsebnost organskih kislin.

Na sliki 2 izstopa sorta 'Čačanska Bestrna' pri kateri je vsebnost kislin ob obiranju najvišja in se po obeh načinih zamrzovanja še poviša. Pri zamrzovanju na -20 °C se izmerjene vredno statistično značilno razlikujejo od drugih dveh obravnavanj.

Zanimivo se spreminja vsebnost organskih kislin tudi pri sorti 'Thornfree', pri kateri je organskih kislin največ ob obiranju in po se po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  statistično značilno znižajo. Znižajo se tudi po zamrzovanju s tekočim dušikom vendar se statistično značilno ne razlikujejo od vrednosti ob obiranju.



Opomba: različne črke (a, b, c, ...) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

Slika 2: Skupne organske kisline v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja.  $n=5$ , prikazana so povprečja  $\pm$  SN.

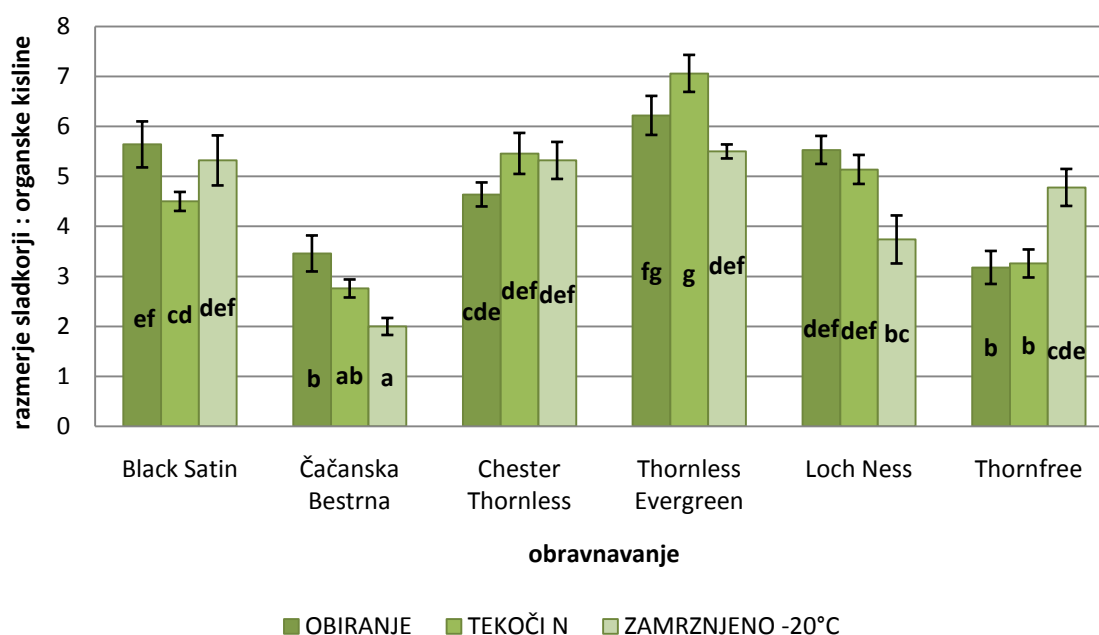
#### 4.3 RAZMERJE KISLINE/SLADKORJI

Na sliki 3, kjer je prikazano razmerje med sladkorji in organskimi kislinami vidimo, da je bilo razmerje najvišje pri sorti 'Thornless Evergreen' po zamrzovanju s tekočim dušikom. Po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  pa se je to razmerje statistično značilno znižalo. Glede na razmerje ob obiranju po obeh načini zamrzovanja ni statistično značilnih razlik.

Pri sorti 'Čačanska Bestrna' pa je bilo razmerje sladkorjev in organskih kislin najnižje po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  in se statistično značilno razlikuje od razmerja ob obiranju, ki je višje. Ravno nasprotno, pa se zgodi pri sorti 'Thornfree', kjer se je razmerje, glede na obiranje, statistično značilno zvišalo po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Med razmerjem ob obiranju in po zamrzovanju s tekočim dušikom, pa ni statistično značilnih razlik.

'Chester Thornless' je sorta pri kateri med razmerji med sladkorji in organskimi kislinami pri obeh načinih zamrzovanja (tekoči dušik in počasno zamrzovanje na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) in plodovih ob obiranju ni statistično značilnih razlik.





Opomba: različne črke (a, b, c,...) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

Slika 3: Razmerje med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

Preglednica 4: Povprečje razmerja med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	Razmerje sladkorji/organske kisline		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	4,78	0,34	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	4,70	0,29	A
Zamrzovanje na -20 °C	4,44	0,34	A

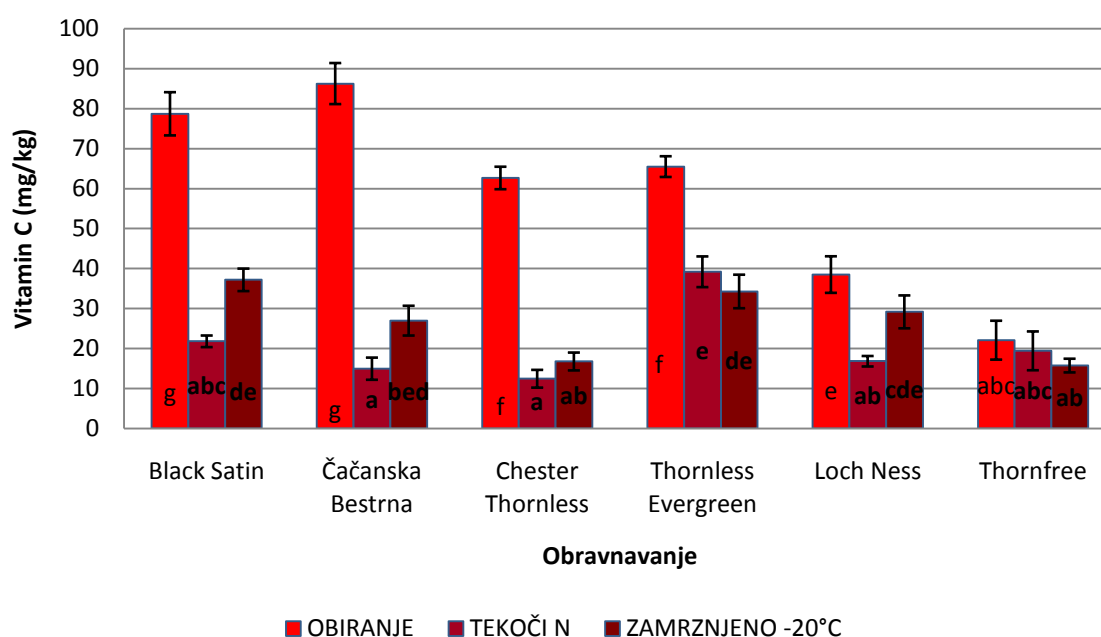
Preglednica 4 prikazuje, da v razmerju med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami ne glede na sorto, po obeh načinih zamrzovanja, ni statistično značilnih razlik. Najnižja vrednost je bila izmerjena po zamrzovanju na -20 °C.

#### 4.4 VSEBNOST VITAMINA C

Vrednosti vitamina C so se med sortami razlikovale. Statistično značilnih razlik v izmerjenih vrednostih vitamina C ob obiranju ni bilo med sortama 'Black Satin' in 'Čačanska Bestrna'. Ta vrednost se je statistično značilno razlikovala od vsebnosti vitamina C pri vseh ostalih obravnavanih sortah. Statistično značilnih razlik v vsebnosti vitamina C ob obiranju ni bilo tudi med sortama 'Chester Thornless' in 'Thornless Evergreen'.

Najbolj se je vsebnost vitamina C zmanjšala pri sorti 'Chester Thornless' in 'Čačanska Bestrna' po zamrzovanju s tekočim dušikom. Najmanjše izgube vitamina C zabeležimo pri sorti 'Thornless Evergreen' po zamrzovanju s tekočim dušikom, ter pri sorti 'Loch Ness' po zamrzovanju na -20 °C.

Statistično značilne razlike pa obstajajo med vrednostmi vitamina C med načinoma zamrzovanja, in sicer med sortami 'Black Satin', 'Čačanska Bestrna' in 'Loch Ness'. Statistično značilnih razlik pa ni med sortami 'Chester Thornless', 'Thornless Evergreen' in 'Thornfree'. Pri sorti 'Chester Thornless' se vsebnost vitamina C zmanjša veliko bolj, kot pri sorti 'Thornless Evergreen'. Pri sorti 'Thornfree' pa se vsebnost vitamina C sicer zmanjša, vendar je izguba zelo majhna.



Opomba: različne črke (a, b, c, ...) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

Slika 4: Vsebnost vitamina C v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

Preglednica 5: Povprečje vsebnosti vitamina C vseh sort (mg/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	Vitamin C (mg/kg)		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	58,97	4,23	C
Zamrzovanje s tekočim dušikom	20,82	2,75	A
Zamrzovanje na -20 °C	26,72	3,13	B

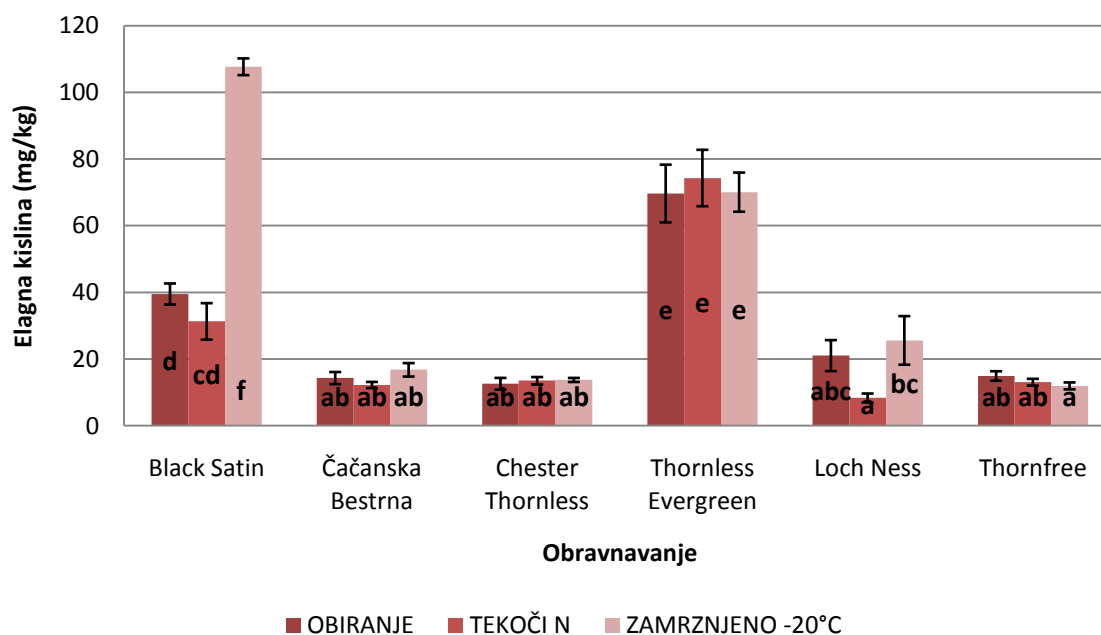
Najvišja vsebnost vitamina C je bila izmerjena ob obiranju. Med vsemi obravnavanji obstajajo statistično značilne razlike. Najbolj se je zmanjšala po zamrzovanju s tekočim dušikom in sicer za 65 %. Po zamrzovanju na -20 °se je zmanjšala za 10 % manj.

#### 4.5 VSEBNOST RAZLIČNIH SKUPIN FENOLNIH SNOVI

##### 4.5.1 Elagna kislina

Na sliki 5 izstopa sorta 'Black Satin' pri kateri se je vsebnost elagne kisline po zamrzovanju na -20 °C statistično značilno najbolj povečala. Izstopa tudi sorta 'Thornless Evergreen' pri kateri je vsebnost elagne kisline ob obiranju največja, med obravnavanji ni statistično značilnih razlik.

Pri sortah 'Čačanska Bestrna', 'Chester Thornless' in 'Thornfree' pri obeh načinih zamrzovanja v vsebnosti elagne kisline ni statistično značilnih razlik, statistično značilnih razlik ni tudi med temi tremi sortami.



Opomba: različne črke (a, b, c, ...) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

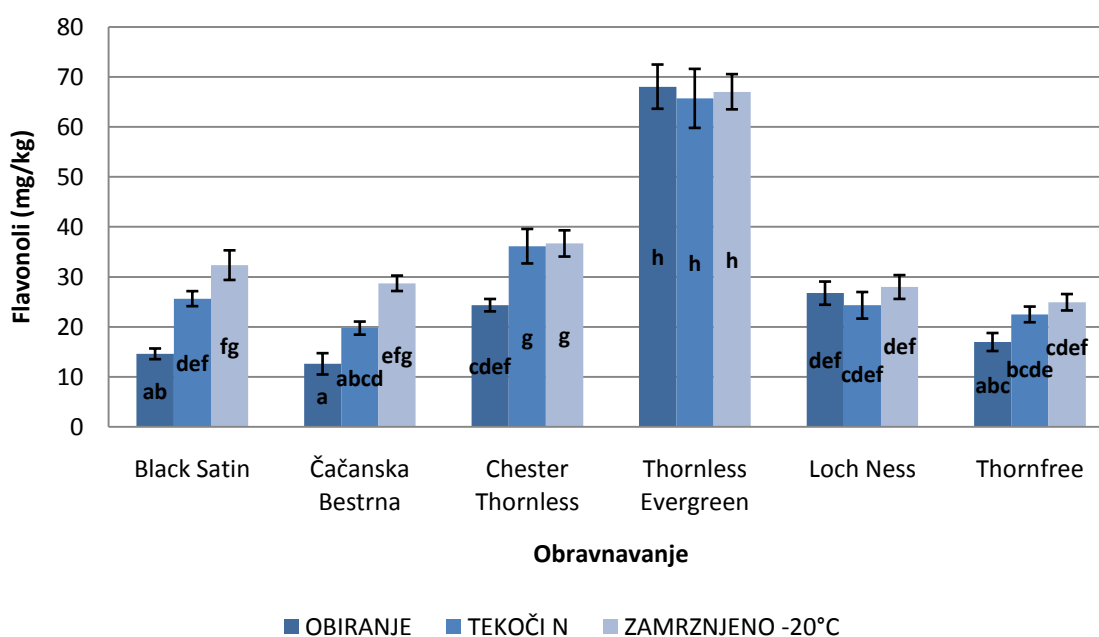
Slika 5: Vsebnost elagne kisline v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

Preglednica 6: Povprečje vsebnosti elagne kisline vseh sort (mg/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	Elagna kislina (mg/kg)		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	28,67	3,58	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	25,45	3,06	A
Zamrzovanje na -20 °C	40,97	3,22	B

V preglednici 6 vidimo, da je po zamrzovanju na -20 °C vsebnost elagne kisline največja. Najmanjša pa je po zamrzovanju s tekočim dušikom, vendar se ta zmanjša zelo malo glede na vsebnost ob obiranju.

#### 4.5.2 Flavonoli



Opomba: različne črke (a, b, c, ...) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

Slika 6: Vsebnost flavonolov v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

Pri sorti 'Thornless Evergreen' je vsebnost flavonolov največja, med obravnavanji ni statistično značilnih razlik. Najmanjšo vsebnost flavonolov ob obiranju imajo sorte 'Black Satin', 'Čačanska Bestrna' in 'Thornfree'.

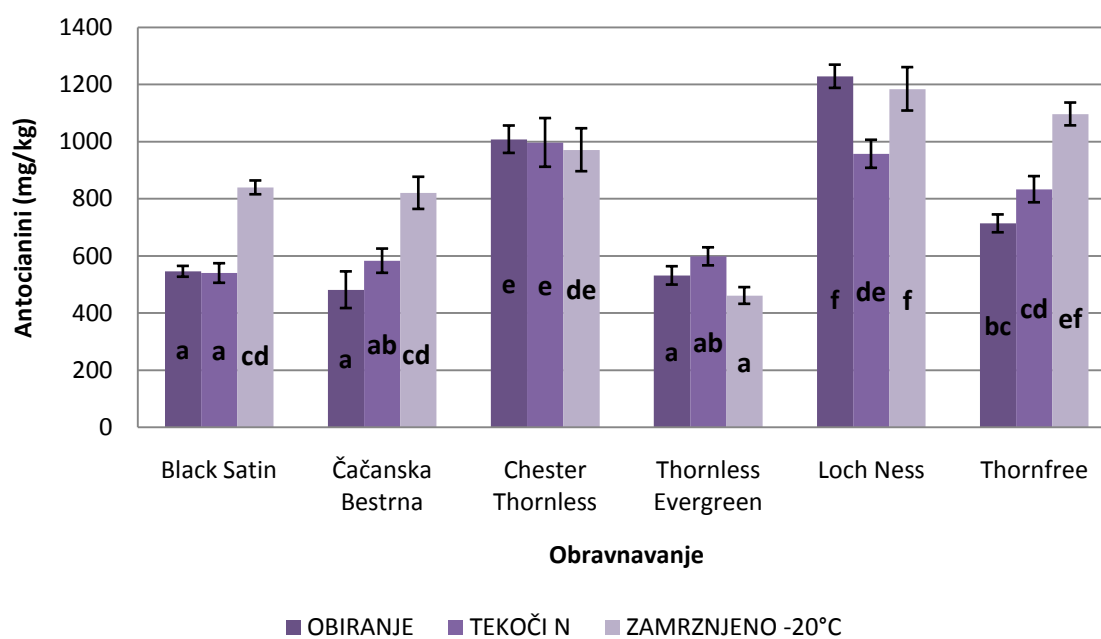
Pri sorti 'Chester Thornless' se vsebnost flavonolov po obeh načinih zamrzovanja najbolj poveča. Spremembe so statistično značilne. Med načinoma zamrzovanja pa v vsebnosti flavonolov ni statistično značilnih razlik.

Preglednica 7: Povprečje vsebnosti flavonolov vseh sort (mg/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	Flavonoli (mg/kg)		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	27,23	2,16	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	32,34	2,73	B
Zamrzovanje na -20 °C	36,28	2,44	C

V preglednici 7 vidimo, da med izmerjenimi vrednostmi pri vseh obravnavanjih obstajajo statistično značilne razlike. Največja vsebnost flavonolov je bila izmerjena po zamrzovanju s tekočim dušikom, najmanjša pa ob obiranju.

#### 4.5.3 Antocianini



Opomba: različne črke (a, b, c) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

Slika 7: Vsebnost antocianinov v proučevanih sortah robide (*Rubus* sp.) pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

Najvišjo vsebnost antocianinov ob obiranju je imela sorta 'Loch Ness', kot vidimo na sliki 7. Ta vsebnost se je statistično značilno zmanjšala po zamrzovanju s tekočim dušikom, po zamrzovanju na -20 °C pa ni statistično značilnih razlik.

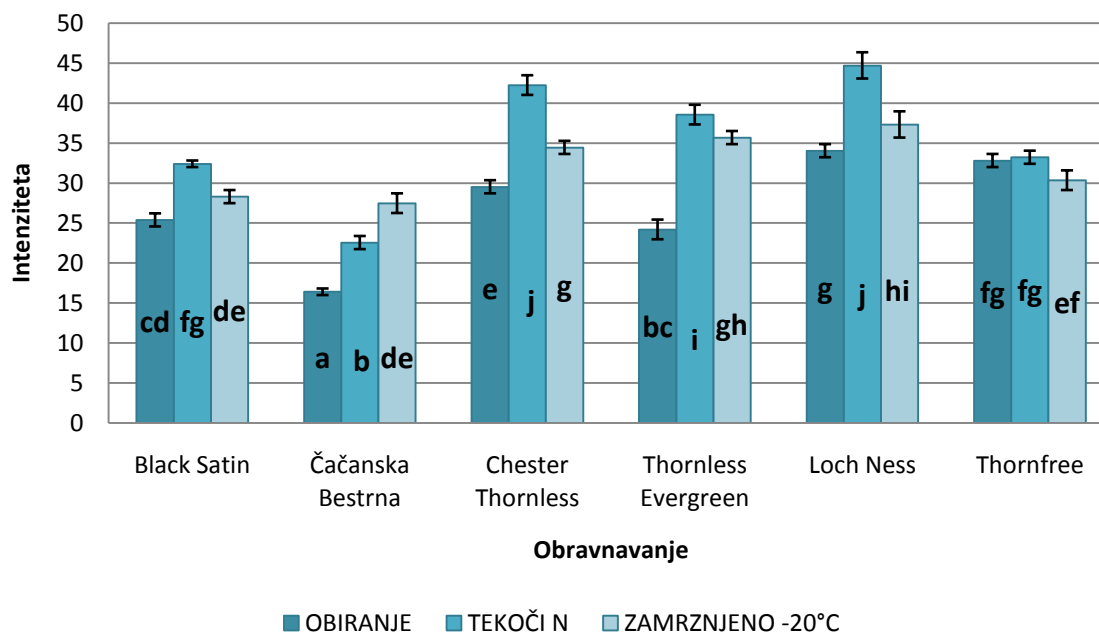
Pri sorti 'Chester Thornless' in 'Thornless Evergreen' med obravnavanji ni statistično značilnih razlik. Statistično značilno se vsebnost antocianinov najbolj poveča pri sorti 'Black Satin' in 'Čačanska Bestrna' in sicer po zamrzovanju na -20 °C.

Preglednica 8: Povprečje vsebnosti antocianinov vseh sort (mg/kg) glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	Antocianini (mg/kg)		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	751,34	39,19	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	751,23	48,05	A
Zamrzovanje na -20 °C	895,43	50,11	B

Vsebnost antocianinov se najbolj zviša po zamrzovanju na -20 °C. Vsebnost antocianinov se po zamrzovanju s tekočim dušikom statistično značilno ne razlikuje od vsebnosti ob obiranju.

#### 4.6 INTEZITETA BARVE



Opomba: različne črke (a, b, c, ...) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

Slika 8: Intenziteta barve v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

Ob obiranju je bila barva najbolj intenzivna pri sorti 'Loch Ness', najmanj pa pri sorti 'Čačanska bestrna'. Intenziteta barve se je najbolj povešala po zamrzovanju s tekočim dušikom pri sorti 'Chester Thornless' in sorti 'Loch Ness', najmanj pa pri sorti 'Black Satin' po zamrzovanju na -20°C.

Intenziteta barve se je glede na obiranje po zamrzovanju s tekočim dušikom statistično značilno povešala pri vseh sortah razen pri sorti 'Thornfree'. Enako so statistično značilne razlike v intenziteti barve glede na obiranje po zamrzovanju na -20 °C z izjemo sort 'Black Satin' in 'Thornfree' pri katerih se intenziteta barve statistično značilno ni spremenila.

Preglednica 9: Povprečje intenzivnosti barve vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	Intenziteta barve		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	27,13	0,82	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	35,60	1,03	C
Zamrzovanje na -20 °C	32,25	1,09	B

Ob obiranju je bila barva soka najmanj intenzivna, najbolj intenzivna barva soka pa je bila izmerjena po zamrzovanju s tekočim dušikom. Intenzivnost barve se med vsemi obravnavanji statistično značilno razlikujejo.

#### 4.7 TON BARVE

V preglednici 10 vidimo, da je bil pri izračunanih povprečnih vrednostih ton barve najnižji ob obiranju, najvišji pa po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  se je zvišal bolj, kot po zamrzovanju s tekočim dušikom glede na vrednost ob obiranju.

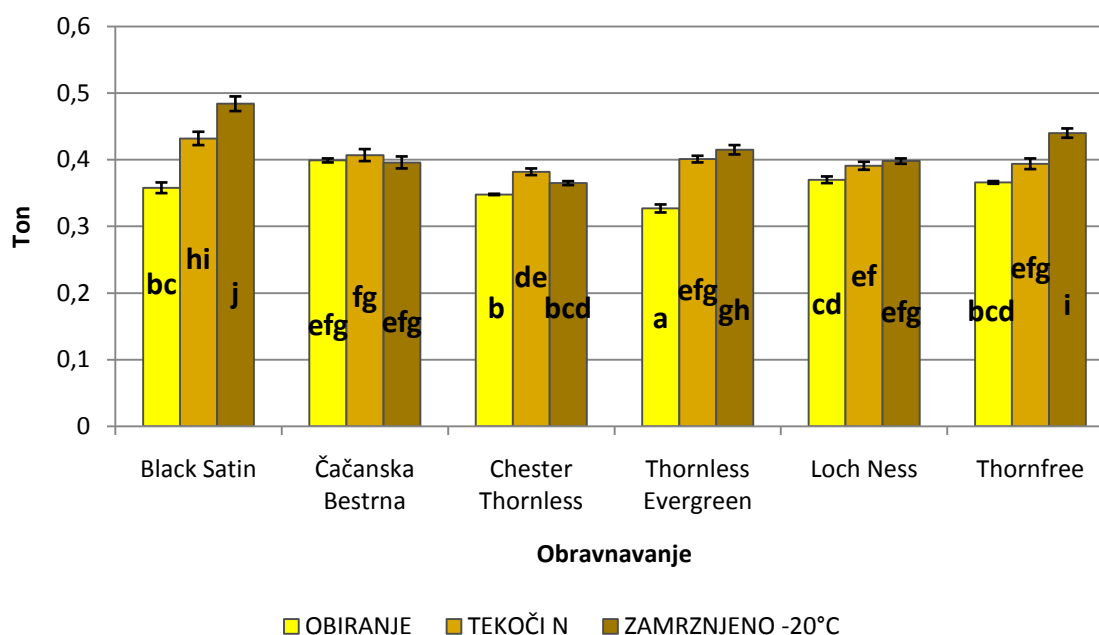
Preglednica 10: Povprečje tona barve vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	Ton barve		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	0,361	0,004	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	0,401	0,007	B
Zamrzovanje na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$	0,416	0,007	C

Na sliki 9 vidimo, da se je ton barve najbolj povečal pri sorti 'Black Satin' po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Povečal se je tudi po zamrzovanju s tekočim dušikom. Med vrednostmi so statistično značilne razlike.

Ton barve se je povečal pri vseh obravnavanih sortah, in sicer se je pri vseh sortah razen pri sorti 'Chester Thornless' in 'Čačanska Bestrna' bolj povečal po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Najmanj se je povečal pri sorti 'Čačanska Bestrna', kjer med dobljenimi vrednostmi ni statistično značilnih razlik.





Opomba: različne črke (a, b, c, ...) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

Slika 9: Ton barve v proučevanih sortah robide pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

#### 4.8 SPREMEMBA pH

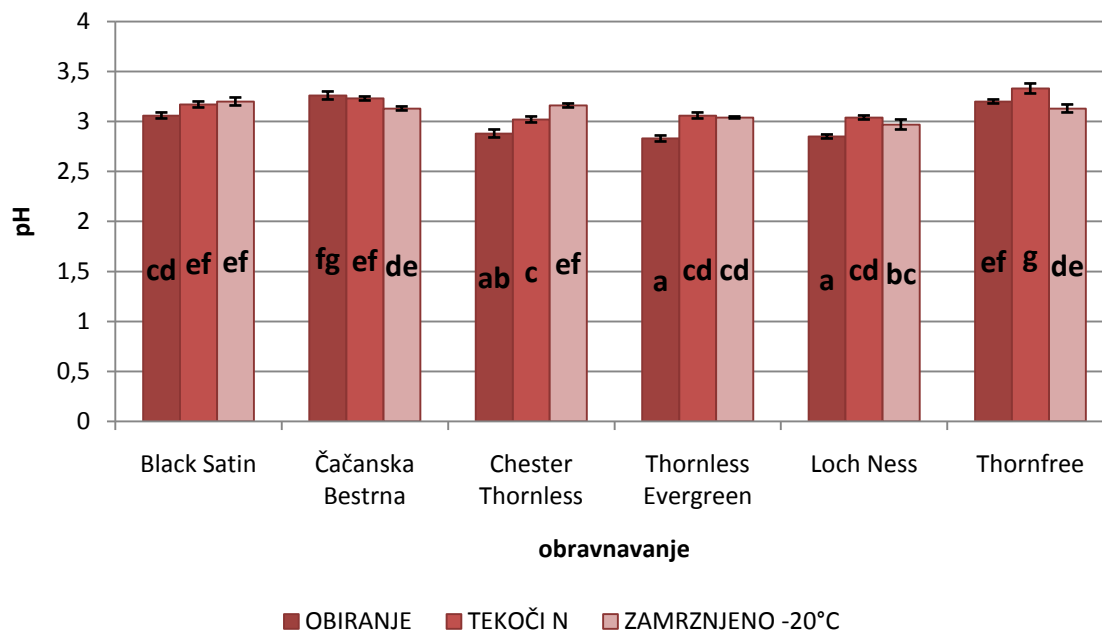
Pri sorti 'Loch Ness' se je pH soka zvišal. pH soka se po obeh načinih zamrzovanja statistično značilno razlikuje od pH soka ob obiranju. Statistično značilnih razlik ni tudi med pH soka pri počasnem zamrzovanju in zamrzovanju s tekočim dušikom.

Sorti 'Black Satin' in 'Chester Thornless' imata po obeh načinih zamrzovanja pH soka višji od pH soka ob obiranju. PH soka se po obeh načinih zamrzovanja statistično značilno razlikuje od pH soka ob obiranju. Med pH soka po zamrzovanju s tekočin dušikom in pH soka po počasnem zamrzovanju pri sorti 'Black Satin' ni statistično značilnih razlik. Pri sorti 'Chester Thornless' pa so statistično značilne razlike tudi med pH soka po počasnem zamrzovanju in zamrzovanju s tekočim dušikom. pH soka se je najbolj povišal po počasnem zamrzovanju na -20 °C.

Sorta 'Thornless Evergreen' je imela pH soka ob obiranju statistično značilno nižji od pH soka po zamrzovanju na -20 °C in zamrzovanju s tekočim dušikom. Med pH soka pri zamrzovanju na -20 °C in pH soka po zamrzovanju s tekočim dušikom ni statistično značilnih razlik.

Pri sorti 'Čačanska Bestrna' se je pH soka po zamrzovanju na -20 °C statistično značilno znižal glede na pH soka ob obiranju. Med pH soka ob obiranju in po zamrzovanju s

tekočim dušikom ni statistično značilnih razlik. Statistično značilnih razlik ni tudi med pH soka po zamrzovanju s tekočim dušikom in zamrzovanju na -20 °C.



Opomba: različne črke (a, b, c) prikazujejo značilne razlike med proučevanimi robidami

Slika 10: Sprememba pH v proučevanih sortah robide (*Rubus sp.*) pri različnih načinih zamrzovanja. n=5, prikazana so povprečja ± SN.

Preglednica 11 nam prikazuje, da je bil najnižji pH izmerjen pri plodovih ob obiranju, najvišji pa po zamrzovanju s tekočim dušikom.

Preglednica 11: Povprečje pH soka vseh sort glede na obravnavanje, standardna napaka (SN) in statistično značilne razlike. Različne črke (A, B, C) prikazujejo značilne razlike med načinom zamrzovanja

Obravnavanje	pH		
	Povprečje	SN	Značilne razlike
Ob obiranju	3,01	0,03	A
Zamrzovanje s tekočim dušikom	3,14	0,03	C
Zamrzovanje na -20 °C	3,10	0,03	B

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

Značilno črno barvo dajejo robidam predvsem antocianini od katerih prevladujeta cianidin-3-glukozid in cianidin-3-rutinozid. Robide, ki so bile zamrznjene s tekočim dušikom, delno spremenijo barvo iz značilne črne v temno rdečkasto barvo. Ta sprememba barve vpliva na prodajno ceno, še posebej če je produkt namenjen za izvoz. Iz teh razlogov se pogosteje uporablja postopek počasnega zamrzovanja (Randelović in sod., 2008).

Pri našem poskusu smo spremljali intenziteto barve in ton. Ton barve predstavlja razmerje med rumeno in rdečo barvo. Intenziteta se je najbolj povečala pri vseh sortah po zamrzovanju s tekočim dušikom. Prav tako se je povečal ton barve pri vseh sortah, to pomeni, da se je povečal odstotek rumene barve v soku. Sprememba tona barve je največja po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Pri sortah 'Čačanska Bestrna' in 'Chester Thornless' se je ton barve minimalno povišal.

Randelović in sod. (2008) poročajo, da so meritve pokazale spremembe v pH-ju soka, in sicer pri obeh načinih zamrzovanja. Najnižji izmerjen pH je bil pri plodovih, ki so bili hitro zamrznjeni. Pri hitri zamrznitvi plodov je sprememba pH večja, kot pri počasnem zamrzovanju.

Rezultati našega poskusa kažejo, da se je pH soka po hitrem zamrzovanju s tekočim dušikom najbolj povišal le pri sorti 'Loch Ness'. Pri sortah 'Black Satin' in 'Chester Thornless' se je najbolj zvišal po počasnem zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Pri sortah 'Thornless Evergreen' in 'Čačanska Bestrna' pa se je pH soka celo znižal, pri počasnem zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  bolj kot pri zamrzovanju s tekočim dušikom. Minimalne spremembe v pH soka pa smo ugotovili pri sorti 'Thornfree'.

Famiani in sod. (2009), Ozgen in sod. (2009), Basson in sod. (2010) so ugotovili, da sta v jagodičevju prisotna dva glavna sladkorja, in sicer glukoza in fruktoza. Na okus sadja ne vpliva samo raven sladkorja, pač pa tudi vsebnost organskih kislin (Cordenunsi in sod., 2002). Citronska in jabolčna kislina sta glavni kislini prisotni v jagodičevju (Viljakainen in sod., 2002; Basson in sod., 2010.; Ercisli in Orhan, 2008.; Veberič in sod., 2009). Citronska kislina predstavlja od 30 do 95 odstotni delež vseh organskih kislin v jagodičevju.

Al-Yahyai in Al-Kharusi (2012) sta v študiji, ki je preučevala dolgoročne spremembe v fizičnih in kemijskih lastnostih dateljnov pri zamrzovanju v različnih stopnjah zorenja, dobila rezultate, ki so pokazali nihanja v izmerjenih kemijskih lastnostih dateljnov, hranjenih na  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Hramba do 6 mesecev je povečala vsebnost skupnih sladkorjev, skupnih kislin in pH sadežev. Nepojasnen dvig skupnih kislin po 6 mesecih hrambe je vodil k znatnemu znižanju razmerja med skupnimi sladkorji in skupnimi kislinami po 10 mesecih hrambe, v

primerjavi z visokim razmerjem med skupnimi kislinami in skupnimi sladkorji ob obiranju sadežev.

Razmerje med vsebnostjo skupnih sladkorjev in skupnih organskih kislin je tisto, ki daje sadju okus. Sadje, ki je sladkega okusa, ni nujno, da vsebuje visoko raven sladkorjev, pač pa vsebuje nizko raven organskih kislin, še posebej jabolčne kisline (Mikulič-Petkovšek in sod., 2012).

Pri našem poskusu smo ugotovili, da se v plodovih vsebnost skupnih organskih kislin po zamrzovanju na oba načina poveča, in sicer vsebnost kislin nekoliko bolj poraste pri počasnem zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Izjema je sorta robide 'Thornfree' pri kateri se je vsebnost organskih kislin po zamrzovanju zmanjšala. Prav tako se pri večini sort robide poveča vsebnost sladkorjev skoraj za 50 %, tu sta izjemi sorti 'Loch Ness' in 'Čačanska Bestrna' pri katerih se je vsebnost sladkorja zmanjšala. Izjema pa je ponovno tudi sorta 'Thornfree' pri kateri so spremembe vsebnosti sladkorja v plodu minimalne. Razmerje med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami pa ostane po obeh načinih zamrzovanja enako, kar pomeni, da se okus plodov po zamrzovanju ne spremeni.

Dolgotrajno shranjevanje je vplivalo tudi na vsebnost vitamina C. Po 6 mesecih shranjevanja so bile izgube 16-19 %, po 10 mesecih shranjevanja pa so izgube še večje (23-38 %). Avtorji, kot so Randelović in sod. (2008) so ugotovili, da se vsebnost vitamina C zmanjša po zamrzovanju plodov. Največja izguba vitamina C se zgodi pri počasnem zamrzovanju, kar je še dodatna potrditev, da je čas zelo pomemben parameter pri poskusih in vpliva na negativne spremembe produkta. Če primerjamo vsebnost vitamina C pri počasnem in hitrem zamrzovanju, je pri slednjem izguba manjša.

Rezultati našega poskusa kažejo, da so izgube vitamina C pri vseh sortah po zamrzovanju velike, razen pri sorti 'Thornfree'. Po zamrzovanju s tekočim dušikom so izgube še nekoliko večje, kot pri zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Razen pri sorti 'Thornless Evergreen' se po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  izgubi več vitamina C kot pri zamrzovanju s tekočim dušikom.

Randelović in sod. (2008) so ugotovili, da vsebnost skupnih antocianinov ostaja skoraj nespremenjena pri hitrem in počasnem zamrzovanju, kar se ujema tudi z ugotovitvami drugih avtorjev Janković in Milanović (1991).

Poiana in sod. (2010) so ugotovili, da po desetih mesecih robide in drugo jagodičevje hranjeno na  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  pred tem pa hitro zamrznjeno, ne kaže bistvenih razlik v vsebnosti vitamina C in skupnih fenolov. V študiji so opazili le majhen porast antocianinov takoj po zamrznitvi, kar je najverjetneje posledica uničenja celične strukture v plodovih. Na koncu shranjevanja so ugotovili, da se je vsebnost skupnih fenolov pri robidi zmanjšala kar za 42,41 %.

Wrolstad in sod. (1990) so v študiji, kjer je bila ovrednotena vsebnost antocianinov pri dveh sortah robide 'Thornfree' in 'Čačanska Bestrna' po 5 tednih in 11 mesecih hranjenja pri -18 °C ugotovili, da imajo antocianini ključno vlogo pri izraženosti barve, pri različnem svežem in obdelanem sadju, vendar so tekom skladiščenja zelo nestabilni. Na njihovo stabilnost vplivajo temperatura, pH, kisik, vlaga (Tsai in Huang, 2004). Znano je tudi, da prisotnost sladkorjev v sadju stabilizira antocianine.

Pri spremembah v antocianinih pri našem poskusu, vsebnost le teh se pri vsaki obravnavani sorti spreminja nekoliko drugače, le pri sorti 'Thornfree' in 'Čačanska Bestrna' se je vsebnost povečala. Vsebnost elagne kisline se je pri vseh obravnavanih sortah rahlo povečala, izraziteje pri sorti 'Black Satin' in 'Čačanska Bestrna' po zamrzovanju na -20 °C. Prav tako se je pri vseh sortah za malenkost povečala vsebnost flavonolov.

## 5.2 SKLEPI

Predvidevali smo, da se bodo plodovi po hranjenju pri -20 °C in po zamrznitvi s tekočim dušikom razlikovali v barvi soka, kar bo posledica višjega pH. Vsebnost fenolov, vitamina C in sladkorjev pa bo manjša. Vsebnost organskih kislin bo večja, zvišalo pa se bo tudi razmerje med organskimi kislinami in skupnimi sladkorji.

Na podlagi naše raziskave smo prišli do naslednjih sklepov:

- Vsebnost sladkorjev se pri vseh sortah po obeh načinih zamrzovanja poveča, najbolj se poveča po zamrzovanju s tekočim dušikom. Vsebnost organskih kislin se po obeh načinih zamrzovanja poveča enako. Med vsebnostjo po zamrzovanju s tekočim dušikom in po zamrzovanju na -20 °C ni razlik. Razmerje med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami se po zamrzovanju in dolgotrajnemu hranjenju ne spreminja.
- Po zamrzovanju s tekočim dušikom so v povprečju vse sorte izgubile največ vitamina C. Izgube vitamina C so bile velike tudi po zamrzovanju na -20 °C. Izstopa sorta 'Thornfree' pri kateri je bila vsebnost vitamina C že ob obiranju zelo nizka in po obeh načinih zamrzovanja pri izgubi ni statistično značilnih razlik.
- Vsebnost elagne kisline in antocianinov se je najbolj povečala po zamrzovanju na -20 °C. Po zamrzovanju s tekočim dušikom pa v vsebnosti elagne kisline glede na obiranje ni bilo razlik. Vsebnost flavonolov se je v povprečju povečala po obeh načinih zamrzovanja, na -20 °C nekoliko bolj, najmanjša pa je bila ob obiranju.
- Barva soka obravnavanih sort robid, je postala najintenzivnejša po zamrzovanju s tekočim dušikom. Tudi po zamrzovanju na -20 °C je bila barva soka bolj intenzivna kot ob obiranju. Ton barve soka pa se je spremenil malo drugače, in sicer je bil ton najvišji po zamrzovanju na -20 °C. Povišal se je tudi po zamrzovanju s tekočim dušikom. Najnižji ton barve pa je imel sok plodov ob obiranju.

- Po naših pričakovanjih, se je pH soka po obeh načinih zamrzovanja povišal. Najbolj se je povišal po zamrzovanju s tekočim dušikom.

Potrdimo lahko, da dolgotrajno hranjenje in dva različna načina zamrzovanja podobno vplivajo na izgubo vitamina C pri vseh sortah. Tudi ton in intenziteta barve ter pH soka so se po obeh načinih zamrzovanja pri vseh sortah povišali. Tudi vsebnost sladkorja in organskih kislin se po obeh načinih zamrzovanja poveča. Na vsebnost elagne kisline in antocianinov zamrzovanje s tekočim dušikom in shranjevanje nima vpliva, saj se vrednosti ne spremenijo. Glede na izmerjene vrednosti je sorta 'Thornfree' najmanj občutljiva na oba načina zamrzovanja in dolgotrajno hranjenje. Sorta 'Loch Ness' pa ima najboljše vrednosti ob obiranju.

## 6 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil preučiti, kako dva različna načina zamrzovanja robid, zamrzovanje s tekočim dušikom in zamrzovanje na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  in dolgotrajno hranjenje, vplivata na vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov v plodovih. Zanimala nas je tudi sprememba barve in pH soka.

Analizirali smo 6 sort robide: 'Loch Ness', 'Thornless Evergreen', 'Black Satin', 'Chester Thornless', 'Thornfree' in 'Čačanska Bestrna'. Robide so dozorele v enakih klimatskih razmerah.

Imeli smo tri obravnavanja plodov vsake sorte: plodove ob obiranju, hitro zamrznjene s tekočim dušikom in počasi zamrznjene na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vsem smo izmerili fenolne spojine, vitamin C, vsebnost sladkorjev, vsebnost organskih kislin (HPLC), pH soka, ter ton in intenziteto barve.

Vsebnost sladkorja, organskih kislin ter razmerje med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami se po obeh načinih zamrzovanja večinoma pri vsaki obravnavani sorti spreminja drugače, vendar če izračunamo povprečje lahko rečemo, da se vrednosti pri vseh sortah po zamrzovanju povečajo. Vsebnost vitamina C se po obeh načinih zamrzovanja pri vseh obravnavanih sortah zmanjša. Pri večini sort se vsebnost vitamina C bolj zmanjša po zamrzovanju s tekočim dušikom, vendar med vsebnostjo po zamrzovanju s tekočim dušikom in zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  ni statistično značilnih razlik.

Elagna kislina se po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  pri večini sort poveča, vendar različno, pri nekaterih sortah je sprememba velika pri drugih komaj zaznana. Prav tako se po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  pri večini obravnavanih sort bolj poveča vsebnost flavonolov in antocianov. Vsebnost teh metabolitov se pri večini sort poveča tudi pri zamrzovanju s tekočim dušikom, vendar razlika v vsebnosti ni tako očitna kot po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Barva robid je postala pri večini sort bolj intenzivna po obeh načinih zamrzovanja. Pri redkih sortah, ki smo jih obravnavali je intenziteta barve postala nižja. Ton barve se je glede na ton ob obiranju po obeh načinih zamrzovanja značilno povečal. Nekoliko bolj se je povišal po zamrzovanju na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Pri vseh sortah in po obeh načinih zamrzovanja in hranjenju se je pH povišal.

Ugotovili smo, da se različne sorte robid pri enakih pogojih hranjenja odzovejo različno. Vendar če izračunamo povprečne vrednosti vidimo, da se vrednosti pri vseh dejavnikih povečajo, razen pri vitaminu C, kjer se vrednosti zmanjšajo. Vrednosti ostanejo nespremenjene samo pri razmerju med skupnimi sladkorji in organskimi kislinami.

## 7 VIRI

- Al-Yahyai R., Al-Kharusi L. 2012. Physical and chemical quality attributes of freeze-stored dates. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14, 1: 97-100
- Basson C. E., Groenewald J. H., Kossmann J., Cronje C., Bauer R. 2010. Sugar and acid-related quality attributes and enzyme activities in strawberry fruits: invertase is the main sucrose hydrolysing enzyme. *Food Chemistry*, 121: 1156-1162
- Cecilia M., Nunes N. 2008. *Color atlas of postharvest quality of fruits and vegetables*. Iowa, Blackwell Publishing: 480 str.
- Connor A. M., Finn C. E., Alspach P. A. 2005. Genotypic and environmental variation in antioxidant activity and total phenolic content among blackberry and hybridberry cultivars. *Journal of Food Science and Agriculture*, 130: 527-533
- Cordenunsi B. R., do Nascimento J. R. O., Genovese M. I., Lajolo F. M. 2002. Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 2581-2600
- Črnko J., 1990. *Naš sadni izbor*. Ljubljana, Kmečki glas: 244 str.
- Daubeny H. A. 1996. Brambles. In *fruit breeding. Vine and Small Fruits*, 2: 109-190
- Ercisli S., Orhan E. 2008. Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. *Horticultural Science*, 116: 41 -60
- Famiani F., Baldicchi A., Battistelli A., Moscatello S., Walker R. P. 2009. Soluble sugar and organic acid contents and the occurrence and potential role of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) in gooseberry (*Ribes grossularia* L.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84: 249-254
- Fragoso S., Guasch J., Acena L., Mestres M., Busto O. 2011. Prediction of red wine colour and phenolic parameters from the analysis of its grape extract. *Journal of Food and Science Technology*, 150: 2569-2575
- Gliha R. 1997. *Sorte krušaka u suvremenoj proizvodnji*. Zagreb, Fragaria d. o. o.: 278 str.
- Green D. L. 2001. The pollination home page  
<http://www.pollinator.com/blackberry.htm> (12.11.2013)
- Gvozdrenović D. 1989. *Od obiranja sadja do prodaje*. Ljubljana. Kmečki glas: 160 str.



- Hull J.W. 1975. Thornlees blackberries for the home garden. Home and Garden Bulletin, 207: 8
- Janković M., Milanović B. 1991. Uticaj brzine zamrzavanja na promenu boje kupine. V: Prvo savetovanje prehrambenih tehnologija Srbije. Zbornik radova. Beograd, Poljoprivredni fakultet: 97-105
- Kaume L., Howard L. R., Devareddy L. 2012. The blackberry fruit: A review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60: 5716-5727
- Krewer G., Fonesca M., Brannen P., Horton D. 2004. Home garden: raspberries, blackberries, 766: 1-4  
<http://www.caes.uga.edu/extension/cobb/anr/Documents/BlackberriesandRaspberriesUGA.pdf> (17.1.2014)
- Meiosis. Blackberries. Breeder's description Čačanska bestna. Meosis Ltd. (23.3.2014)  
[http://www.meiosis.co.uk/fruit/cacanska\\_bestna.htm](http://www.meiosis.co.uk/fruit/cacanska_bestna.htm) (12.11.2013)
- Mikulič-Petkovšek M., Schmitzer V., Slatnar A., Štampar F., Veberič R., 2012. Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. Journal of Food Science, 77, 10: C1064-C1070
- Mikulič-Petkovšek M., Slatnar A., Schmitzer V., Štampar F., Veberič R., Koron D. 2013. Chemical profile of black currant fruit modified by different degree of infection with black currant leaf spot. Horticultural Science, 46: 399-409
- Nikolić M. D., Milivojević J. M., 2010. Jagodaste voćke. Tehnologija gajenja. Čačak, Naučno voćarsko društvo Srbije: 326 str.
- Nutritiondata. Nutrition facts for raw blackberries (2012)  
<http://nutritiondata.self.com/facts/fruits-and-fruit-juices/1848/2> (5.3.2013)
- Ozgen M., Serce S., Kaya C. 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin – rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. Horticultural Science, 119: 275-290
- Poiana M., Moigradean D., Raba D., Alda L., Popa M. 2010. The effect of long-term frozen storage on the nutraceutical compounds, antioxidant properties and color indices of different kinds of berries. Timisoara, Romania. Journal of Food, Agriculture and Environment, 8, 1: 54-58

- Randelović D. G., Vračar L. O., Tepić A. N. 2008. Colour changes of blackberry as affected by freezing rate. *Acta periodica tehnologica*, 39: 63-68
- Reyes-Carmona J., Yousef G. G., Martínez-Peniche R. A., Lila M. A. 2005. Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions. *Journal of Food and Science*, 70, 7: 497-503
- Sellappan, S., Akoh, C. C., Krewer, G. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 8: 2432-2438
- Siriwoharn T., Wrolstad R. E., Finn C. E. in Pereira C. B. 2004. Influence of cultivar maturity and sampling of blackberry (*Rubus* l. Hybrids) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 8021-8030
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. *Sadjarstvo*. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Taiz L., Zeiger E. 2006. *Plant physiology*. 4th edition. USA, Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates: 746 str.
- Tsai P. J., Huang H. P. 2004. Effect of polymerization on antioxidant capacity of anthocyanins in roselle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37: 313-318
- Veberič R., Jakopič J., Štampar F., Schmitzer V. 2009. European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food Chemistry*, 114: 511-515
- Veberič R., Štampar F., Schmitzer V., Cunja V., Zupan A., Koron D., Mikulič-Petkovšek M. 2014. Changes in the contents of anthocyanins and other compounds in blackberry fruits due to freezing and long-term frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (v tisku)
- Viljakainen S., Visti A., Laakso S. 2002. Concentrations of organic acids and soluble sugars in juices from Nordic berries. *Acta of Agriculture B-Soil Plant Science*, 52: 101-109
- Wada L., Ou B. 2002. Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberrries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 12: 3495-3500
- Wang S.Y., Lin H.S. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 140-146

Wrolstad R.E., Skrede G., Lea P., Enersen G. 1990. Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of Food Science*, 55: 1064-1065, 1072

## **ZAHVALA**

Najlepše se zahvaljujem mentorju prof. dr. Robertu Veberiču za spodbudo, strokovno vodstvo, posojanju gradiva in vso ostalo pomoč pri nastajanju diplomskega dela.

Zahvaljujem se tudi Vlasti Cunja za vso pomoč pri opravljanju poskusa v laboratoriju Katedre za sadjarstvo.

Zahvala gre tudi članoma komisije prof. dr. Jerneju Jakšetu in prof. dr. Marijani Jakše. Za pregled diplomskega dela se zahvaljujem tudi dr. Karmen Stopar.

Posebna hvala vsem, ki ste mi med študijem kakorkoli pomagali in posojali zapiske, ter pomagali pri pisanju diplomskega dela. Včasih tudi prenašali veliko moje slabe volje. Fantu Andreju, ki je doma kuhal in pospravljaj medtem ko sem bila zabetonirana pred računalnikom.