

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
MEDNARODNI ŠTUDIJSKI PROGRAM SADJARSTVO

Anže SUHADOLNIK

**PRIMERJAVA IZBRANIH PRIMARNIH IN
SEKUNDARNIH METABOLITOV POPULACIJ
BOROVNIC (*Vaccinium myrtillus* L.) IZ RAZLIČNIH
RASTIŠČ**

MAGISTRSKO DELO

Mednarodni študijski program Sadjarstvo – 2. stopnja

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
MEDNARODNI ŠTUDIJSKI PROGRAM SADJARSTVO

Anže SUHADOLNIK

**PRIMERJAVA IZBRANIH PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH
METABOLITOV POPULACIJ BOROVRTIC (*Vaccinium myrtillus* L.) IZ
RAZLIČNIH RASTIŠČ**

MAGISTRSKO DELO
Mednarodni študijski program Sadjarstvo – 2. stopnja

**COMPARISON OF SELECTED PRIMARY AND SECONDARY
METABOLITES IN BILBERRY (*Vaccinium myrtillus* L.) FROM
DIFFERENT LOCATIONS**

M. SC. THESIS
International Master of Fruit Science

Ljubljana, 2013



FREIE UNIVERSITÄT BOZEN
LIBERA UNIVERSITÀ DI BOLZANO
FREE UNIVERSITY OF BOZEN · BOLZANO



University of Ljubljana
Biotechnical faculty

INTERNATIONAL MASTER OF FRUIT SCIENCE

Master Degree Thesis

COMPARISON OF SELECTED PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN BILBERRY (*Vaccinium myrtillus* L.) FROM DIFFERENT LOCATIONS

Anže SUHADOLNIK

Academic year: 2012/2013

Supervisor

prof. dr. Robert VEBERIČ

Committee members

prof. dr. Franc BATIČ, University of Ljubljana, Biotechnical Faculty

prof. dr. Dominik VODNIK, University of Ljubljana, Biotechnical Faculty

dr. Ivo ONDRAŠEK, Mendel University in Brno, Faculty of Horticulture

prof. dr. Tagliavini MASSIMO, Free University of Bozen Bolzano, Faculty of Science and Technology

Magistrsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svojega magistrskega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške Fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddal v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Anže SUHADOLNIK

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2-IMFS
DK UDK 634.73:581.5:543.61:581.19(043.2)
KG sadjarstvo/borovnica/*Vaccinium myrtillus*/sladkorji/organske kisline/fenoli/rastišče
AV SUHADOLNIK, Anže
SA VEBERIČ, Robert (mentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Mednarodni študijski program Sadjarstvo
LI 2013
IN PRIMERJAVA IZBRANIH PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV DIVJIH POPULACIJ BOROVCIC (*Vaccinium myrtillus* L.) IZ RAZLIČNIH RASTIŠČ
TD Magistrsko delo (Mednarodni študijski program Sadjarstvo- 2. stopnja)
OP X, 38 [1] str., 6 pregl., 9. sl., 36 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Vsebnost metabolitov neposredno vpliva na kakovost plodov borovnice (*Vaccinium myrtillus* L.). Vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov je odvisna od ravnih pogojev, te pa so odvisni od lokacije. V poskusu leta 2013 smo primerjali 6 lokacij v osrednji Sloveniji. S tekočinsko kromatografijo (HPLC) smo določili vsebnost sladkorjev (saharoza, glukoza in fruktoza), organskih kislin (citronska, kininska, jabolčna, šikimska in fumarna kislina) ter fenolov (hidroksicimetne kisline, flavanoli, flavonoli, antociani in depsidi). Vsebnosti smo primerjali glede na sončna in senčna rastišča ter lego rastišča (severna, južna pobočja). Ugotovili smo, da borovnice iz sončnih rastišč vsebujejo več fenolnih spojin in manj organskih kislin. Vsebnost sladkorjev ni bila odvisna od rastišča. Lega rastišča vpliva na vsebnost sladkorjev, na vsebnost organskih kislin in fenolov pa ne. Borovnice iz južnega pobočja so imele več sladkorjev. Na vseh rastiščih so največji delež fenolov predstavljali antociani. Največji delež organskih kislin predstavlja citronska kislina (50 %) in največji delež sladkorjev glukoza in fruktoza (vsaka 48,7 %). Razlike v vsebnosti metabolitov med rastišči so lahko posledica neenakomerne zrelosti plodov. Priporočamo, da se v prihodnje bolj natančno določi parametre zrelosti, da se bo lahko bolj natančno določilo zrelost.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2-IMFS
DC UDC 634.73:581.5:543.61:581.19(043.2)
CX fruit growing/bilberry/*Vaccinium myrtillus*/sugars/organic acids/phenolics/habitat
AU SUHADOLNIK, Anže
AA VEBERIČ, Robert (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, International Master of Fruit Science
PY 2013
TY COMPARISON OF SELECTED PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN BILBERRY (*Vaccinium myrtillus* L.) FROM DIFFERENT LOCATIONS
DT M. Sc. Thesis (International Master of Fruit Science)
NO X, 38 [1] p., 6 tab., 9 fig., 36 ref.
LA sl.
AL sl/en
AB The content of metabolites has a direct influence on the quality of bilberry fruits (*Vaccinium myrtillus* L.). Primary and secondary metabolites content is dependent on growth conditions and those are dependent on location. In an experiment in 2013 6 different locations in central Slovenia were compared. With liquid chromatography (HPLC), the content of sugars (sucrose, glucose and fructose), organic acids (citric, quinic, malic, shikimic and fumaric acid) and phenols (hydroxycinnamic acids, flavonols, flavanols, anthocyanins and depsides) was determined. The content of metabolites was compared according to sun exposure (sunny/shadowy location) and site orientation (north and south slopes). Bilberries from sunny locations have higher amounts of phenols and lower amounts of organic acids. The amount of sugars was not dependent on sun exposure. The orientation of the slope influenced sugar content, but not the content of organic acids and phenols. Bilberries from south oriented slopes had higher content of sugars. Anthocyanins represent the biggest part of phenols. Citric acid represents 50% of total organic acids. Glucose and fructose each represent 48.7% of total sugars. Differences between locations can be due to different ripeness of fruits. Ripeness should be better determined in future.

KAZALO VSEBINE

	KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
	KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
	KAZALO VSEBINE	V
	KAZALO SLIK	IX
1	UVOD	1
1.1	VZROK ZA RAZISKAVO	1
1.2	DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3	NAMEN RAZISKAVE	1
2	PREGLED OBJAV	2
2.1	BOROVNICA ALI ČRNICA (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	2
2.1.1	Botanični opis	2
2.1.2	Ekološke zahteve	2
2.2	OGLJIKOVI HIDRATI V PLODOVIH BOROVNICE	3
2.3	ORGANSKE KISLINE V PLODOVIH BOROVNICE	4
2.4	FENOLI V PLODOVIH BOROVNIC	4
2.4.1	Hidroksicimetne kisline in njihovi derivati	5
2.4.2	Flavanoidi	5
2.4.2.1	Flavonoli	6
2.4.2.2	Flavanoli	6
2.4.2.3	Antociani	6
2.4.3	Depsidi	7
3	MATERIAL IN METODE	8
3.1	RASTLINSKI MATERIAL	8
3.2	RASTIŠČA	8
3.2.1	Škamevec	8
3.2.2	Podgrad	8
3.2.3	Ključ	9
3.2.4	Lučarjev Kal	9
3.2.5	Gabrovka	9
3.2.6	Sora	10
3.2.7	Sončno/senčno rastišče in južno/severno pobočje	10

3.3	DELO V LABORATORIJU	10
3.3.1	Meritev pH tal	10
3.3.2	Ekstrakcija sladkorjev in organskih kislin	11
3.3.3	Ekstrakcija fenolnih spojin	11
3.3.4	HPLC analiza	11
3.3.4.1	HPLC sladkorjev in organskih kislin	11
3.3.4.2	HPLC fenolnih spojin	11
3.4	STATISTIČNA ANALIZA	12
4	REZULTATI	13
4.1	pH TAL	13
4.2	SLADKORJI	13
4.2.1	Posamezni sladkorji	13
4.2.2	Skupni sladkorji	14
4.2.3	Razlike v skupnih sladkorjih na sončnem in senčnem rastišču ter južnem in severnem	14
4.3	ORGANSKE KISLINE	15
4.3.1	Posamezne organske kisline	15
4.3.2	Skupne organske kisline	16
4.3.3	Razlike v skupnih organskih kislinah na sončnem in senčnem rastišču ter južnem in severnem pobočju	16
4.4	RAZMERJE MED SLADKORJI IN KISLINAMI	17
4.5	FENOLI	17
4.5.1	Hidroksicimetne kisline in njihovi derivati	18
4.5.2	Flavanoli	18
4.5.3	Flavonoli	19
4.5.4	Antociani	20
4.5.5	Depsidi	20
4.5.6	Skupni fenoli	21
4.5.7	Razlike v skupnih fenolih na sončnem in senčnem rastišču ter južnem in severnem pobočju	22
5	RAZPRAVA	23
5.1	pH TAL	23
5.2	SLADKORJI	23
5.2.1	Posamezni sladkorji	23

5.2.2	Skupni sladkorji	23
5.3	ORGANSKE KISLINE	24
5.3.1	Posamezne organske kisline	24
5.3.2	Skupne organske kisline	24
5.4	RAZMERJE MED SLADKORJI IN KISLINAMI	25
5.5	FENOLI	25
5.5.1	Hidroksicimetne kisline in njihovi derivati	25
5.5.2	Flavanoli	25
5.5.3	Flavonoli	26
5.5.4	Antociani	26
5.5.5	Depsidi	26
5.5.6	Skupni fenoli	26
6	SKLEPI	28
7	POVZETEK (SUMMARY)	29
7.1	POVZETEK	29
7.2	SUMMARY	30
8	VIRI	37
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Pregl. 1: Povprečna vrednost sladkorjev in organskih kislin v borovnici (Laaksonen in sod., 2010).	4
Pregl. 2: Izmerjena vrednost pH tal s CaCl ₂ .	13
Pregl. 3: Povprečne vrednosti posameznih sladkorjev (g/kg SM) in standardna napaka v plodovih borovnice ter razmerje med glukozo in fruktozo po rastiščih. Črke v stolpcih predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).	13
Pregl. 4: Povprečna vsebnost (g/kg SM) citronske, kininske in jabolčne kisline s standardno napako v plodovih borovnice po rastiščih. Črke v stolpcih predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).	15
Pregl. 5: Povprečna vsebnost (g/kg SM) šikimske in fumarne kisline s standardno napako v plodovih borovnice po rastiščih. Črke v stolpcih predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).	15
Pregl. 6: Razmerje med skupnimi sladkorji in skupnimi kislinami v plodovih borovnice po rastiščih. Črke predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).	17

KAZALO SLIK

- Sl. 1: Kemijska zgradba flavonoidov. Mesta označena z R predstavljajo mesta za vezavo funkcionalnih skupin (Veberič, 2010). 6
- Sl. 2: Povprečne vrednosti skupnih sladkorjev (g/kg SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$). 14
- Sl. 3: Povprečne vrednosti skupnih organskih kislin (g/kg SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$). 16
- Sl. 4: Povprečne vrednosti hidroksicimetnih kislin (mg/100 g SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$). 18
- Sl. 5: Povprečne vrednosti flavanolov (mg/100 g SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$). 19
- Sl. 6: Povprečne vrednosti flavonolov (mg/100 g SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$). 19
- Sl. 7: Povprečne vrednosti antocianov (mg/100 g SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$). 20
- Sl. 8: Povprečne vrednosti depsida (mg/100 g SM elagne kisline) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$). 21
- Sl. 9: Povprečne vrednosti skupnih fenolov (mg GAE/kg SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$). 21

SEZNAM OKRAJŠAV

Okrajšava	Pomen
FW	fresh weight – sveža masa
GAE	Gallic acid equivalent – ekvivalent galne kisline
SM	sveža masa

1 UVOD

1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

V zadnjem času se je povečalo povpraševanje po hrani z večjo vsebnostjo fenolnih spojin. Te spojine so potencialni antioksidanti in imajo pozitiven vpliv na naše zdravje. Poleg vsebnosti fenolov pa je za kupce sadja še vedno pomemben okus. Odvisen je od vsebnosti sladkorjev in kislin ter razmerja med njimi.

Nabiranje borovnic ali črnice ima v Sloveniji že dolgo tradicijo. Z namenom spodbujanja turizma so speljane tudi borovničeve poti. Sadeže se uporablja za sveže uživanje in za predelavo (namakanje v žganju, pečenje, kuhanje marmelade ...). Iz posušenih plodov in listov se v ljudskem zdravilstvu pripravlja čaje, ki blažijo težave z drisko. Kakovost plodov je odvisna od mnogih dejavnikov. Med pomembnejšimi so abiotični rastiščni dejavniki (svetlobni režim, temperaturni režim, količina padavin, pH tal, založenost tal s hranili, nadmorska višina). Svetlobni režim je lahko določljiv brez meritev, zato bomo preučili vpliv sončnega/senčnega rastišča na kvaliteto plodov borovnice.

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Rastline, ki rastejo na sončnem rastišču, so bolj osvetljene. Imajo tudi boljše temperaturne razmere, in zato boljše razmere za fotosintezo. Podobne boljše razmere imajo tudi borovnice na južnem pobočju. Zato predvidevamo, da bodo imele te rastline večjo vsebnost sladkorjev, organskih kislin in fenolov.

1.3 NAMEN RAZISKAVE

Namen raziskave je ugotoviti, ali obstajajo razlike v vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov pri borovnicah, ki rastejo na rastiščih z različnimi svetlobnimi razmerami. Tako želimo ugotoviti, na kateri lokaciji imajo plodovi boljšo kakovost glede na svetlobni režim.

2 PREGLED OBJAV

2.1 BOROVNICA ALI ČRNICA (*Vaccinium myrtillus* L.)

Borovnica, tudi navadna borovnica, gozdna borovnica ali črnica sodi v družino vresovk (Ericaceae). Je avtohtona v Evropi, severni Aziji in severovzhodni Severni Ameriki. V Evropi raste od Skandinavskega do Balkanskega polotoka in od Britanskega otočja do Črnega morja, v Alpah do 2500 m nadmorske višine, v Aziji pa od Kavkaza do srednje Sibirije (Pirc, 2008). FAOSTAT (2013) ne navaja podatka o pridelavi borovnic na svetu. Martinussen in sod. (2009) navajajo, da v Evropi ni komercialnih nasadov, vendar je za borovnice močno zanimanje norveške predelovalne industrije. Lahko predstavljajo pomemben vir dohodkov ljudem, ki jih nabirajo v gozdovih. V zadnjem času se je povečalo zanimanje za njihovo vzgojo na domačem vrtu. Na internetnih straneh je mogoče kupiti semena in nekajletne sadike.

2.1.1 Botanični opis

Borovnica raste v obliki pritlikavih grmičkov visokih od 20 do 50 cm. Grmički so močno razrasli, koti med vejami so veliki. Tvori veliko koreninskih izrastkov, s katerimi se razrašča. Ima plitve korenine. Listi so ovalno do koničasto jajčaste oblike, dolgi do 2,5 cm, z drobno nazobčanim listnim robom. Tekom leta so svetlozeleni, jeseni se obarvajo intenzivno rdeče in odpadejo (Pirc, 2008; Oblak, 1996; Martinčič in sod., 2007).

Borovnica cveti maja oz. junija. Je žužkocvetka, oprahujejo jo čebele in čmrlji. Cvet se razvije posamič v listni pazduhi. Listni pecelj je povešen in kratek. Venčni listi so rdečkasto zeleni, zrasli in tvorijo vrč. Plodnica je podrasla. Plodovi so zreli od junija do avgusta, odvisno od nadmorske višine. Plod je kroglasta jagoda, velika največ do 10 mm, večinoma pa od 5 do 8 mm. Je črno modre barve, prekrita s poprhom. Vsebuje več semen in je sočna. Sok jagod je intenzivne vijolične barve, v bazičnem pH pa postane modre barve (Pirc, 2008; Oblak, 1996; Martinčič in sod., 2007).

2.1.2 Ekološke zahteve

Borovnica raste kot podrast v gozdovih, gorskih pašnikih, v močvirjih in na vresiščih. V gozdovih kot monokultura pogosto prerašča večje strnjene površine (Oblak, 1996; Pirc, 2008). Raste na kisljih humusnih tleh. Oblak (1996) navaja, da je za rast ameriške borovnice (*Vaccinium corymbosum* L.) potreben na organskih tleh pH od 3,5 do 4,8 in na mineralnih tleh od 4,25 do 5,5. Sklepamo lahko, da ima podobne zahteve tudi borovnica. Podatki so pridobljeni z merjenjem pH v vodi. Če merimo v KCl ali CaCl₂ je potrebno vrednosti znižati za 0,6 do 1,0. Na naravnih rastiščih ni opaznih znakov pomanjkanja fosforja in dušika, kljub velikim pridelkom. Zadostne količine nutrientov dobi borovnica s pomočjo simbioznih gliv (Martinussen in sod., 2009). Borovnica je podobna ameriški borovnici. Zato lahko sklepamo, da tudi borovnica, tako kot ameriška borovnica nima koreninskih laskov. Njihovo vlogo prevzamejo mikorizne glive. S pomočjo simbioze lahko

grm ameriške borovnice izkoristi večji volumen zemlje in boljše sprejema nutriente. Simbiozne glive zaščitijo korenine tudi pred patogeni (Prodorutti in sod., 2007).

Prilagojena je na nizke zimske temperature. Najbolje prezimi prekrita s snegom. Rixen in sod. (2010) poročajo, da spomladanske pozebe negativno vplivajo na rast. Rastline zaščitene s snegom v hladnih letih rastejo bolje kot nezaščitene, v toplih letih pa ni opaznih razlik. Martinussen in sod. (2009) navajajo, da cvetovi pomrznejo pod $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Navajajo tudi, da potrebuje borovnica dovolj vlage za generativni razvoj.

V naravnem okolju glivične bolezni redko napadajo borovnico. Občasno težave povzročajo hrčice, listne uši in pršice šiškariče (Pirc, 2008). Plodovi predstavljajo vir hrane nekaterim pticam, zato lahko ptice pojedjo velik delež plodov.

2.2 OGLJIKOVI HIDRATI V PLODOVIH BOROVNICE

Ogljikove hidrate uvrščamo med primarne rastlinske metabolite. So najbolj razširjene in prisotne organske molekule na Zemlji in nastajajo v rastlinah v procesu fotosinteze. Predstavljajo najpomembnejši vir energije za živa bitja. Najpogosteje jih delimo na monosaharide, oligosaharide (sestavljani iz 10 ali manj monosaharidov) in polisaharide (Berlitz in sod., 2009). Ogljikovi hidrati predstavljajo velik delež suhe snovi v sadju. Berlitz in sod. (2009) navajajo, da so v zrelem sadju od monosaharidov najpomembnejša glukoza in fruktoza, od oligosaharidov pa saharoza.

Borovnica vsebuje 47 g/kg SM sladkorjev. Kot je razvidno iz preglednice 1 sta glavna sladkorja glukoza in fruktoza. Prisotne so še manjše količine ksiloze in *mio*-inozitola (Laaksonen in sod., 2010). Viljakainsen in sod. (2002) poročajo tudi o prisotnosti saharoze, ki pa je Sanz in sod. (2004) ter Laaksonen in sod. (2010) niso zaznali. Več kot 95 % sladkorjev po stiskanju preide v sok (Laaksonen in sod., 2010).

Ayaz in sod. (2001) so preučevali spreminjanje vsebnosti sladkorjev med zorenjem plodov borovnice. Ugotovili so, da se vsebnost vseh sladkorjev poveča. Saharoze ni v nezrelih plodovih. V plodovih se začne kopičiti med zorenjem. Razmerje med glukozo in fruktozo je v nezrelih borovnicah manjše od ena. V procesu zorenja se razmerje veča in je v zrelih plodovih 1.

Preglednica 1: Povprečna vrednost sladkorjev in organskih kislin v borovnici (Laaksonen in sod., 2010)
Table 1: Average value os sugars and organic acids in bilberry (Laaksonen *et al.*, 2010)

	mg/g sveže mase
Sladkorji	
Fruktoza	20
Glukoza	26
Ksiloza	0,38
<i>Mio</i> -inozitol	0,41
Organske kisline	
Citronska kislina	4
Jabolčna kislina	2
Kininska kislina	4,2

2.3 ORGANSKE KISLINE V PLODOVIH BOROVNICE

Organske kisline, prav tako kot ogljikove hidrate, uvrščamo med primarne rastlinske metabolite. V rastlinski celici imajo več različnih vlog. Pomembne so v respiratornem metabolizmu, kot skladiščne spojine, lahko so prekursorji v presnovnih procesih ali pa imajo druge vloge. Z ogljikovimi hidrati imajo organske kisline velik vpliv na okus plodov. Med zorenjem se vsebnost skupnih kislin navadno zmanjša. Porabijo se kot vir energije ali se pretvorijo v sladkorje. Vendar pa se vsebnost določene kisline med zorenjem lahko poveča (Brecht in sod., 2008). V plodovih sadnih rastlin sta najpogostejši citronska ter jabolčna kislina. Jabolčna prevladuje v koščičarjih in pečkarjih, citronska kislina pa prevladuje v jagodičju, citrusih in tropskem sadju. Ostale organske kisline se navadno nahajajo v majhnih koncentracijah (Belitz in sod., 2009).

Plodovi borovnic vsebujejo 10 g/kg SM organskih kislin. Citronska in kininska kislina sta prisotni v večji koncentraciji kot jabolčna kislina (Preglednica 1) (Laaksonen in sod., 2010). Forney in sod. (2012) so v ameriški borovnici izmerili vsebnost 4 g/kg SM citronske kisline, v manjših koncentracijah so bile prisotne vinska, kininska, jabolčna in jantarna kislina. Vsebnost vseh kislin se je med zorenjem zmanjšala.

Ayaz in sod. (2001) so ugotovili, da se vsebnost jabolčne kisline med zorenjem borovnice poveča. Vsebnost citronske in kininske kisline se v tem času zmanjša. Vsebnost skupnih kislin se prav tako zmanjša. Izmerili so, da se je vsebnost zmanjšala iz 32 % suhe mase na 12 % suhe mase.

2.4 FENOLI V PLODOVIH BOROVNIC

Fenole uvrščamo med sekundarne metabolite. Za njih je značilno, da imajo vsaj en aromatski obroč z vsaj eno hidroksilno funkcionalno skupino. Prisotni so v vseh rastlinah. Opisanih je okoli 10.000 različnih struktur, od preprostih do kompleksnih polifenolov. V rastlinah imajo različne naloge. Pomembni so pri odgovorih rastlin na biotske in abiotske dražljaje ter jim pomagajo preživeti stresne razmere (suša, veliko svetlobno sevanje, napad

patogenov ...). Polifenoli (lignin, suberin ...) zagotavljajo rastlinam zaščito in oporo (Veberič, 2010).

Fenole razdelimo v več skupin, med katerimi so tri pomembne v sadju. V prvi skupini so preprosti fenoli in fenolne kisline, v drugi hidroksicimetne kisline in njihovi derivati in v tretji skupini flavonoidi. Ta skupina vsebuje antociane, flavanole, flavonole ... (Smith, 2007).

Jabłońska-Ryś in sod. (2009) so izmerili 4,24 mg GAE/g sveže mase (SM)¹ skupnih fenolov v borovnici. Jovančević in sod. (2011) so izmerili med 3,92 in 5,24 mg GAE/g SM skupnih fenolov. Ugotovili so tudi statistično značilno razliko med plodovi rastlin, ki so rastle ne sončnem in senčnem rastišču ter med rastlinami z različnih nadmorskih višin.

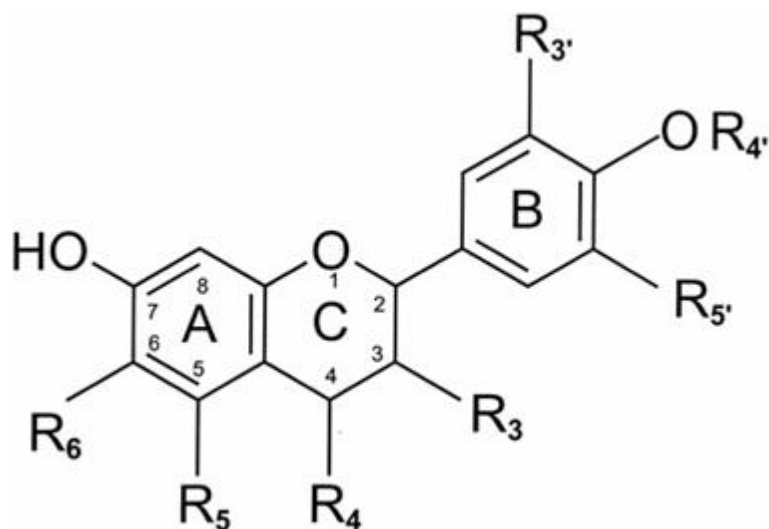
2.4.1 Hidroksicimetne kisline in njihovi derivati

Hidroksicimetne kisline in derivati imajo C6-C3 skelet. Med seboj se razlikujejo v vezavi funkcionalnih skupin na C6 obroču. V tej skupini so cimetna, kavna, kumarna, ferulna kislina in druge ter njihovi derivati. V borovnici je največja vsebnost hidroksicimetnih kislin v listih. Najmanj jih je v lupini in mesu jagode. Enaka razporeditev je tudi v ameriški borovnici (Riihinen in sod., 2008). Laaksonen in sod. (2010) so izmerili 23 mg/100 g SM hidroksicimetnih kislin v borovnici.

2.4.2 Flavonoidi

Flavonoidi so obsežna skupina in ena pomembnejših skupin fenolov v sadju. Sestavljeni so iz dveh aromatskih obročev, ki sta povezana s tremi ogljikovimi atomi. Zgradba je prikazana na sliki 1. Aromatska obroča označimo z A in B. Pogosto se uporabi še oznaka C za obroč, ki ga tvori ogljikov most preko kisikovega atoma z A obročem (Veberič, 2010). Izgleda, da so se flavonoidi razvili skupaj s cvetovi in oprraševanjem. Večina spojin je blede rumene barve in večina je vidna v UV spektru. V vidnem spektru so večinoma vidni le antociani (Hendry, 1996).

¹ Skupni fenoli se podajajo kot ekvivalent galne kisline.



Slika 1: Kemijska zgradba flavonoidov. Mesta označena z R predstavljajo mesta za vezavo funkcionalnih skupin (Veberič, 2010).

Picture 1: Chemical structure of flavonoids. Sites marked with R represent sites for binding of functional group (Veberič, 2010).

2.4.2.1 Flavonoli

Flavonoli so razširjeni in prisotni v večjih količinah v skoraj vseh sadnih vrstah. Na mestu R_3 in R_5 imajo vezano OH skupino, na mestu R_6 in R_4' je vezan vodik, na mestu R_4 pa kislik. Na mestih R_3' in R_5' se razlikujejo. V mostu med A in B obročem imajo dvojno ogljikovo vez. Jaakola (2003) poroča, da so najpogostejši flavonoli v sadju kvercetin, kaempferol, miricetin in isoramnetin. V plodu borovnice je zaznal kvercetin in miricetin. Laaksonen in sod. (2010) poročajo, da je v borovnici 16 mg/100 g SM flavonolov.

2.4.2.2 Flavanoli

Flavanoli ali flavan-3-oli so lahko monomeri ali kompleksni polimeri. Polimere imenujemo tudi proantociane ali kondenzirani tanini. Ogljikov most med obročema vsebuje samo enojne vezi, zato molekule niso planarne. Na mestu R_3 je vezana OH skupina, na mestu R_4' je vezan vodik. Kiralna centra sta na drugem in tretjem mestu v C obroču. Razlikujejo se na mestu R_3' in R_5' . Proantociani so pogosti v sadju. Sestavljeni so lahko iz do 50 podenot (Veberič, 2010). Može in sod. (2011) so v borovnici določili dva flavanola. V manjši koncentraciji je bil prisoten katehin (0,2 mg/100 g SM), več je bilo epikatehina (2,0 mg/100 g SM).

2.4.2.3 Antociani

Antociani so prisotni v večini cvetočih rastlin. Najopaznejši so v cvetovih in plodovih, kjer so odgovorni za rdečo, modro in vijolično barvo. Pomemben vpliv na barvo imajo tudi v listih preden ti odpadejo. Zaradi vezave kovin (navadno železo ali aluminij) na B obroč postane barva pigmenta bolj modra. V bioloških sistemih so skoraj vedno vezani na

sladkorje. Na C obroču imajo pozitiven naboj. Med ogljikovima atomoma na 3. in 4. mestu v C obroču je dvojna vez. Na mestu R₃ in R₅ je vezana OH skupina. Razlikujejo se med mestoma R₃' in R₅' (Hendry, 1996).

Jabłońska-Ryś in sod. (2009) so izmerili od 0,4 mg/g suhe mase do 1,6 mg/g suhe mase antocianov v borovnicah. Jovančević in sod. (2011) so izmerili od 0,27 % do 0,46 % vsebnost skupnih antocianov. Ugotovili so tudi statistično značilno razliko v vsebnosti glede na sončno in senčno rastišče ter na nadmorsko višino. Laaksonen in sod. (2010) so izmerili 250 mg/100 g SM skupnih antocianov.

2.4.3 Depsidi

Depsid je polifenolna spojina. Je ester iz dveh ali več benzojskih kislin. Osnovne enote so lahko enake ali pa različne kisline (Nic in sod., 2012). Ono in sod. (2002) poročajo, da so iz vrste *Vaccinium ashei* izolirali depsid, ki ima trivialno ime vaccihein A. Turner in sod. (2007) poročajo, da so izolirali depsid iz ameriške brusnice (*Vaccinium macrocarpon*). Navajajo, da redko najdemo depside v višjih rastlinah ter da je možno, da je nastal z razpadom iz kvertina zaradi ionizirajočega sevanja.

Depsidi so večinoma prisotni v lišajih. Imajo več potencialnih zdravilnih učinkov. Pomagali naj bi pri astmi, artritisu in luskavici. Nekateri so tudi potencialni antioksidanti (Muller, 2001). Gupta in Nagappa (2003) poročata, da imajo nekateri depsidi potencialen inhibitorni učinek na virus HIV.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 RASTLINSKI MATERIAL

Plodove smo nabrali na 6 lokacijah v osrednji Sloveniji. Nabirali smo jih od 21. 6. do 25. 6. Na vsaki lokaciji smo nabrali 250 ml plodov, in sicer na površini 50 m² in iz vseh grmičkov enakomerno. Borovnice so bile obrane ročno v užitni zrelosti. Nabrali smo jih v plastično vrečko in dali v hladilno torbo. V najkrajšem možnem času smo jih nato zamrznili v zamrzovalni skrinji do analize v laboratoriju.

3.2 RASTIŠČA

Vsa rastišča so v osrednji Sloveniji. Od Ljubljane so oddaljena manj kot 40 km zračne razdalje. Ime rastišča smo določili glede na najbližji kraj ali hrib. Rastišča so: Škamevec, Podgrad, Ključ, Lučarjev Kal, Gabrovka in Sora (v nadaljevanju besedila ta imena predstavljajo imena rastišč). Popisali smo združbo rastlin in razmere na rastišču (sončno/senčno rastišče, nagnjenost terena, druga opažanja ...) ter vzeli vzorec tal za analizo pH. Pri opisu rastišč smo si pomagali z meteorološkimi podatki Agencije Republike Slovenije za okolje (ARSO). Z GPS smo izmerili koordinate in nato iz zemljevida določili nadmorsko višino rastišča.

3.2.1 Škamevec

Vzorec smo nabirali 21. 6. Najbližja meteorološka postaja je v Ljubljani, kjer letno pade 1393 mm padavin, ki so enakomerno razporejene čez vse leto. Nekaj več jih je v poletnih in jesenskih mesecih. Povprečna letna temperatura je 9,8 °C, najvišja povprečna temperatura je julija (19,9 °C), najnižja pa januarja (- 1,1 °C) (ARSO, 2013). Borovnice rastejo v gozdu, kjer prevladuje bukev (*Fagus sylvatica* L.), prisotni so še hrast (*Quercus* sp.) smreka (*Picea abies* (L.) Karsten) in pravi kostanj (*Castanea sativa* Mill.). V podrasti prevladuje borovnica, prisotna pa je tudi orlova praprot (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn). Rastišče uvrščamo v združbo bukve in rebrenjače (*Blechno-Fagetium*) (Martinček in Čarni, 2013). Pobočje je severovzhodno, začenja se strmo, nato pa bolj položno. Kamni in štori so preraščeni z mahom. Rastišče je na 600 m. n. v. Zemljepisna širina: 45°51'36,81" S, zemljepisna dolžina: 14°35'8,46" V.

3.2.2 Podgrad

Vzorec smo nabrali 23. 6. Najbližja meteorološka postaja je v Ljubljani, kjer letno pade 1393 mm padavin, ki so enakomerno razporejene čez vse leto. Nekaj več jih je v poletnih in jesenskih mesecih. Povprečna letna temperatura je 9,8 °C, najvišja povprečna temperatura je julija (19,9 °C), najnižja pa januarja (- 1,1 °C) (ARSO, 2013). Borovnice rastejo na poseki pod daljnovodom, kjer prevladujejo, prisotna je tudi orlova praprot (*P. aquilinum*). V gozdu okoli poseke prevladuje bukev (*F. sylvatica*), prisotni pa so še hrast (*Quercus* sp.), pravi kostanj (*C. sativa*) in rdeči bor (*Pinus sylvestris* L.). Rastišče uvrščamo v združbo bukve in rebrenjače (*Blechno-Fagetium*) (Martinček in Čarni, 2013).

Pobočje je jugozahodno in je položno. Kamni niso preraščeni z mahom. Rastišče je na 400 m. n. v. Zemljepisna širina: 46°4'16,2" S, zemljepisna dolžina: 14°38'31,97" V.

3.2.3 Ključ

Vzorec smo nabrali 23. 6. Najbližja meteorološka postaja je Vrhnika, kjer letno pade 1594 mm padavin in so enakomerno razporejene čez leto (od 100 mm do 170 mm mesečno). Povprečna letna temperatura je 9,4 °C. Najvišja povprečna temperatura je julija (19,3 °C), najnižja pa januarja (- 1,2 °C) (ARSO, 2013). Borovnice rastejo v gozdu, kjer prevladujeta bukev (*F. sylvatica*) in rdeči bor (*P. sylvestris*). Prisotni so še pravi kostanj (*C. sativa*), hrast (*Quercus* sp.) in smreka (*P. abies*). V podrasti prevladuje borovnica in orlova praprot (*P. aquilinum*). Rastišče uvrščamo v združbo bukve in rebrenjače (*Blechno-Fagetium*) (Martinček in Čarni, 2013). Pobočje je južno. Vzdušje pobočja potekajo kanali. Največ borovnic je na grebenu med kanali in zahodnem robu v kanalih. Mahu je malo. Rastišče je na 380 m. n. v. Zemljepisna širina: 46°1'57',70" S, zemljepisna dolžina: 14°20'58,40" V.

3.2.4 Lučarjev Kal

Vzorec smo nabrali 25. 6. Najbližja meteorološka postaja je v Sevnem. Letno pade 1216 mm padavin. Nekaj več jih je v poletnih in jesenskih mesecih. Povprečna letna temperatura je 8,9 °C. Najvišja povprečna temperatura je julija (18,3 °C), najnižja pa januarja (- 1,0 °C) (ARSO, 2013). Borovnice rastejo v dolini sredi gozda. V dolini je bil pred nekaj leti narejen golosek. Borovnica in orlova praprot (*P. aquilinum*) sta enakomerno zastopani v dolini in prevladujeta. Dolina se zarašča s smreko (*P. abies*), pravim kostanjem (*C. sativa*) in bukvijo (*F. sylvatica*). Večina dreves je manjših od 1,5 m, nekaj je visokih do 3 m. Okoli doline prevladujeta bukev (*F. sylvatica*) in smreka (*P. abies*), prisotni pa so še hrast (*Quercus* sp.) in pravi kostanj (*C. sativa*). V podrasti je največ borovnic in orlove praproti (*P. aquilinum*). Rastišče uvrščamo v združbo bukve in pravega kostanja (*Castaneo sativae-Fagetium sylvaticae*) (Martinček in Čarni, 2013). Vzorec je bil nabran na jugozahodnem pobočju doline, pobočje je strmo. Rastišče je na 340 m. n. v. Zemljepisna širina: 45°53'51,24" S, zemljepisna dolžina: 14°50'10,49" V.

3.2.5 Gabrovka

Vzorec smo nabrali 25. 6. Najbližja meteorološka postaja je Sevno. Letno pade 1216 mm padavin. Nekaj več jih je v poletnih in jesenskih mesecih. Povprečna letna temperatura je 8,9 °C. Najvišja povprečna temperatura je julija (18,3 °C), najnižja pa januarja (- 1,0 °C) (ARSO, 2013). Borovnice rastejo v gozdu, kjer prevladujeta bukev (*F. sylvatica*) in rdeči bor (*P. sylvestris*). Prisotni so še hrast (*Quercus* sp.), smreka (*P. abies*) in navadna breza (*Betula pendula* Roth). V podrasti prevladuje borovnica, prisotna je še orlova praprot (*P. aquilinum*). Rastišče uvrščamo v združbo rdečega bora in borovničevja (*Vaccinio myrtilli-Pinetum sylvestris*) (Martinček in Čarni, 2013). Pobočje je severno, položno in ravno. Rastišče je na 440 m. n. v. Zemljepisna širina: 45°59'21,10" S, zemljepisna dolžina: 14°59'50,78" V.

3.2.6 Sora

Vzorec smo nabrali 25. 6. Najbližja meteorološka postaja je v Ljubljani. Letno pade 1393 mm padavin, ki so enakomerno razporejene čez vse leto. Nekaj več jih je v poletnih in jesenskih mesecih. Povprečna letna temperatura je 9,8 °C, najvišja povprečna temperatura je julija (19,9 °C), najnižja pa januarja (- 1,1 °C) (ARSO, 2013). Borovnice rastejo v gozdu, kjer prevladuje hrast (*Quercus* sp.), prisotni pa so še smreka (*P. abies*), bukev (*F. sylvatica*) in pravi kostanj (*C. sativa*). V podrasti prevladuje borovnica, prisotni pa sta tudi orlova praprot (*P. aquilinum*) in rebrenjača (*Blechnum spicant* (L.) Roth). Rastišče uvrščamo v združbo bukve in rebrenjače (*Blechno-Fagetium*) (Martinček in Čarni, 2013). Pobočje je severozahodno in po njem teče več hudournikov. Na tleh je veliko odmrlih vej in manjših delno strohnelih debel. Kamni in štori so prerastli z mahom. Rastišče je na 390 m. n. v. Zemljepisna širina: 46°7'40,96"S, zemljepisna dolžina: 14°21'36,81" V.

3.2.7 Sončno/senčno rastišče in južno/severno pobočje

Na rastišču Podgrad in Lučarjev Kal rastejo borovnice na poseki, zato sta ti dve rastišči sončni. Na ostalih rastiščih (Sora, Ključ, Škamevec in Gabrovka) rastejo borovnice v gozdu, zato so to senčna rastišča. Na južnem pobočju so rastišča Podgrad, Lučarjev Kal in Ključ. Rastišča Sora, Škamevec in Gabrovka so na severnem pobočju. Nadmorske višine rastišč so bile med 340 m. n. v. in 600 m. n. v.

3.3 DELO V LABORATORIJU

Ekstrakcija in analiza sladkorjev, organskih kislin in fenolnih spojin ter meritev pH tal so bili narejeni v laboratoriju Katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Oddelka za Agronomijo. Meritev pH tal in ekstrakcija sladkorjev, organskih kislin ter fenolnih spojin je bila narejena 10. 7. Vzorci so bili takoj analizirani na HPLC.

3.3.1 Meritev pH tal

Najprej smo določiti volumsko gostoto tal (ρ). V merilni valj smo dali 200 ml prsti in stehali maso (m_{prsti}). Nato smo valj 10-krat spustili iz 10-cm višine, da se je prst sesedla. Odčitali smo končni volumen prsti (V_{kon}). Volumsko gostoto smo izračunali po formuli (1).

$$\rho = m_{\text{prsti}} / V_{\text{kon}} \quad \dots(1)$$

$$m = 25 \text{ ml} * \rho \quad \dots(2)$$

Nato smo izračunali maso 25 ml zemlje (m) po formuli (2). Potrebno maso zemlje smo zatehtali v čašo. Zemljo smo nato prelili s 75 ml 0,01 M raztopine CaCl_2 in inkubirali en dan. Naslednji dan smo izmerili pH tal z digitalnim merilnikom (WTW SERIES inoLab pH 720), prirejeno po Bohne in sod. (1997).

3.3.2 Ekstrakcija sladkorjev in organskih kislin

Vzorec borovnic smo homogenizirali v terilnici in zatehtali 5 g vzorca v čašo. Prelili smo ga s 25 ml bidestilirane vode. Vzorce smo ekstrahirali pri sobni temperaturi na stresalniku pri 160 obratih/min 30 min. Nato smo jih prelili v epruvete in centrifugirali 10 min pri 10000 obratih/min pri 4 °C. Supernatant smo prefiltrirali (celulozni filter, velikost por 0,20 µm) v vialo.

3.3.3 Ekstrakcija fenolnih spojin

Vzorec borovnic smo homogenizirali v terilnici in zatehtali 5 g vzorca v čašo. Prelili smo ga z 20 ml metanola, ki je vseboval 3 % mravljične kisline. Vzorce smo dali za 1 uro na ultrazvono kopel pri 0 °C. Nato smo jih centrifugirali 10 min pri 10000 obratih/min pri 4 °C. Supernatant smo prefiltrirali (poliamidni filter, velikost por 0,20 µm) v vialo.

3.3.4 HPLC analiza

HPLC High Performance Liquid Chromatography ali tekočinska kromatografija visoke ločljivosti se uporablja za ločevanje vzorca na posamezne komponente. Mobilna faza nosi vzorec čez stacionarno fazo. Komponente zaradi različne kemične sestave potrebujejo različen čas, da pridejo čez stacionarno fazo. Po ločitvi komponente zaznamo z detektorjem (McPolin, 2009). Analizo smo naredili na HPLC sistemu proizvajalca Thermo Finnigan.

3.3.4.1 HPLC sladkorjev in organskih kislin

Za analizo sladkorjev smo analizirali 20 µl vzorca. Ločili smo ga na koloni Rezex RCM-monosaccharide (300 mm x 7,8 mm) pri temperaturi 65 °C. Pretok mobilne faze (bidestilirana voda) je bil 0,6 ml/min. Komponente smo zaznali z IR detektorjem. Čas analize je bil 30 min.

Za analizo organskih kislin smo analizirali 20 µl vzorca. Ločili smo ga na koloni Rezex ROA – organic acid (300 mm x 7,8 mm) pri temperaturi 65 °C. Pretok mobilne faze (4 mM žveplena kislina) je bil 0,6 ml/min. Komponente smo zaznali z UV detektorjem pri valovni dolžini 210 nm. Čas analize je bil 30 min.

Za določitev koncentracije sladkorjev (saharoza, glukoza in fruktoza) in organskih kislin (citronska, vinska, jabolčna, šikimska in fumarna) smo naredili umeritveno krivuljo z eksternimi standardi. Koncentracije smo nato izračunali na podlagi umeritvene krivulje. Protokol je povzet po Zupan (2012), z rahlimi spremembami.

3.3.4.2 HPLC fenolnih spojin

Za analizo fenolnih spojin smo analizirali 20 µl vzorca. Uporabili smo sistem Thermo Finnigan Surveyor s kvartno črpalko (San Jose, USA). Ločili smo ga na koloni

Phenomenex Gemini C18 (150 mm x 4,5 mm, μm) pri temperaturi 25 °C. Uporabili smo dve mobilni fazi (bidestilirana voda + 1 % mravljične kisline in 5 % acetonitril (A) ter 100 % acetonitril (B)). Pretok je bil 1 ml/min.

Posamezne spojine smo določili s primerjavo spektrov in retenzijskih časov. Fenolne spojine smo potrdili tudi z masnim spektrometrom (Thermo Scientific, LCQ Deca XP MAX) z »electrospray« ionozatorjem. Vsebnosti smo izračunali glede na ustrezne standarde. Rezultate vsebnosti posameznih fenolnih snovi smo združili in prikazali v ustreznih skupinah (flavonoli, flavanoli, hidroksicimetne kisline, antociani in depsidi). Protokol je povzet po Zuan (2012), z rahlimi spremembami.

3.4 STATISTIČNA ANALIZA

Pridobljene podatke smo statistično analizirali s programom R 2.13.2. Za ugotavljanje statistično značilnih razlik smo uporabili analizo variance (ANOVA). Za ugotavljanje razlik med obravnavanji smo uporabili Duncanov test pri 95 % zaupanju. Statistično značilne razlike so na grafih in v preglednicah označene z različnimi črkami.

4 REZULTATI

4.1 pH TAL

V preglednici 2 je prikazan pH tal na različnih rastiščih. Na vseh rastiščih so tla močno kislila. pH vrednosti so od 2,9 do 3,6. Najnižji pH tal je na Gabrovki, najvišji pa v Sori.

Preglednica 2: Izmerjena vrednost pH tal s CaCl₂.

Table 2: Measured pH of soil with CaCl₂.

Lokacija	pH
Sora	3,6
Ključ	3,0
Lučarjev Kal	3,6
Gabrovka	2,9
Podgrad	3,2
Škamevec	3,2

4.2 SLADKORJI

Med posameznimi rastišči smo primerjali saharozo, glukozo, fruktozo ter skupne sladkorje in razmerje med glukozo in fruktozo. Primerjali smo še skupne sladkorje glede na sončno in senčno rastišče ter glede na severno in južno pobočje.

4.2.1 Posamezni sladkorji

Preglednica 3: Povprečne vrednosti posameznih sladkorjev (g/kg SM) in standardna napaka v plodovih borovnice ter razmerje med glukozo in fruktozo po rastiščih. Črke v stolpcih predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Table 3: Average values of individual sugars (g/kg FW) and standard error in bilberry fruits and ratio between glucose and fructose according to the location. Letters in columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

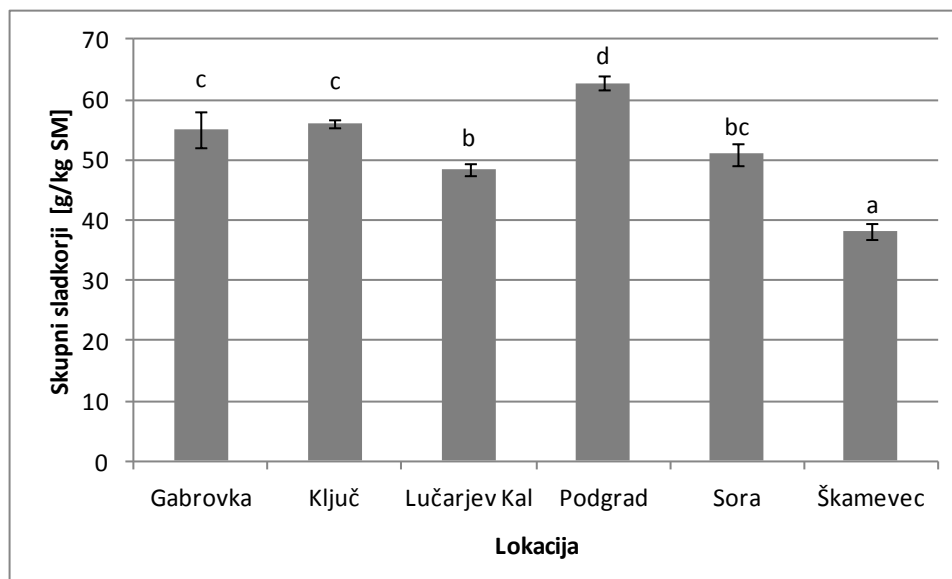
Lokacija	Saharozna [g/kg SM]	Glukoza [g/kg SM]	Fruktoza [g/kg SM]	glukoza:fruktoza
Sora	1,5 ± 0,0 a	24,6 ± 0,9 bc	24,9 ± 0,9 bc	0,97
Podgrad	1,4 ± 0,1 a	30,1 ± 0,6 a	31,2 ± 0,6 a	0,96
Ključ	1,6 ± 0,1 a	27,2 ± 0,3 b	27,3 ± 0,3 b	0,99
Škamevec	1,0 ± 0,1 b	19,0 ± 0,7 d	18,2 ± 0,7 d	1,04
Lučarjev Kal	1,3 ± 0,1 a	24,0 ± 0,6 c	23,0 ± 0,5 c	1,04
Gabrovka	1,3 ± 0,1 a	26,7 ± 1,5 b	27,0 ± 1,5 b	0,99

V vseh vzorcih smo zaznali majhno vsebnost saharoze. Povprečno je predstavljala 2,6 % skupnih sladkorjev, glukozna in fruktozna pa vsaka 48,7 % skupnih sladkorjev. Najmanj saharoze so vsebovale borovnice v Škamevcu, na ostalih rastiščih pa so vsebovale od 1,3 do 1,4 g/kg SM. Največ glukoze in fruktoze so vsebovale borovnice v Podgradu (30,1 g/kg SM in 31,2 g/kg SM). Najmanj glukoze in fruktoze so imele borovnice v Škamevcu (19,0

g/kg SM in 18,2 g/kg SM). Razmerje med glukozo in fruktozo je blizu 1 za vsa rastišča. Podatki so prikazani v preglednici 3.

4.2.2 Skupni sladkorji

Največ skupnih sladkorjev so imele borovnice iz Podgrada (62,8 g/kg SM), najmanj pa borovnice iz Škamevca (38,2 g/kg SM). Med borovnicami iz Gabrovke, Ključa in Sore ter iz Lučarjevega Kala in Sore ni statistično značilnih razlik. Podatki so prikazani na sliki 2.



Slika 2: Povprečne vrednosti skupnih sladkorjev (g/kg SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Figure 2: Average values of total sugars (g/kg FW) in bilberry fruits according to the location. Letters above columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

4.2.3 Razlike v skupnih sladkorjih na sončnem in senčnem rastišču ter južnem in severnem pobočju

Za sončna rastišča smo določili Podgrad in Lučarjev Kal, za senčna pa rastišča Sora, Ključ, Škamevec in Gabrovka. Glede na sončno in senčno rastišče ni statistično značilnih razlik v vsebnosti skupnih sladkorjev ($p=0,1322$). Borovnice na sončnem rastišču vsebujejo povprečno 55,5 g/kg SM sladkorjev, na senčnem rastišču pa 50,1 g/kg SM.

Na južnem pobočju so rastišča Podgrad, Lučarjev Kal in Ključ, na severnem pobočju pa Sora, Škamevec in Gabrovka. Glede na smer pobočja obstajajo rahlo statistično značilne razlike ($p=0,02$) v vsebnosti skupnih sladkorjev. Borovnice z južnega pobočja vsebujejo povprečno 55,7 g/kg SM sladkorjev, plodovi s severnega pobočja pa 48,1 g/kg SM.

4.3 ORGANSKE KISLINE

Med posameznimi rastišči smo primerjali citronsko, kininsko, jabolčno, šikimsko, in fumarno kislino ter skupne organske kisline v plodovih borovnice. Primerjali smo še skupne organske kisline glede na sončno in senčno rastišče ter glede na severno in južno pobočje.

4.3.1 Posamezne organske kisline

Preglednica 4: Povprečna vsebnost (g/kg SM) citronske, kininske in jabolčne kisline s standardno napako v plodovih borovnice po rastišjih. Črke v stolpcih predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Table 4: Average value (g/kg FW) of citric, quinic and malic acid and standard error in bilberry fruits according to location. Letters in columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

Lokacija	Citronska k. [g/kg SM]	Kininska k. [g/kg SM]	Jabolčna k. [g/kg SM]
Sora	10,0 ± 0,3 b	6,0 ± 0,2 b	4,3 ± 0,1 ab
Podgrad	8,9 ± 0,3 b	6,1 ± 0,2 b	3,7 ± 0,1 c
Ključ	12,4 ± 0,5 a	6,8 ± 0,2 ab	4,5 ± 0,1 a
Škamevec	13,3 ± 0,1 a	6,4 ± 0,2 ab	3,7 ± 0,1 c
Lučarjev Kal	9,7 ± 0,3 b	7,0 ± 0,2 a	4,0 ± 0,1 b
Gabrovka	9,7 ± 0,4 b	6,5 ± 0,5 ab	4,2 ± 0,2 ab

Preglednica 5: Povprečna vsebnost (g/kg SM) šikimske in fumarne kisline s standardno napako v plodovih borovnice po rastišjih. Črke v stolpcih predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Table 5: Average value (g/kg FW) of shikimic and fumaric acid and standard error in bilberry fruits according to location. Letters in columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

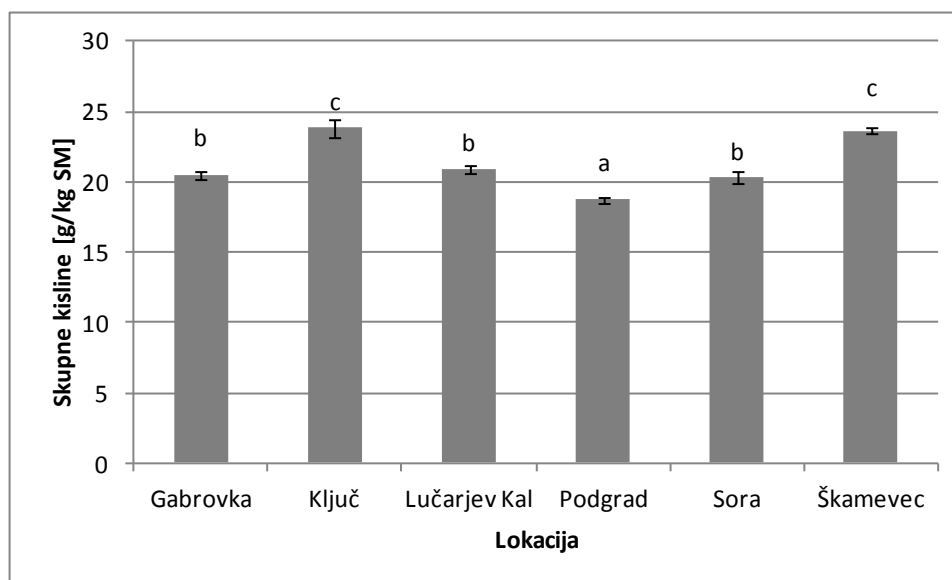
Lokacija	Šikimska k. [mg/kg SM]	Fumarna k. [mg/kg SM]
Sora	107,4 ± 7,2 b	1,5 ± 0,3 ab
Podgrad	113,8 ± 4,9 b	0,9 ± 0,0 c
Ključ	131,5 ± 5,6 b	1,2 ± 0,1 abc
Škamevec	222,5 ± 0,8 a	1,7 ± 0,0 a
Lučarjev Kal	114,5 ± 5,3 b	1,1 ± 0,0 bc
Gabrovka	124,4 ± 15,7 b	0,9 ± 0,1 c

Med vsemi organskimi kislinami največji delež predstavlja citronska kislina. Njen delež je v povprečju 50 %. Kininska kislina predstavlja 30 % vseh kislin in jabolčna kislina 19 %. Šikimska in fumarna kislina skupaj predstavljata 1 % vseh kislin. Podatki za vsebnost organskih kislin so prikazani v tabeli 4 in tabeli 5. Največ citronske kisline so imele borovnice iz Ključa in Škamevca (12,4 g/kg SM in 13,3 g/kg SM). Na ostalih rastišjih so imele borovnice manj citronske kisline. Vrednosti so bile med 8,9 in 10,0 g/kg SM. Največ kininske kisline so imele borovnice iz Lučarjevega Kala (7,0 g/kg SM), vendar se vsebnost statistično ne razlikuje od vsebnosti iz rastišč Ključ, Gabrovka in Škamevec. Najmanj kininske kisline so imele borovnice iz Sore (6,0 g/kg SM), vendar med rastišči Sora, Podgrad, Ključ, Škamevec in Gabrovka ni statistično značilnih razlik. Največjo vsebnost jabolčne kisline so imele borovnice iz Ključa (4,5 g/kg SM), vendar ni statistično značilnih

razlik med njimi in plodovi borovnic iz Sore ter Gabrovke. Najmanj jabolčne kisline so imele borovnice iz Podgrada in Škamevca (obe rastišči 3,7 g/kg SM). Največ Šikimske kisline so vsebovale borovnice iz Škamevca (222,5 mg/kg SM), med ostalimi rastišči ni statistično značilnih razlik. Vsebnost je bila med 107,4 in 131,5 mg/kg SM. Največjo vsebnost fumarne kisline so vsebovale borovnice iz Škamevca (1,7 mg/kg SM), vendar ni statistično značilne razlike med njimi in borovnicami iz Sore ter Ključa. Najmanjšo vsebnost so imele borovnice iz Podgrada in Gabrovke (0,9 mg/kg SM), vendar ni statistično značilne razlike med njimi in borovnicami iz Ključa

4.3.2 Skupne organske kisline

Povprečne vrednosti organskih kislin so prikazane v sliki 3. Najmanj organskih kislin imajo borovnice iz Podgrada (18,8 g/kg SM). Največjo vsebnost imajo borovnice iz Ključa in Škamevca (23,8 g/kg SM in 23,7 g/kg SM).



Slika 3: Povprečne vrednosti skupnih organskih kislin (g/kg SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Figure 3: Average values of total organic acids (g/kg FW) in bilberry fruits according to the location. Letters above columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

4.3.3 Razlike v skupnih organskih kislinah na sončnem in senčnem rastišču ter južnem in severnem pobočju

Med borovnicami, ki rastejo na sončnem in senčnem rastišču, so statistično značilne razlike ($p = 0,0061$) v vsebnosti skupnih organskih kislin. Povprečna vsebnost organskih kislin na sončnem rastišču je 19,8 g/kg SM, na senčnem rastišču pa 22,1 g/kg SM.

Med borovnicami, ki rastejo na južnem in severnem pobočju, ni statistično značilnih razlik ($p = 0,6936$) v vsebnosti organskih kislin. Povprečna vsebnost organskih kislin na južnem pobočju je 21,4 g/kg SM, na severnem pobočju pa 21,5 g/kg SM.

4.4 RAZMERJE MED SLADKORJI IN KISLINAMI

Razmerje med skupnimi sladkorji in skupnimi organskimi kislinami glede na lokacijo je prikazano v tabeli 6. Največje razmerje imajo borovnice iz Podgrada (3,3), najmanjše pa imajo iz Škamevca (1,6).

Preglednica 6: Razmerje med skupnimi sladkorji in skupnimi kislinami v plodovih borovnice po rastiščih. Črke predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Table 6: Ratio between total sugars and total organic acids in bilberry fruits according to location. Letters represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

Lokacija	Sladkorji : kisline
Sora	2,5 bc
Podgrad	3,3 a
Ključ	2,4 c
Škamevec	1,6 d
Lučarjev Kal	2,3 c
Gabrovka	2,7 b

Med sončnim in senčnim rastiščem obstajajo statistično značilne razlike ($p=0,0183$) med razmerjem sladkorjev in kislin. Na sončnem rastišču je razmerje 2,8, na senčnem rastišču pa 2,3.

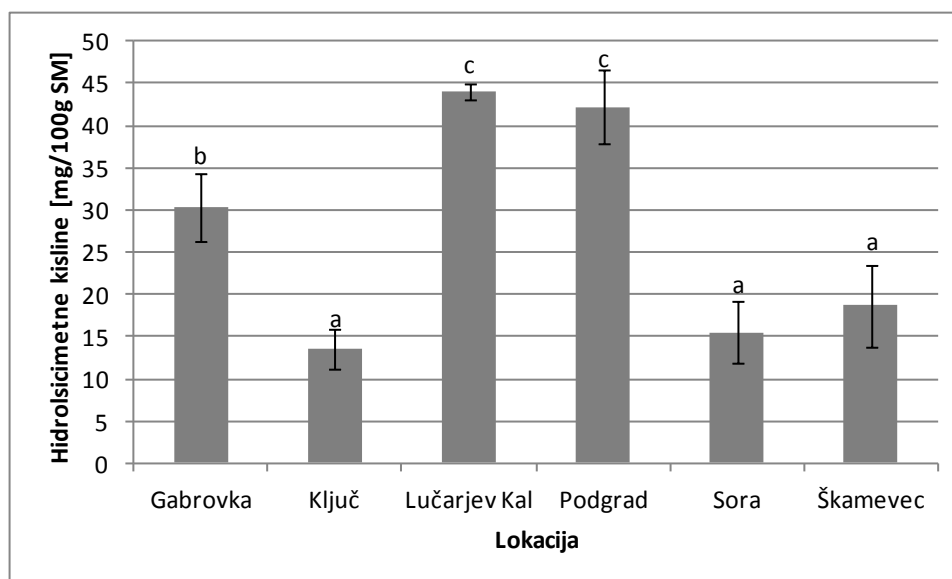
Med južnim in severnim pobočjem ne obstajajo statistično značilne razlike ($p= 0,0676$) med razmerjem sladkorjev in kislin. Na južnem pobočju je razmerje 2,8, na severnem pobočju pa 2,3.

4.5 FENOLI

Med posameznimi rastišči smo primerjali hidroksicimetne kisline in derivate, flavanole, flavonole, antociane, depside ter skupne fenole. Glede na sončno in senčno rastišče ter glede na severno in južno pobočje smo primerjali še skupne fenole.

4.5.1 Hidroksicimetne kisline in njihovi derivati

Podatki o vsebnosti hidroksicimetnih kislin so na sliki 4. Največjo vsebnost hidroksicimetnih kislin so imele borovnice iz Lučarjevega Kala in Podgrada (44,1 mg/100 g SM in 42,2 mg/100 g SM). Najmanjšo vsebnost so imele borovnice iz Ključa, Sora in Škamevca. Določili smo naslednje hidroksicimetne kisline: kavna kislina in 2 derivata kavne kisline, klorogeno kislino, cis-5-kafeoilkininsko kislino, 3 derivate kumarne kisline, 3 kumaroil iridoide in heksozid *p*-kumarne kisline.

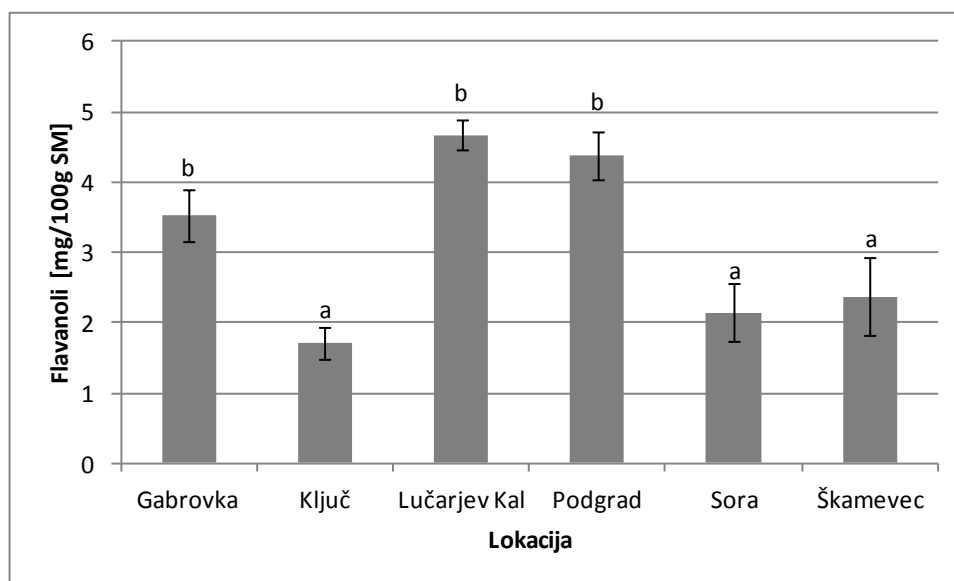


Slika 4: Povprečne vrednosti hidroksicimetnih kislin (mg/100 g SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Figure 4: Average values of hydroxycinnamic acids (mg/100 g FW) in bilberry fruits according to the location. Letters above columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

4.5.2 Flavanoli

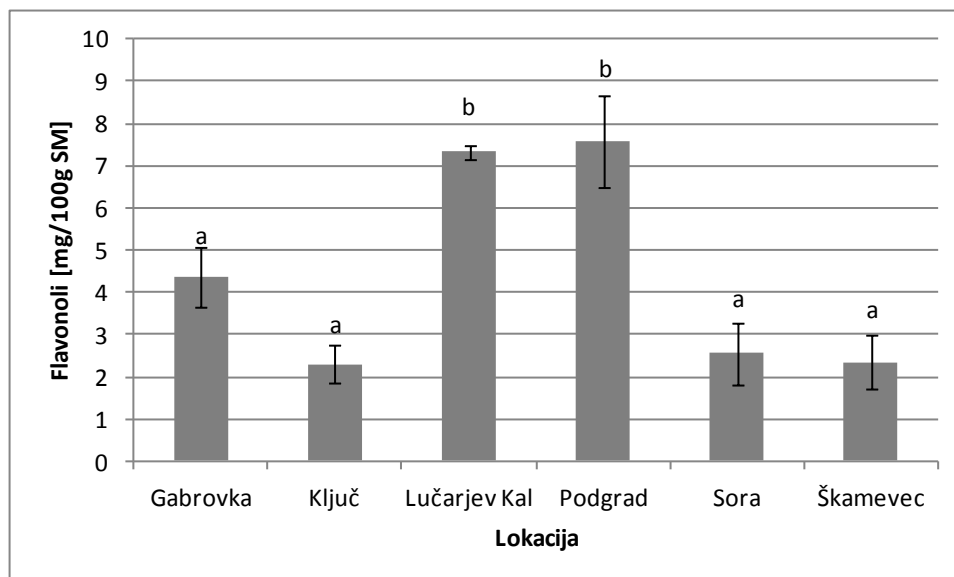
Podatki o vsebnosti flavanolov so na sliki 5. Največjo vsebnost flavanolov so imele borovnice iz Lučarjevega Kala (4,7 mg/100 g SM), vendar ni statistično značilnih razlik med rastišči Lučarjev Kal, Podgrad in Gabrovka. Najmanjša vsebnost flavanolov imajo borovnice iz Ključa (1,7 mg/100 g SM), vendar ni statistično značilnih razlik med rastišči Ključ, Sora in Škamevec. Določili smo naslednje flavanole: epikatehin, procianidin dimer in procianidin trimer.



Slika 5: Povprečne vrednosti flavanolov (mg/100 g SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Figure 5: Average values of flavanols (mg/100 g FW) in bilberry fruits according to the location. Letters above columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

4.5.3 Flavonoli



Slika 6: Povprečne vrednosti flavanolov (mg/100 g SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

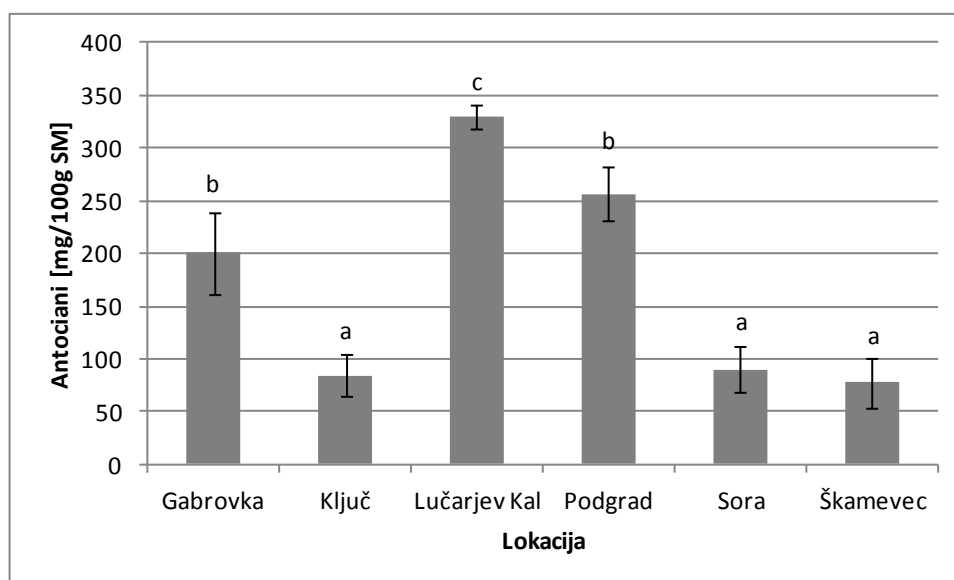
Figure 6: Average values of flavonols (mg/100 g FW) in bilberry fruits according to the location. Letters above columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

Podatki o vsebnosti flavanolov so na sliki 6. Največjo vsebnost flavanolov imajo borovnice iz Lučarjevega Kala in Podgrada (7,3 mg/100 g SM in 7,5 mg/100 g SM).

Borovnice na ostalih rastiščih imajo manjše vsebnosti flavonolov, vendar med njimi ni statistično značilnih razlik. Vsebnosti so bile med 2,3 in 4,3 mg/100 g SM. Določili smo naslednje flavonole: izoramnetin-3-galaktozid, izoramnetin-3-glukozid, kempferol-3-glukozid, laricitrin-3-galaktozid, laricitrin-3-glukozid, miricetin-3-glukozid, miricetin-3-ramnozid, miricetin heksozid 1 in miricetin heksozid 2.

4.5.4 Antociani

Podatki o vsebnosti antocianov so na sliki 7. Največjo vsebnost antocianov so imele borovnice iz Lučarjevega kala (329,7 mg/100 g SM). Najmanjšo vsebnost so imele borovnice iz Škamevca (77,7 mg/100 g SM), Ključa (84,7 mg/100 g SM) in Sora (90,3 mg/100 g SM). Določili smo naslednje antociane: peonidin-3-arabinozid, peonidin-3-galaktozid, peonidin-3-glukozid, cianidin-3-arabinozid, cianidin-3-galaktozid, cianidin-3-glukozid, delphinidin-3-arabinozid, delphinidin-3-galaktozid, delphinidin-3-glukozid, malvidin-3-arabinozid, malvidin-3-galaktozid, malvidin-3-glukozid, petunidin-3-galaktozid, petunidin-3-glukozid, petunidin-3-arabinozid.

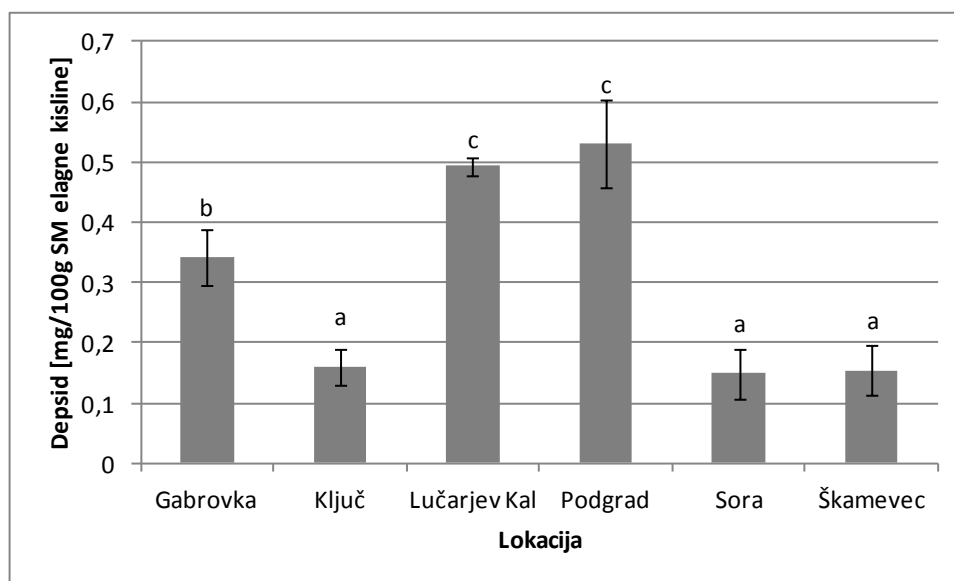


Slika 7: Povprečne vrednosti antocianov (mg/100 g SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Figure 7: Average values of anthocyanins (mg/100 g FW) in bilberry fruits according to the location. Letters above columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

4.5.5 Depsidi

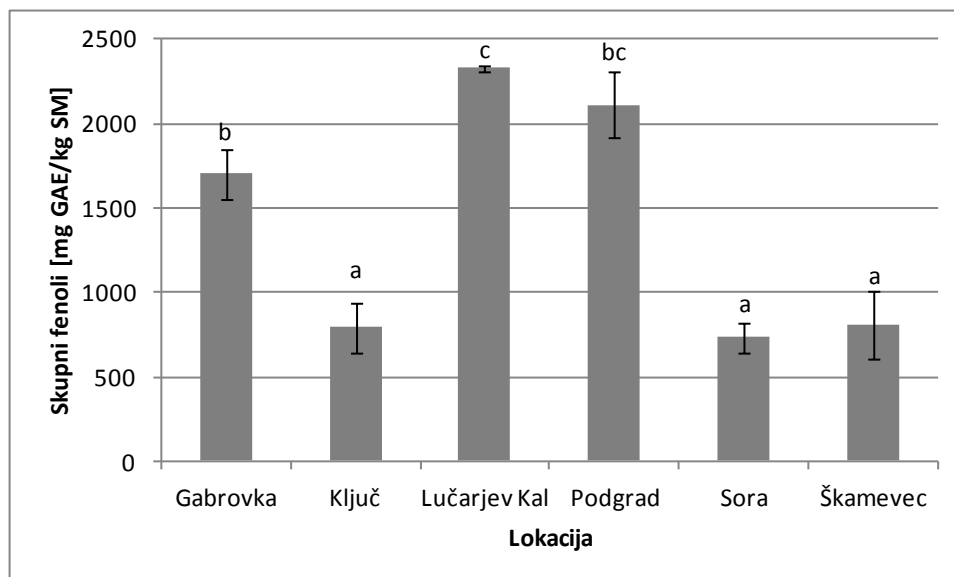
Podatki o vsebnosti depsidov so na sliki 8. Največjo vsebnost depsidov imajo borovnice iz Lučarjevega Kala in iz Podgrada (obe lokaciji 0,5 mg/100 g SM ekv. elagne kisline). Najmanjšo vsebnost imajo borovnice iz Ključa, Sora in Škamevca. Vsebnosti depsidov so bile v primerjavi z drugimi skupinami majhne.



Slika 8: Povprečne vrednosti depsida (mg/100 g SM elagne kisline) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Figure 8: Average values of deposite (mg/100 g FW ellagic acid) in bilberry fruits according to the location. Letters above columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

4.5.6 Skupni fenoli



Slika 9: Povprečne vrednosti skupnih fenolov (mg GAE/kg SM) v plodovih borovnice po rastiščih. Črke nad stolpci predstavljajo statistično značilne razlike ($p \leq 0,05$).

Figure 9: Average values of total phenols (mg GAE/kg FW) in bilberry fruits according to the location. Letters above columns represent statistically significant differences ($p \leq 0,05$).

Podatki o vsebnosti skupnih fenolov so na sliki 9. Najmanjšo vsebnost skupnih fenolov so imele borovnice iz Ključa, Sore in Škamevca (vsebnosti so med 730,9 in 805,1 mg

GAE/kg SM). Največjo vsebnost skupnih fenolov imajo borovnice iz Lučarjevega Kala (2328,8 mg GAE/kg SM), vendar ni statistično značilne razlike med tem rastiščem in Podgradom.

4.5.7 Razlike v skupnih fenolih na sončnem in senčnem rastišču ter južnem in severnem pobočju

Med sončnim in senčnim rastiščem obstaja statistično značilna razlika ($p=0,0103$) v vsebnosti skupnih fenolov. Povprečna vsebnost fenolov na sončnem rastišču je 2219,0 mg GAE/kg SM, na senčnem pa 1354,6 mg GAE/kg SM.

Med severnim in južnim pobočjem ne obstaja statistično značilna razlika ($p=0,0815$) v vsebnosti skupnih fenolov. Povprečna vrednost fenolov na južnem pobočju je 1930,8 mg GAE/kg SM, na severnem pobočju pa 1354,8 mg GAE/kg SM.

5 RAZPRAVA

V letu 2013 smo na različnih rastiščih v osrednji Sloveniji nabrali borovnice. Analizirali smo vsebnost posameznih sladkorjev, organskih kislin in fenolov. Nato smo primerjali vsebnosti izmerjenih primarnih in sekundarnih metabolitov glede na rastišče. Primerjali smo tudi glede na sončno in senčno rastišče ter ali je rastišče na severnem ali južnem pobočju.

5.1 pH TAL

Borovnica potrebuje za rast kislina humozna tla. Primeren pH za rast ameriških borovnic je od 2,5 do 3,8 na tleh bogatih z organsko snovjo ter pH od 3,25 do 4,5 na bolj mineralnih tleh (Oblak, 1996). Na preučevanih rastiščih smo izmerili pH tal od 2,9 do 3,6. pH tal na rastiščih je bil primeren za rast borovnic.

5.2 SLADKORJI

5.2.1 Posamezni sladkorji

Jagodičje ima večjo vsebnost fruktoze in glukoze, saharoza pa je prisotna v manjši koncentraciji ali pa je ni. Razmerje med glukozo in fruktozo je blizu 1. Sanz in sod. (2004) so v sveže stisnjem soku iz borovnic izmerili 4,91 g/ 100ml fruktoze in 4,80 g/ 100ml glukoze. Saharozne v vzorcu niso zaznali. Razmerje med glukozo in fruktozo je bilo 0,98. Nasprotno so Viljakainen in sod. (2002) v borovničevem soku izmerili 0,063 g/100 ml saharoze. Izmerili pa so podobno vsebnost fruktoze (4,087 g/ 100ml) in glukoze (3,145 g/ 100ml). Ayaz in sod. (2001) so izmerili 39,9 % suhe mase fruktoze, 32,9 % suhe mase glukoze in 1,81 % suhe mase saharoze v zrelih plodovih. V nezrelih plodovih so bile vsebnosti manjše. Razmerje med glukozo in fruktozo je bilo 1,02. Milivojevic in sod. (2012) so izmerili 57,8 g/kg SM glukoze, 87,1 g/kg SM fruktoze in 8,3 g/kg SM saharoze.

Vsi naši vzorci so vsebovali saharozo. Vsebovali so od 1 do 1,6 g/kg SM saharoze. Glavni delež sladkorjev sta predstavljali glukoza in fruktoza. Vsebnost glukoze je bila od 19,0 do 30,1 g/kg SM, vsebnost fruktoze pa od 18,2 do 31,2 g/kg SM. Razmerje med glukozo in fruktozo je v vseh vzorcih blizu 1 (od 0,96 do 1,04). Vsebnost glukoze v naših vzorcih je približno polovica vsebnosti, o kateri poročajo Milivojevic in sod. (2012). Vsebnost fruktoze pa je približno tretjina od poročane vsebnosti. Vzrok za razliko v vsebnosti sladkorjev je lahko primerjava plodov v različni zrelosti. Ayaz in sod. (2001) so dokazali, da se v času zorenja plodov vsebnost vseh sladkorjev poveča.

5.2.2 Skupni sladkorji

Borovničev sok vsebuje 72,94 g/l skupnih sladkorjev (Viljakainen in sod., 2002). Laaksonen in sod. (2010) so izmerili 47 g/kg SM skupnih sladkorjev. Ugotovili so tudi, da več kot 95 % skupnih sladkorjev ob stiskanju preide v sok. Milivojevic in sod. (2012) so izmerili višjo vsebnost sladkorjev. Izmerili so 153,2 g/kg SM skupnih sladkorjev. Ayaz in

sod. (2001) so izmerili 63,92 % suhe mase skupnih sladkorjev. Vsebnost se je med zorenjem povečala.

Naši vzorci so vsebovali od 38,2 do 62,8 g/kg SM skupnih sladkorjev. Pri primerjavi glede na sončno in senčno rastišče nismo ugotovili statistično značilnih razlik. Pri primerjavi smeri pobočja smo ugotovili, da imajo borovnice na južnem pobočju rahlo statistično značilno več sladkorjev (55,7 na južnem pobočju in 48,1 g/kg SM na severnem pobočju). Naše izmerjene vsebnosti sladkorjev so podobne, kot poročajo Laaksonen in sod. (2010), vendar polovico vsebnosti, ki jo poročajo Milivojevič in sod. (2012).

Colarič in sod. (2005) so ugotovili pozitivno povezavo med vsebnostjo sladkorjev in okusom breskev. Poročajo tudi, da vsebnost saharoze pozitivno vpliva na aromo in okus breskev. Breskve z večjo vsebnostjo sladkorjev so ljudje ocenili kot bolj okusne. Prav tako so boljše ocenili okus in aromo breskev z večjo vsebnostjo saharoze. Sklepamo lahko, da je podobna povezava tudi pri borovnicah.

5.3 ORGANSKE KISLINE

5.3.1 Posamezne organske kisline

Viljakainen in sod. (2002) so v borovničevem soku izmerili 23,75 g/l citronske kisline in 3,47 g/l jabolčne kisline. Ayaz in sod. (2001) so izmerili 1,94 g/kg suhe mase jabolčne, 3,96 g/kg suhe mase citronske in 9,06 g/kg suhe mase kininske kisline. Ugotovili so tudi, da se vsebnost jabolčne kisline med zorenjem poveča, vsebnost citronske in kininske kisline pa zmanjša. Laaksonen in sod. (2010) so izmerili 2 g/kg SM jabolčne kisline, 4 g/kg SM citronske kisline in 4,2 g/kg kininske kisline. Phillips in sod. (2010) so z dvema metodama izmerili in nato določili povprečno vsebnost organskih kislin. Izmerili so 22,9 g/kg SM citronske, 12,2 g/kg SM kininske, 5,9 g/kg SM jabolčne, 1,15 g/kg SM izocitronske, 0,589 mg/kg SM galakturonske, 245 mg/kg SM oksalne in 234 mg/kg SM šikimske kisline.

V našem vzorcu smo izmerili citronsko (od 8,9 do 13,3 g/kg SM), kininsko (od 6,0 do 7,0 g/kg SM), jabolčno (od 3,7 do 4,5 g/kg SM), šikimsko (od 107,4 do 222,5 mg/kg SM) in fumarno kislino (od 0,9 do 1,7 mg/kg SM). V literaturi ni poročil o vsebnosti fumarne kisline v borovnici (*V. myrtillis*). Naše izmerjene vsebnosti citronske, kininske, jabolčne in šikimske kisline se ujemajo z navedbami v literaturi.

5.3.2 Skupne organske kisline

Ayaz in sod. (2001) so izmerili 12,0 g/kg suhe mase skupnih kislin. Med zorenjem se je vsebnost kislin zmanjšala. Laaksonen in sod. (2010) so izmerili 10 g/kg SM skupnih organskih kislin. Po stiskanju je 95 % kislin prešlo v sok.

V našem vzorcu smo izmerili od 18,4 do 30,2 g/kg SM skupnih organskih kislin. Večja vsebnost kislin kot v literaturi je lahko posledica primerjave plodov v različni zrelosti.

Najmanj skupnih kislin so imele borovnice iz Podgrada in Lučarjevega Kala. Obe rastišči sta sončni. Največ skupnih kislin so imele borovnice iz Škamevca in Ključa, borovnice iz Sore in Gabrovke so imele vmesno vsebnost kislin. Vsa štiri rastišča so senčna. Med senčnimi in sončnimi rastišči obstaja statistično značilna razlika v vsebnosti skupnih organskih kislin. Med severnim in južnim pobočjem ni statistično značilnih razlik.

Colarič in sod. (2005) so ugotovili negativno povezavo med vsebnostjo citronske in šikiminske kisline in sladkostjo. Breskve z večjo vsebnostjo omenjenih kislin so ljudje ocenili kot bolj kisle. Ugotovili so tudi pozitivno povezavo med organskimi kislinami in aromo. Breskve z večjo vsebnostjo organskih kislin so bile ocenjene kot bolj aromatične.

5.4 RAZMERJE MED SLADKORJI IN KISLINAMI

Razmerje med sladkorji in kislinami je bilo od 3,3 v Podgradu do 1,6 v Škamevcu. Na sončnem rastišču je bilo razmerje večje kot na senčnem. Prav tako je bilo razmerje na južnem pobočju večje kot na severnem, vendar razmerji nista statistično značilno različni. Borovnice na sončnem rastišču in na južnem pobočju so imele več skupnih sladkorjev kot na senčnem rastišču in na severnem pobočju. Borovnice na sončnem rastišču so imele manj organskih kislin. Med severnim in južnim pobočjem razlik v vsebnosti organskih kislin ni bilo.

Colarič in sod. (2005) so ugotovili, da ima razmerje med sladkorji in organskimi kislinami močan vpliv na občutek sladkosti pri breskvah. Večje kot je razmerje, večji je občutek sladkosti. Sklepamo lahko, da razmerje enako vpliva na občutek sladkosti tudi pri borovnicah.

5.5 FENOLI

5.5.1 Hidroksicimetne kisline in njihovi derivati

Laaksonen in sod. (2010) so v borovnici določili 5 hidroksicimetnih kislin. Njihova skupna vsebnost je bila 23 mg/100 g SM. Več kot 9 mg/100 g SM je bilo derivata klorogene kisline in 1. derivata kumarne kisline + heksozid. zaznali so še derivat kafeoilkininske kisline, 2. derivat kumarne kisline + heksozid in derivat kavne kisline + heksozid.

V naših vzorcih smo določili kavno kislino in 2 derivata kavne kisline, 3 derivate kumarne kisline, 3 coumaroil irodoide, klorogeno kislino, cis-5-kafeoilkininsko kislino in heksozid p-kumarne kisline. Vsebnost je bila od 13,5 do 44,1 mg/100 g SM. Naša izmerjena vsebnost je bila podobna, kot jo navajajo v literaturi.

5.5.2 Flavanoli

Flavanole v borovnici obravnava malo literature. Može in sod. (2011) so v borovnici (*V. myrtillus*) in ameriški borovnici (*V. corymbosum*) zaznali 2 flavanola. Katehin je bil v večji

koncentraciji prisoten v ameriški borovnici, epikatehin pa v borovnici. Izmerili so 2,2 mg/100 g SM flavanolov v borovnici, v ameriški borovnici pa 2,3 mg/100 g SM.

V naših vzorcih smo zaznali 3 flavanole: epikatehin, procianidin dimer in procianidin trimer. Skupna vsebnost je bila med 1,7 mg/100 g SM in 4,7 mg/100 g SM. V našem vzorcu nismo zaznali katehina, smo pa zaznali procianidin dimer in trimer, ki ju Može in sod. (2011) ne navajajo. Naše izmerjene vsebnosti so bile podobne navedenim v literaturi.

5.5.3 Flavonoli

Jaakola (2003) je določil v plodu 2 flavonola: kvercetin (večja koncentracija) in miricetin (manjša koncentracija). Može in sod. (2011) so določili 3 flavanole v borovnici, s skupno vsebnostjo 1,4 mg/100 g SM. Poleg glikozida kvercetin (0,8 mg/100 g SM) in glikozida miricetin (0,4 mg/100 g SM) so določili še glikozid rutin (0,2 mg/100 g SM).

V naših vzorcih smo določili glikozide izoramnetin, kempferol, laricitin in miricetin. Skupna vsebnost je bila med 2,3 in 7,6 mg/100 g SM. V naših vzorcih smo izmerili večje vsebnosti flavanolov in drugačno sestavo kot navaja Jaakola (2003).

5.5.4 Antociani

Szajdek in Borowska (2008) navajata, da je vsebnost antocianov med 214,7 in 299,6 mg/100 g SM. Glavni antociani so malvidin-3-glukozid, cianidin-3-glukozid, cianidin-3-galaktozid in delfinidin-3-galaktozid. Navajata, da so prisotni še aglikoni delfinidin, cianidin, petunidin, peonidin in malvinidin. Može in sod. (2011) navajajo, da je skupna vsebnost antocianov 1210,3 mg/100 g SM.

V naših vzorcih smo izmerili od 77,7 do 329,7 mg/100 g SM antocianov. Določili smo aglikone peonidin, petunidin, cianidin, delfinidin in malvidin, na katere so bili vezani sladkorji araboza, galaktoza in glukoza. Izmerili smo podobne vsebnosti kot Szajdek in Borowska (2008), vendar manjše kot poročajo Može in sod. (2011).

5.5.5 Depsidi

Malo literature obravnava vsebnost depsidov v višjih rastlinah. Ono in sod. (2002) navajajo, da so izolirali depsid iz vrste *V. ashei*. Turner in sod. (2007) so izolirali drug depsid iz ameriške brusnice. Nihče ne navaja, v kakšni koncentraciji je bil prisoten v vzorcu.

V naših vzorcih smo izmerili vsebnosti depsida od 0,15 do 0,53 mg/100 g SM.

5.5.6 Skupni fenoli

Može in sod. (2011) so v borovnici izmerili 1245,6 mg/100 g SM skupnih fenolov, od tega 12110,3 mg/100 g SM antocianov. V ameriški borovnici so izmerili 292,6 mg/100 g SM

fenolov, od tega 212,4 kg/100 g SM antocianov. V obeh vrstah največji delež fenolov predstavljajo antociani. Večjo vsebnost fenolov v borovnici kot v ameriški borovnici so izmerili tudi Riihinen in sod. (2008). Poročajo tudi, da ima borovnica večji delež fenolov v mesu ploda kot ameriška borovnica. Jabłońska-Ryś in sod. (2009) so izmerili 4247,2 mg GAE/kg SM skupnih fenolov.

V naših vzorcih smo izmerili med 730,9 in 2328,2 mg GAE/kg SM skupnih fenolov. Največji delež, enako kot poročajo Može in sod. (2011) ter Riihinen in sod (2008), predstavljajo antociani. Izmerili smo približno za polovico in več manjše vrednosti kot navajajo Jabłońska-Ryś in sod. (2009). Med sončnim in senčnim rastiščem je statistično značilna razlika v vsebnosti fenolov. Med severnim in južnim pobočjem ni bilo razlik.

6 SKLEPI

Preučevali smo vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov v borovnici (*V. myrtillus*). Od primarnih metabolitov smo preučevali sladkorje (saharoza, glukoza in fruktoza) ter organske kisline (citronska, kininska, jabolčna, šikimska in fumarna kislina). Od sekundarnih metabolitov smo preučevali fenole (hidroksicimetne kisline in derivati, flavanole, flavonole, antociane in depside). Preučili smo vpliv rastišča na vsebnost metabolitov in poskušali ugotoviti, na kateri lokaciji imajo plodovi boljšo kakovost glede na svetlobni režim.

Ugotovili smo, da med sončnim in senčnim rastiščem ni statistično značilnih razlik v vsebnosti sladkorjev. Največ sladkorjev so imele borovnice iz Podgrada, ki je sončno rastišče, vendar borovnice iz Lučarjevega Kala, ki je prav tako sončno rastišče, niso imele več sladkorjev od nekaterih senčnih rastišč. Obstaja rahla statistična razlika med severnim in južnim pobočjem. Borovnice iz južnega pobočja imajo nekoliko več sladkorjev. Razmerje med glukozo in fruktozo je na vseh rastiščih blizu 1.

Borovnice iz sončnih rastišč vsebujejo statistično značilno manj kislin kot borovnice iz senčnih rastišč. Med severnim in južnim pobočjem ne obstajajo statistično značilne razlike. Razmerje med sladkorji in kislinami je večje na sončnem rastišču in na južnem pobočju.

Borovnice na sončnem rastišču vsebujejo 864,4 mg GAE/kg SM več skupnih fenolov. Med severnim in južnim pobočjem ni statistično značilnih razlik.

Naše hipoteze lahko delno potrdimo. Sončno rastišče vpliva na večjo vsebnost fenolov in na manjšo vsebnost organskih kislin, med tem na vsebnost sladkorjev ne vpliva. Med severnim in južnim pobočjem obstajajo razlike samo v vsebnosti sladkorjev, na vsebnost organskih kislin in fenolov, pa smer pobočja ne vpliva.

Če upoštevamo kemijsko sestavo ploda kot kriterij, je med boljšimi lokacijami za rast borovnice Podgrad. Razmerje med sladkorji in kislinami je bilo tu največje. Vsebovale so manj kislin, več sladkorjev in veliko vsebnost fenolov. Med slabšimi lokacijami je Škamevec. Razmerje med sladkorji in kislinami je bilo najmanjše. Borovnice so vsebovale manj sladkorjev in več organskih kislin, vsebnost fenolov pa je bila med najmanjšimi.

Zanimivo bi bilo spremljati lokacije v naslednjih letih, da ugotovimo, ali so bile razlike samo letos ali bodo prisotne tudi v drugih letih. Dobro bi bilo spremljati borovnice na več rastiščih, tudi na višje ležečih. Ob nadaljnjem spremljanju bi bilo potrebno bolje popisati združbo in ovrednotiti svetlobni režim (meritev svetlobnega toka ali meritev zaprtosti sestoja).

Razlike med lokacijami so lahko tudi posledica različne zrelosti plodov. V nadaljnjih raziskavah bi bilo smiselno bolj natančno določiti zrelost plodov. Z bolj natančno določeno zrelostjo plodov, bi lahko izključili možnost za razlike zaradi različne zrelosti.

7 POVZETEK (SUMMARY)

7.1 POVZETEK

Primerjali smo plodove borovnice (*Vaccinium myrtillus*) iz šestih različnih rastišč v osrednji Sloveniji. Plodovi so bili nabrani v užitni zrelosti na začetku poletja 2013. Analizirali smo vsebnost sladkorjev (glukoza, fruktoza in saharoza), organskih kislin (citronska, vinska, jabolčna, šikimska in fumarna kislina) ter fenolov (hidroksivimetne kisline in derivati, flavonoli, flavanoli, antociani in depsid). Vsebnost smo določili s HPLC. Izolacija in analize so bile narejene v laboratoriju katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani. Rezultate smo primerjali glede na lokacijo, sončno/senčno rastišče ter smer pobočja.

Največ sladkorjev so vsebovale borovnice iz Podgrada, najmanj pa borovnice iz Škamevca. Med sončnim in senčnim rastiščem ni razlik v vsebnosti sladkorjev. Orientiranost rastišča je vplivala na vsebnost sladkorjev. Borovnice iz južnega pobočja so imele več sladkorjev.

Največ organskih kislin so vsebovale borovnice iz Škamevca in Ključa, najmanj pa iz Podgrada in Lučarjevega kala. Borovnice iz sončnega rastišča so imele manj organskih kislin kot borovnice iz senčnega rastišča. Smer pobočja ni vplivala na vsebnost organskih kislin.

Razmerje med sladkorji in kislinami je različno med vsemi rastišči. Obe sončni rastišči sta imeli večje razmerje od senčnih rastišč. Največje razmerje je na rastišču v Podgradu, drugo največje pa v Lučarjevem kalu.

Največ skupnih fenolov so imele borovnice iz sončnih rastišč. Med severnim in južnim pobočjem ni bilo razlik. Veliko fenolov so imele še borovnice iz Gabrovke. Vsebnost se statistično ne razlikuje od vsebnosti v borovnicah iz Podgrada.

Naši hipotezi lahko le delno potrdimo. Sončno rastišče je vplivalo na večjo vsebnost fenolov in manjšo vsebnost organskih kislin. Na vsebnost sladkorjev ni vplivalo. Smer pobočja je vplivala samo na vsebnost sladkorjev. Več jih je bilo na rastiščih na južnem pobočju. Na vsebnost organskih kislin in fenolov smer pobočja ne vpliva.

Med boljšimi lokacijami je Podgrad, med slabšimi pa Škamevec. Razlike med rastišči so lahko zaradi različne zrelosti plodov. Zato bi bilo smiselno bolj natančno določiti stopnjo zrelosti, bolje preučiti rastišča in spremljati rastišča skozi več let.

7.2 SUMMARY

INTRODUCTION

Recently, the demand for food rich in phenolic compounds has risen. These compounds are potential antioxidants and may have a beneficial influence on human health. In addition to phenolic content, taste is still important. Taste depends on the sugar and organic acid content.

Picking of bilberries has a long tradition in Slovenia. The fruit is consumed fresh or used for processing. In folk medicine dried leaves and fruit are used for preparing tea to help with diarrhoea. The quality of fruits depends on many factors. Abiotic factors are among the most important (exposure to sun, temperature, rainfall, pH of soil, nutrients availability, and altitude). Exposure to sun is easily determined without measurements, therefore we will compare the effect of a sunny or shaded location on the quality of the fruit.

Plants growing in sunny locations and on south-facing hillsides have better growing conditions. Therefore, we assume that these plants will have more sugars, organic acids and phenols than plants from shaded locations and north-oriented slopes.

The aim of the study was to determine whether there is a difference in primary and secondary metabolite content in fruits growing at different locations. We also want to determine at which location bilberry fruits have better quality.

LITERATURE REVIEW

Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.)

Bilberry belongs to the Ericaceae family. It is native to Europe, North America and northeast Asia. In Europe it grows from Scandinavian to Balkan peninsula and from British isles to Black sea, in Alps up to height of 2500 m above sea level, and in Asia from Caucasus to middle Siberia. FAOSTAT does not have any data on bilberry cultivation. In recent years, it has been possible to buy seeds and young bilberry plants on the internet.

Botanical description

Bilberry is deciduous shrub. It grows up to 50 cm in height, with many branches at sharp angles. The roots are shallow and wide spread. New shrubs can grow from roots. Leaves are oval and up to 2,5 cm long. They are light green and turn an intense red in autumn.

Bilberry flowers in May or June. It is pollinated by honeybees and bumblebees. Flowers develop separately. The flower's peduncle is short and the petals are reddish and green, and grow together. The fruits ripen from June to August, depending on altitude. The fruit is a round berry and although generally growing to 5 to 8 mm, it can reach up to 10 mm in

size. It is of dark blue colour, juicy and it contains many seeds. The juice has an intense purple colour.

Ecological requirements

Bilberry grows in forests, mountain pastures, marshes and moors. In forests, it often grows as a monoculture on larger areas. It requires acidic soil. In organic soil, the best pH is between 3.5 and 4.8 and in mineral soil between 4.25 and 5.5. Despite high yields, there are no symptoms of nutrient deficiency, as the required nutrients are provided through symbiosis.

Although it is adapted to cold temperatures, spring frosts negatively affect the growth. Flowers freeze under -3°C . For generative development bilberry requires sufficient water. It is resistant to attacks by pests and disease, although aphids and mites can cause some troubles. Birds can eat large share of yield.

Sugars in bilberry fruits

Sugars are primary plant metabolites. They are divided in monosaccharides, oligosaccharides (10 or less monosaccharides bound together) and polysaccharides. The most important sugars in fruit are the monosaccharides glucose and fructose, and oligosaccharie sucrose. Sugars represent a large part of dry weight in fruits.

Bilberry contains 47 g/kg fresh weight (FW) of sugars. The main sugars are fructose (20 g/kg FW) and glucose (26 g/kg FW). Xylose and Myo-inositol are present in small quantities. Some researchers have detected sucrose in bilberries. After pressing, more than 95% sugars goes into juice. All of the sugars accumulate during ripening. Sucrose is not present in unripe fruits. Ratio between glucose and fructose is less than one in unripe fruits, but changes to 1 when fruits are ripen.

Organic acids in bilberry fruits

Organic acids are primary plant metabolites. They have a function in respiratory metabolism, as storage compounds, precursors in metabolic processes and other functions. Together with sugars, they influence the taste of fruits, and during ripening their concentration usually decreases. The most abundant organic acid in stone and pome fruits is malic acid, and in berries, citruses and tropical fruits, it is citric acid.

Bilberry contains 10 g/kg FW organic acids. Citric and quinic acid are the most abundand in bilberry. Malic acid is present in lesser amounts. There are reports of tartaric and succinic acid in bilberry. During ripening, the concentration of citric, quinic and total acids decreases, whereas concentrations of malic acid increase.

Phenols in bilberry fruits

Phenols are a large group of secondary metabolites. They have at least one aromatic ring and at least one hydroxyl functional group. They are present in all plants and have many functions, including a role in a plant's response to biotic and abiotic stress (drought, intensive sunlight, pathogen attack, etc.). In fruits three groups of phenols are important. The first group are simple phenols and phenol acids. The second group is hydroxycinnamic acid and its derivatives. The third group are flavanoids. This group consists of anthocyanins, flavanols, flavonols, etc. Bilberry contains from 3.92 to 5.24 mgGAE/g FW phenolic compounds.

Hydroxycinnamic acids and derivatives have a C6-C3 skeleton. This group also includes coumaric and caffeic acids and their derivatives. Bilberry contains 23 mg/100 g FW of hydroxycinnamic acids.

Flavonoids are one of the most important groups of phenols in fruit. They are built from two aromatic rings connected with a 3 carbon bridge (Picture 1). Flavonoids have developed together with flowers and pollination. Most compounds are light yellowish, and most of them are visible in UV spectre. Anthocyanins are mostly visible in the visible spectre.

Flavonols have a double bond in a carbon bridge. They differ in functional groups bound to the R₃' and R₅' sites. The main flavonols in bilberry are quercetin, kaempferol, myricetin and isorhamnetin. Bilberry contains 16 mg/100 g FW of flavonols.

Flavanols can be monomers or complex polymers. A carbon bridge has only saturated bonds, therefore the molecule is not planar. Polymers are called proanthocyanins or condensed tannins. They are abundant in fruits. Catehin and epicatehin have also been detected in bilberry.

Anthocyanidins are most notable in flowers and fruits. They have a red, blue and purple colour. They also give colour to leaves in autumn. They are almost always bound to sugars and form anthocyanins. Bilberry contains 250 mg/100 g FW of anthocyanins. Plants from sunny locations usually have higher concentrations of anthocyanins.

Deposides are polyphenol compounds. They are esters of same or different phenolic benzoic acids. They can be made up of two or more units. Deposides have been found in rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) and cranberry (*Vaccinium macrocarpon*).

MATERIALS AND METHODS

Bilberry fruits

Bilberry fruits were picked at 6 different locations in central Slovenia. The sample was picked over 50 m² from all bushes equally. 250 ml of fruits were sampled. They were

handpicked when ripe and frozen until extraction and analysis. On location, we surveyed the plants and growth conditions (sun/shadow, inclination of terrain, etc.). We took soil samples for pH analysis and wrote down coordinates from GPS. We later determined the altitude from the map.

Škamevec: Annual rain falls of 1393 mm. Precipitation is evenly spread throughout the year. The average temperature is 9.8°C. Bilberry grows like a monoculture in a beech forest with oak and spruce trees. Rocks and stumps are overgrown with moss. The terrain is steep at the beginning, and then later becomes flat. Altitude is 600 m.

Podgrad: Annual rain falls of 1393 mm. Precipitation is evenly spread throughout the year. The average temperature is 9.8°C. Bilberry grows under power lines on full sun. It is surrounded by a beech forest with sweet chestnuts and Scots-pine trees. Rocks are not overgrown with moss. Terrain is not that steep. Altitude is 400 m.

Ključ: Annual rain falls of 1594 mm. Precipitation is evenly spread throughout the year. The average temperature is 9.4°C. Bilberry grows like a monoculture in a beech and Scots-pine forest, with sweet-chestnuts, oak and spruce trees. There is little moss. There are canals made by water running downside the hill. Bilberries grow between canals. Altitude is 380 m.

Lučarjev Kal: Annual falls of 1216 mm. Precipitation is evenly spread throughout the year, with slight increase in summer and autumn months. The average temperature is 8.9°C. Bilberry grows in a valley in a forest. Trees in the valley were cut a few years ago, therefore there are only some young trees growing there. Nearby is a beech and spruce forest with oak and sweet-chestnut trees. The terrain is steep. Altitude is 340 m.

Gabrovka: Annual rain falls of 1216 mm. Precipitation is evenly spread throughout the year, with slight increases in summer and autumn months. The average temperature is 8.9°C. Bilberry grows like a monoculture in a beech and Scots-pine forest with oak, spruce and birch trees. The terrain is flat. Altitude is 440 m.

Sora: Annual rain falls of 1393 mm. Precipitation is evenly spread throughout the year. The average temperature is 9.8°C. Bilberry grows like a monoculture in an oak forest with spruce, beech and sweet-chestnut trees. There are some torrent streams running downhill. There are some old tree trunks and branches on the ground. Rocks and stamps are overgrown with moss. Altitude is 390 m.

Podgrad and Lučarjev kal can be regarded as sunny locations, whereas Sora, Ključ, Škamevec and Gabrovka can be regarded as shadowy. On south hillsides, bilberries grow in Podgrad, Lučarjev Kal and Ključ, and on north hillsides in Sora, Škamevec and Gabrovka.

Methods

We determined the volume density of soil. Afterwards we calculated weight of 25 ml. The soil was then incubated in CaCl₂ solution overnight, then we measured the soil pH with a digital pH metre.

For sugars, organic acids and phenols extraction, we used the slightly modified procedure described by Zupan (2012). For HPLC analysis of sugars, organic acids and phenols we used the slightly modified HPLC protocol described by Zupan (2012). Results were analysed with R 2.13.2. We used ANOVA analysis. To determine differences among samples, we used Duncan's test with 95% confidence interval.

RESULTS AND DISCUSSION

The pH value in the soil was between 2.9 and 3.6. Results are shown in Table 2. Low soil pH is essential for bilberry growth, therefore it was expected.

We measured low concentrations of sucrose in all samples. On the average, it represented 2.6% of total sugars. Glucose and fructose were main sugars. Both represented the average of 48.7% of total sugars. The content of sugars was the lowest in Škamevec (38.2 g/kg fresh weight (FW)) and the highest in Podgrad (62.8 g/kg FW). On all the locations, the ratio between glucose and fructose was around 1. Data is shown in Table 3 and Figure 2. The glucose/fructose ratio is consistent with reports in literature. Individual sugars and total sugar contents measured in this research were similar to those reported in literature; however, higher contents were also found. Differences could be result of differently ripen fruits. Namely, sugars accumulate in fruits during the ripening period, which is when their content rises. The comparison between sunny and shadowed locations showed no differences in the sugar content. On the south hillsides, the sugar content was higher (55.7 g/kg FW) than on the north hillsides (48.4 g/kg FW). Fruits with a higher sucrose content are richer in taste and aroma. Higher sugar content makes fruits richer in taste.

Citric acid represents 50%, quinic acid 30%, malic acid 19 % and shikimic and fumaric acid together represent 1% of total organic acids. The organic acids content was the highest in Ključ (23.8 g/kg FW) and Škamevec (23.7 g/kg FW). The lowest level was measured in Podgrad (18.8 g/kg FW). Data is shown in Table 4 and 5 and Figure 3. We measured higher values than reported in the literature. Differences in content can occur because of differently ripen fruits. The acid content lowers during the ripening period of fruits. We detected differences between sunny and shadowed locations. On shadowed locations, the content of organic acids was 22.1 g/kg FW, and on sunny locations, it was 19.8 g/kg FW. There was no difference between south and north hillsides. Fruits with higher organic acids have better aroma. Higher content of citric and shikimic acid gives fruits lower sweetness.

The sugars/organic acids ratio ranged from 3.3 in Podgrad to 1.6 in Škamevec. On sunny locations and on south hillsides, the ratio was higher than in shadowed locations and north

hillsides. The sugars/organic acids ratio has an impact on sweetness. Higher ratio gives higher sweetness.

In all measured phenols (hydroxycinnamic acids and derivatives, flavonols, flavanols, anthocyanins and depsides), the situation was similar. The highest values were measured in Lučarjev Kal and Podgrad. Both are sunny locations. Fruits from Gabrovka had a higher content of all phenols measured than fruits from other shadowed locations, with the exception flavonols, which was the same in all the shadowed location. Fruits from sunny locations had 2219.0 mg GAE/kg FW phenols, and fruits from shadowed locations had 1354.6 mg GAE/kg FW. There were no differences between south and north hillsides.

CONCLUSION

We analysed primary and secondary metabolites in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) on 6 different locations in the summer of 2013. We determined contents of sugars (sucrose, glucose and fructose), organic acids (citric, quinic, malic, shikimic and fumaric acid), and phenols (hydroxycinnamic acids and derivatives, flavanols, flavonols, anthocyanins and depsides). We examined the influence of location on metabolites and attempted to determine which location is the most favourable for bilberries.

We determined no differences in sugar contents measured in sunny and shadowed locations. The highest sugars were measured in Podgrad, whereas bilberries from Lučarjev Kal contained less sugars than some shadowed locations (both locations are sunny). There is a slight difference between north and south hillsides, with bilberries from south hillsides having more sugars. The ratio between glucose and fructose is around 1 in all the locations.

We determined differences in the organic-acid contents measured in sunny and shadowed locations. Bilberries from sunny locations have a lower content of organic acids. There were no differences measured in south and north hillsides. The sugars/organic acids ratio was higher in sunny locations.

We also determined that bilberries from sunny locations contain more phenols than those growing in shadowed locations. No differences between south and north hillsides were determined.

We can partly confirm our hypothesis. Namely, bilberries from sunny locations have a higher phenol content, but a lower content of organic acids. Sunny or shadowed locations do not affect the sugars content. Hillside locations only affect the sugars content. Organic acid and phenols showed the same levels on both hillsides.

If we consider the chemical composition of fruits for the quality evaluation, then Podgrad comes through as a better location, as the sugars/organic acids ratio was the highest. Bilberries growing in Podgrad contained a low level of organic acids, high sugars content, and the phenols content was among the highest. Škamevec was among the worst locations,

as bilberries growing there showed the lowest sugars/organic acids ratio. Bilberries also contained less sugars, more organic acids, and the phenols content was among the lowest.

It would be interesting to follow these locations in the future to determine if difference occurred only this year. In the future, the association of location and light conditions should be better studied. More locations, also on higher elevations should be analysed in the future.

Differences among locations could have occurred because of different ripeness of berries. Therefore, it would be useful to better describe the ripeness of fruits.

8 VIRI

ARSO

<http://www.arso.gov.si/> (avgust 2013)

Ayaz F.A., Kadioglu A., Bertoft E., Acar C., Turna I. 2001. Effect of fruit maturation on sugar and organic acid composition in two blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* and *V. myrtillus*) native to Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 29: 137–141.

Belitz H. D., Grosch W., Schieberle P. 2009. *Food chemistry*. 4th revised and extended ed. Berlin, Springer: 1070 str.

Bohne H., Hornig R., Spethmann W. 1997. *Experimentelle Übungen zur Vermehrung und Kultur von Gehölzen Praktikumsanleitung*. Hanover, Institut für Obstbau und Baumschule: 39 str.

Brecht J.K., Ritenour M.A., Haard N.F., Chism G.W. 2008. *Postharvest Physiology of edible Plant Tissues V: Fennema's Food Chemistry*. 4th ed. Damodaran S., Parkin K.L., Rennema O. R. (ur.). Boca Raton. Taylor & Francis Group: 975–1050.

Colarič M., Veberič R., Štampar F., Hudina M. 2005. Evaluation of peach and nectarine fruit quality and correlations between sensory and chemical attributes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 2611–2616.

FAOSTAT

<http://faostat.fao.org/> (avgust 2013)

Forney C.F., Kalt W., Jordan M.A., Vinqvist-Tymchuk M.R. 2012. Blueberry and cranberry fruit composition during development. *Journal of Berry Research*, 2, 3: 169–177.

Gupta S.P., Nagappa A.N. 2003. Design and development of integrase inhibitors as anti-HIV agents. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 1779–1794.

Hendry G.A.F. 1996. *Natural pigments in biology V: Natural food colorants*. 2nd ed. Hendry G.A.F., Houghton J.D. (ur.). Glasgow. Blackie academic & professional An imprint of Chapman & Hall: 1–39.

Jaakola L. 2003. *Flavonoid biosynthesis in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.)*. Oulu, Department of Biology, University of Oulu: 42 str.

Jabłońska-Ryś E., Zalewska-Korona M., Kalbarczyk J. 2009. Antioxidant capacity, ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 17, 2: 115–120.

- Jovančević M., Balijagić J., Menković N., Šavikin K., Zdunić G., Janković T., Dekić-Ivanković M. 2011. Analysis of phenolic compounds in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) from Montenegro. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 6: 910–914.
- Laaksonen O., Sandell M., Kallio H. 2010. Chemical factors contributing to orosensory profiles of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) fractions. *European Food Research and Technology*, 231: 271–285.
- Martinček L., Čarni A. Komentar k vegetacijski karti gozdnih združb Slovenije v merilu 1:400.000. ZRC SAZU
<http://gis.zrc-sazu.si/zrcgis/doc/veg/VegSloAng.htm> (avgust 2013)
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Podobnik A., Turk B., Vreš B., Ravnik V., Frajman B., Strgulc Krajšek S., Trčak B., Bačič T., Fischer M.A., Eler K., Surina B. 2007. Mala flora Slovenije/ Ključ za določevanje praprotnic in semenk. Četrta, dopolnjena in spremenjena izdaja. Švigelj B. (ur.). Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 968 str.
- Martinussen I., Nestby R., Nes A. 2009. Potential of the European wild blueberry (*Vaccinium myrtillus*) for cultivation and industrial exploitation in Norway. *Acta Horticulturae*, 810, 1: 211–215.
- McPolin O. 2009. An Introduction to HPLC for pharmaceutical analysis. Warrenpoint, Mourne Training Services: 137 str.
- Milivojevic J., Maksimovic V., Dragisic Maksimovic J., Radivojevic D., Poledica M., Ercişli S. 2012. A comparison of major taste- and health related compounds of *Vaccinium* berries. *Turkish Journal of Biology*, 36: 738–745.
- Može Š., Polak T., Gašperlin L., Koron D., Vanzo A., Poklar Ulrich N., Abram V. 2011. Phenolics in Slovenian bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 6998–7004.
- Muller K. 2001 Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59: 9–16.
- Nic M., Jirat J., Kosata B. Compendium of chemical terminology Gold book Ver. 2.3.2. 2012. International Union of Pure and Applied Chemistry: 1622 str.
<http://goldbook.iupac.org/about.html> (avgust 2013)
- Oblak M. 1996. Ameriške borovnice: Razvoj rastline in gojenje. Ljubljana, Kmečki glas: 122 str.

- Ono M., Masuoka C., Koto M., Tateishi M., Komatsu H., Kobayashi H., Igoshi K., Ito Y., Okawa M., Nohara T. 2002. Antioxidant ortho-benzoyloxyphenyl acetic acid ester, Vaccihehin A, from the Fruit of Rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*). Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 50, 10: 1416–1417.
- Phillips M.M., Case R.J., Rimmer C.A., Sander L.C., Sharpless K.E., Wise S.A., Yen J.H. 2010. Determination of organic acids in *Vaccinium* berry standard reference materials. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 398: 425–434.
- Pirc H. 2008. Divje sadne vrste na domačem vrtu. Slovenj Gradec, Kmetijska založba d. o. o.: 160 str.
- Prodorutti D., Pertot I., Giongo L., Gessler C. 2007. Highbush blueberry: cultivation, protection, breeding and biotechnology. The European Journal of Plant Science and Biotechnology, 1, 1: 44–56.
- Riihinen K., Jaakola L., Kärenlampi S., Hohtola A. 2008. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and ‘northblue’ blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. angustifolium*). Food Chemistry, 110: 156–160.
- Rixen C., Schwoerer C., Wipf S. 2010. Winter climate change at different temporal scales in *Vaccinium myrtillus*, an Arctic and alpine dwarf shrub. Polar research, 29: 85–94.
- Sanz M.L., Villamiel M., Martinez-Castro I. 2004. Inositols and carbohydrates in different fresh fruit juices. Food Chemistry, 87: 325–328.
- Smith E. J., Gorris L. G. M. 2007. Natural antimicrobials for food preservation V: Handbook of food preservation. 2nd ed. Shafiur M. R. (ur.). Boca Raton. Tylor & Francis Group: 237–258.
- Szajdek A., Borowska E.J. 2008. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: A review. Plant Foods for Human Nutrition, 63: 147–156.
- Turner A., Chen S.N., Nikolic D., van Breemen R., Farnsworth N.R., Pauli G.F. 2007. Coumaroyl iridoids and a depside from cranberry (*Vaccinium macrocarpon*). Journal of Natural Products, 70: 253–258.
- Veberič R. 2010. Bioactive compounds in fruit plants. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 65 str.
- Viljakainen S., Visti A., Laakso S. 2002. Concentration of organic acids and soluble sugars in juices from Nordic berries. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science, 52: 101–109.

Suhadolnik, A. Primerjava ... metabolitov ... borovnice (*Vaccinium myrtillus* L.) ... različnih rastišč.
Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, IMFS, 2013.

Zupan A. 2012. Vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov ob različni zrelosti sort
črnega ribeza (*Ribes nigrum* L.) Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 49
str.

ZAHVALA

Za vse nasvete, pomoč in spodbudo pri pisanju magistrske naloge se zahvaljujem mentorju izr. prof. dr. Robertu VEBERIČ.

Za pregled in dopolnitev magistrske naloge se zahvaljujem prof. dr. Dominiku VODNIK in prof. dr. Francu BATIČ.

Za pomoč v laboratoriju in narejene HPLC analize se zahvaljujem doc. dr. Maji MIKULIČ PETKOVŠEK in ostalim sodelavcem Katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, oddelka za agronomijo.

Za pomoč pri nabiranju borovnic in podporo med pisanjem naloge se zahvaljujem staršem.