

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
MEDNARODNI ŠTUDIJSKI PROGRAM SADJARSTVO

Anka ZUPAN

**VSEBNOST PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH  
METABOLITOV OB RAZLIČNI ZRELOSTI SORT  
ČRNEGA RIBEZA (*Ribes nigrum* L.)**

MAGISTRSKO DELO

Mednarodni študijski program Sadjarstvo – 2. stopnja

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
MEDNARODNI ŠTUDIJSKI PROGRAM SADJARSTVO

Anka ZUPAN

**VSEBNOST PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV OB  
RAZLIČNI ZRELOSTI SORT ČRNEGA RIBEZA (*Ribes nigrum* L.)**

MAGISTRSKO DELO  
Mednarodni študijski program Sadjarstvo – 2. stopnja

**CONTENT OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN  
BLACK CURRANT (*Ribes nigrum* L.) AT DIFFERENT RIPENING  
TIME**

M. SC. THESIS  
International Master of Fruit Science

Ljubljana, 2012



## INTERNATIONAL MASTER OF FRUIT SCIENCE

# Master Degree Thesis

## CONTENT OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN BLACK CURRANT (*Ribes nigrum* L.) AT DIFFERENT RIPENING TIME

**Anka ZUPAN**

Academic year: 2011/2012

### Supervisor

prof. dr. Robert VEBERIČ

### Committee members

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

prof. dr. Metka HUDINA, University of Ljubljana, Biotechnical Faculty

doc. dr. Boris KRŠKA, Mendel University in Brno, Faculty of Horticulture

doc. dr. Carlo ANDREOTTI, Free University of Bozen Bolzano, Faculty of Science and Technology

---

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

Anka ZUPAN

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2-IMFS  
DK UDK 634.723:631.526.32:547.56(043.2)  
KG sadjarstvo/črni ribez/*Ribes nigrum*/sladkorji/organske kisline/fenoli/zrelost plodov  
AV ZUPAN, Anka  
SA VEBERIČ, Robert (mentor)  
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo  
LI 2012  
IN VSEBNOST PRIMARNIH IN SEKUNDARNIH METABOLITOV OB RAZLIČNI ZRELOSTI SORT ČRNEGA RIBEZA (*Ribes nigrum* L.)  
TD Magistrsko delo (Mednarodni študijski program Sadjarstvo - 2. stopnja)  
OP XI, 49 [6] str., 8 pregl., 15 sl., 5 pril., 39 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Črni ribez (*Ribes nigrum* L.) je dober vir antioksidantov, vendar zaradi specifične arome in kiselkastega okusa ni tako priljubljen za sveže uživanje. Na vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov v ribezu vpliva veliko dejavnikov, med njimi sta bolj pomembna sorta in čas obiranja. V poskusu smo v letu 2011 primerjali tri sorte črnega ribeza 'Ben more', 'Daniel's september' in 'Silvergieter', ki smo jih obrali v dveh različnih časovnih obdobjih. V plodovih vseh treh sort, zrelih in nezrelih, smo s pomočjo tekočinske kromatografije (HPLC) določili vsebnost sladkorjev, organskih kislin, antocianov, flavanolov, flavonolov in hidroksicimetnih kislin ter z uporabo Folin-Ciocalteu-ovega reagenta določili vsebnost skupnih fenolnih spojin. Rezultati primerjave sort kažejo velike razlike med sorto 'Ben More' in sortama 'Daniel's september' in 'Silvergieter' v vsebnosti sladkorjev, organskih kislin in skupnih fenolnih spojin. Ugotovili smo razlike v vsebnosti sladkorjev med zreli in nezreli plodovi pri sorti 'Ben More', ki so se med zorenjem močno povečali. Pri sorti 'Daniel's september' se je med dozorevanjem vsebnost organskih kislin zmanjšala, medtem ko se je pri sorti 'Silvergieter' povečala vsebnost skupnih fenolnih spojin. Na podlagi rezultatov sklepamo, da imata sorta in čas obiranja vpliv na vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov v črnem ribezu.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Du2-IMFS  
 DC UDC 634.723:631.526.32:547.56(043.2)  
 CX fruit growing/ black currant /*Ribes nigrum*/sugars/organic acids/phenolics/fruit ripening  
 AU ZUPAN, Anka  
 AA VEBERIČ, Robert (supervisor)  
 PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy  
 PY 2012  
 TY CONTENT OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN BLACK CURRANT (*Ribes nigrum* L.) AT DIFFERENT RIPENING TIME  
 DT M. Sc. Thesis (International Master of Fruit Science)  
 NO XI, 49 [6] p., 8 tab., 15 fig., 5 ann., 39 ref.  
 LA sl  
 Al sl/en  
 AB Black currant (*Ribes nigrum* L.) is a good source of antioxidants, but the specific aroma and sour taste is not that likeable for fresh consumption. The content of primary and secondary metabolites is influenced by many factors, two important are variety and harvest time. In the experiment in 2011, we compared three varieties of black currant 'Ben more', 'Daniel's September' and 'Silvergieter', which were picked in two different harvest times. For comparison of sugar, organic acid, anthocyanins, flavonols, flavanols and hydroxycinnamic acids content of ripe and unripe berries from the three varieties, the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used, and for total phenolic content determination the Folin-Ciocalteu reagent was used. The results showed the significant difference between cv. 'Ben More' and cvs. 'Daniel's September' and 'Silvergieter' in sugar, organic acid and total phenolic content. The comparison of ripe and unripe berries showed higher content of sugar in ripe berries of cv. 'Ben More'. In cv. 'Daniel's September' organic acid content decreased in ripe berries, while in cv. 'Silvergieter' total phenolic content increased during ripening. Based on the results we conclude that both cultivar and harvest time have influence on the content of primary and secondary metabolites in black currant.

## KAZALO VSEBINE

	Ključna dokumentacijska informacija	Str. II
	Key words documentation	III
	Kazalo vsebine	IV
	Kazalo preglednic	VIII
	Kazalo slik	IX
	Kazalo prilog	XI
	Seznam okrajšav	XII
<b>1</b>	<b>UVOD</b>	1
1.1	VZROK ZA RAZISKAVO	1
1.2	DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3	NAMEN RAZISKAVE	1
<b>2</b>	<b>PREGLED OBJAV</b>	2
2.1	ČRNI RIBEZ ( <i>Ribes nigrum</i> L.)	2
<b>2.1.1</b>	<b>Morfologija črnega ribeza</b>	2
<b>2.1.2</b>	<b>Ekološke zahteve črnega ribeza</b>	3
2.2	PRIMARNI METABOLITI	3
<b>2.2.1</b>	<b>Ogljikovi hidrati</b>	3
<b>2.2.2</b>	<b>Maščobe</b>	4
<b>2.2.3</b>	<b>Organske kisline</b>	4
<b>2.2.4</b>	<b>Aminokisline</b>	5
2.3	SEKUNDARNI METABOLITI	6
<b>2.3.1</b>	<b>Fenolne spojine</b>	6
2.3.1.1	Flavonoidni fenoli (flavonoidi)	7
2.3.1.2	Fenolne kisline	9
<b>2.3.2</b>	<b>Terpeni</b>	10
<b>2.3.3</b>	<b>Spojine, ki vsebujejo dušik</b>	10
<b>3</b>	<b>MATERIAL IN METODE DELA</b>	11
3.1	POSKUSNI NASAD	11
<b>3.1.1</b>	<b>Vremenske razmere v letu 2011</b>	11
3.2	RASTLINSKI MATERIAL	11
<b>3.2.1</b>	<b>Sorta `Ben More`</b>	11
<b>3.2.2</b>	<b>Sorta `Daniel's September`</b>	12
<b>3.2.3</b>	<b>Sorta `Silvergieter`</b>	12

3.3	METODE DELA	12
<b>3.3.1</b>	<b>Ekstrakcija sladkorjev in organskih kislin</b>	12
<b>3.3.2</b>	<b>Ekstrakcija fenolov</b>	13
<b>3.3.3</b>	<b>HPLC analiza</b>	13
3.3.3.1	HPLC analiza sladkorjev in organskih kislin	13
3.3.3.2	HPLC analiza fenolnih snovi	13
3.3.3.3	Analiza skupnih fenolov z uporabo Folin-Ciocalteu-ovega reagenta	14
<b>3.3.4</b>	<b>Statistična obdelava podatkov</b>	14
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b>	15
4.1	PRIMERJAVA ZRELIH PLODOV MED SORTAMI	15
<b>4.1.1</b>	<b>Sladkorji</b>	15
<b>4.1.2</b>	<b>Organske kisline</b>	15
<b>4.1.3</b>	<b>Razmerje sladkorji/kisline</b>	16
<b>4.1.4</b>	<b>Fenolne spojine</b>	16
4.2	PRIMERJAVA NEZRELIH IN ZRELIH PLODOV ZNOTRAJ SORTE	18
<b>4.2.1</b>	<b>Sladkorji</b>	18
4.2.1.1	Glukoza	18
4.2.1.2	Saharoza	19
4.2.1.3	Fruktoza	20
4.2.1.4	Skupni sladkorji	21
<b>4.2.2</b>	<b>Organske kisline</b>	22
4.2.2.1	Citronska kislina	22
4.2.2.2	Jabolčna kislina	23
4.2.2.3	Vinska kislina	24
4.2.2.4	Skupne kisline	25
<b>4.2.3</b>	<b>Razmerje med sladkorji in kisljinami</b>	26
<b>4.2.4</b>	<b>Fenolne spojine</b>	27
4.2.4.1	Skupni antociani	27
4.2.4.2	Flavonoli	28
4.2.4.3	Hidroksicimetne kisline	29
4.2.4.4	Flavanoli	30
<b>4.2.5</b>	<b>Skupni fenoli</b>	31
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA</b>	33
5.1	PRIMERJAVA ZRELIH PLODOV MED SORTAMI	33
<b>5.1.1</b>	<b>Sladkorji</b>	33

<b>5.1.2</b>	<b>Organske kisline</b>	33
<b>5.1.3</b>	<b>Razmerje med sladkorji in kislinami</b>	34
<b>5.1.4</b>	<b>Fenolne spojine</b>	34
5.2	PRIMERJAVA ZRELIH IN NEZRELIH PLODOV ZNOTRAJ SORTE	35
<b>5.2.1</b>	<b>Sladkorji</b>	35
<b>5.2.2</b>	<b>Organske kisline</b>	35
<b>5.2.3</b>	<b>Razmerje med sladkorji in kislinami</b>	36
<b>5.2.4</b>	<b>Fenolne spojine</b>	36
<b>6</b>	<b>SKLEPI</b>	<b>Napaka! Zaznamek ni definiran.</b>
<b>7</b>	<b>POVZETEK (SUMMARY)</b>	38
7.1	POVZETEK	38
7.2	SUMMARY	39
<b>8</b>	<b>VIRI</b>	47
	<b>ZAHVALA</b>	
	<b>PRILOGE</b>	



## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Povprečne vsebnosti in razpon suhe snovi, sladkorjev in organskih kislin na kilogram svežega soka ter pH soka črnega ribeza (Heiberg in Maage, 2003)	4
Preglednica 2: Kemična sestava črnega ribeza (na kilogram sveže mase) (Heiberg in Maage, 2003)	5
Preglednica 3: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram in Simčič, 1997)	7
Preglednica 4: Povprečne vsebnosti saharoze, glukoze, fruktoze in vsote sladkorjev (g/kg) ± standardna napaka v zrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v stolpcu označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti posameznih sladkorjev med sortami	15
Preglednica 5: Povprečne vsebnosti organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) ter skupnih kislin (g/kg) ± standardna napaka v zrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v stolpcu označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti posameznih organskih kislin med sortami	16
Preglednica 6: Razmerje sladkorjev in organskih kislin ± standardna napaka v zrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v stolpcu označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v razmerju sladkorjev in kislin	16
Preglednica 7: Povprečna vsebnost fenolnih spojin (skupni antociani, flavonoli, hidroksicimetne kisline, flavanoli in skupni fenoli) ± standardna napaka v zrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrstici označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti fenolnih spojin med sortami	17
Preglednica 8: Vpliv sorte, zrelosti in njihova interakcija na vsebnost posameznih sladkorjev, organskih kislin in fenolov.	32

## KAZALO SLIK

Slika 1:	Splošna struktura flavonoida (Patel, 2008)	8
Slika 2:	Povprečne vsebnosti glukoze (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti glukoze znotraj sorte	18
Slika 3:	Povprečna vsebnost saharoze (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti saharoze znotraj sorte	19
Slika 4:	Povprečna vsebnost fruktoze (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti fruktoze znotraj sorte	20
Slika 5:	Povprečna vsebnost skupnih sladkorjev (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September', in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti skupnih sladkorjev znotraj sorte	21
Slika 6:	Povprečna vsebnost citronske kisline (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti citronske kisline znotraj sorte	22
Slika 7:	Povprečna vsebnost jabolčne kisline (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti jabolčne kisline znotraj sorte	23
Slika 8:	Povprečna vsebnost vinske kisline (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti vinske kisline znotraj sorte	24

- Slika 9: Povprečna vsebnost skupnih kislin (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti skupnih kislin znotraj sorte 25
- Slika 10: Povprečno razmerje sladkorji/kislina v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v razmerju sladkorji/kislina znotraj sorte 26
- Slika 11: Povprečna vsebnost skupnih antocianov (mg/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti skupnih antocianov znotraj sorte 27
- Slika 12: Povprečna vsebnost flavonolov (mg/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti flavonolov znotraj sorte 28
- Slika 13: Povprečna vsebnost hidroksicimetnih kislin (mg/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti hidroksicimetne kisline znotraj sorte 29
- Slika 14: Povprečna vsebnost flavanolov (mg/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti flavanolov znotraj sorte 30
- Slika 15: Povprečna vsebnost skupnih fenolov (mg GAE/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti skupnih fenolov znotraj sorte 31

## KAZALO PRILOG

- Priloga A: Povprečna, minimalna in maksimalna temperatura (°C) ter padavine (mm) po mesecih za leto 2011 (Agrometeorološka mreža MKGP FURS, 2012)
- Priloga B1: Povprečna vsebnost sladkorjev (saharoza, glukoza in fruktoza) v g/kg v zrelih in nezrelih plodovih sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrsti označujejo statistično različne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti sladkorjev med zreli in nezreli plodovi
- Priloga B2: Povprečna vsebnost kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) v g/kg v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrsti označujejo statistično različne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti kislin med zreli in nezreli plodovi
- Priloga B3: Razmerje sladkorji/kislina v sortah 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrsti označujejo statistično različne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v razmerju sladkorji/kislina med zreli in nezreli plodovi
- Priloga B4: Povprečna vsebnost fenolnih spojin (skupni antociani, flavonoli, flavan-3-oli, hidroksicimetne kisline in aureudizin-glikozid ter skupni fenoli) v zrelih in nezrelih jagodah sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrsti označujejo statistično različne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti fenolnih spojin

## SEZNAM OKRAJŠAV

Okrajšava	Pomen
GAE	galna kislina
TPC	skupni fenoli
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
LSD	test mnogoterih primerjav

## 1 UVOD

### 1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

V današnjem času se vedno bolj zavedamo pomena snovi v sadju in njihovega vpliva na naše zdravje. Primeren čas obiranja posamezne sadne vrste je pomemben, ne le za optimalno skladiščenje in transport, temveč tudi za optimalno vsebnost spojin, ki so koristne za naše telo.

Črni ribez je znan po tem, da vsebuje mnogo človeku koristnih snovi, na primer fenolne snovi in vitamin C, vendar je zaradi značilne arome in kislega okusa, predvsem starejših sort, med ribezi manj priljubljen. Novejše sorte vsebujejo več sladkorjev, kar daje jagodam bolj prijeten okus za sveže uživanje. Jagode črnega ribeza se intenzivno obarvajo še preden dozori in s tem je močno uteženo ugotavljanje stopnje zrelosti le teh. Danes je še vedno najbolj zanesljiva metoda določanja zrelosti jagod določanje njihovih organoleptičnih lastnosti, kar zahteva dobro poznavanje črnega ribeza. S poskusom smo poskušali ugotoviti, kako se med zorenjem spreminjajo vsebnosti metabolitov tako med sortami, kot znotraj sorte.

### 1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Pri posamezni sorti obstajajo razlike v vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov med zreli in manj zreli plodovi. Vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov se razlikuje med sortami.

### 1.3 NAMEN RAZISKAVE

Namen raziskave je bil ugotoviti, ali obstajajo razlike v vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov med sortami črnega ribeza 'Ben More', 'Daniel's September' ter 'Silvergieter' in ali čas obiranja vpliva na vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 ČRNI RIBEZ (*Ribes nigrum* L.)

Črni ribez spada v družino kosmuljevčevk (Grossulariaceae). Je avtohtona vrsta alpskega in predalpskega sveta. Avtohtone vrste ribezov so razširjene v severni Evropi, Aziji, Severni Ameriki in gorskem svetu Južne Amerike. Gojiti so ga začeli pred 400 leti na Nizozemskem, kasneje se je gojenje razširilo v Veliko Britanijo in druge države Evrope (Koron, 2011). V letu 2010 je bila svetovna pridelava ribeza (črni, rdeči in beli ribez) 640.968 t na 119.259 ha, največja pridelovka je Rusija z 51 % vse svetovne pridelave (FAOSTAT, 2012).

#### 2.1.1 Morfologija črnega ribeza

Rastline črnega ribeza razmnožene iz semena imajo generativni koreninski sistem, glavno korenino s stranskimi koreninami, medtem ko imajo vegetativno razmnožene rastline močno razvite in razvejane adventivne korenine, ki so ponavadi plitvejšee od generativnih korenin, saj dosegajo le nekje 50 % globine generativnih korenin, ki segajo tudi do 1 m globoko (Harmat in sod., 1990).

Črni ribez ima obliko nizkega grma, ki v višino zraste od 1 do 2 m (Harmat in sod., 1990). Za ribez so značilni bazalni brsti na spodnjem delu poganjkov, iz katerih zrastejo novi poganjki, ki skupaj s poganjki iz korenike (talni poganjki) tvorijo grm. Oblike grma se močno razlikujejo in so odvisne od sorte črnega ribeza. So od izrazito povešave, delno pokončne, do z izrazito pokončnimi in tankimi rodnimi poganjki. Les in brsti črnega ribeza imajo izrazit vonj, s katerim v vseh letnih časih lahko razločimo črni ribez od rdečega in belega ribeza (Koron, 2011).

Cvetni brsti so terminalni brsti, tudi tisti, ki se razvijajo na straneh dolgih poganjkov, saj ti brsti izraščajo terminalno iz sekundarnih poganjkov, ki so pogosto prekratki, da bi jih videli. Iz cvetnih brstov se razvijejo cvetovi, ki rastejo v grozdih, od 8 do 30 cvetov v enem grozdu. Posamezen cvet je zvončast, obarvan zeleno, belo in rdeče (Harmat in sod., 1990). Črn ribez je samooploden do delno samooploden, zato je za večji in kakovostnejši pridelek priporočljivo posaditi več sort. Dobri opravevalci so čebele in čmrlji (Koron, 2011).

Plodovi ribeza, jagode, so združeni v grozd. Najbolj tipične lastnosti sort so število grozdov na brst, dolžina grozda in peclja ter debelina, barva in okus jagode. Plodovi dozorevajo v začetku julija. Med sortami so v zorenju velike razlike, tudi do 5 tednov med najbolj zgodnjimi in poznimi sortami. Posamezna sorta zori približno dva tedna (Koron, 2011). Plodovi v notranjosti grma in jagode na koncu grozda zorijo kasneje od jagod tik ob veji na obodu grma (Heiberg in Maage, 2003). Na en grm pridelamo od 2 do 4 kg pridelka, na hektar 10 do 15 t (Koron, 2011).

## 2.1.2 Ekološke zahteve črnega ribeza

Ribezi so zelo odporni na nizke temperature med mirovanjem, saj lahko prenesejo do - 40 °C. Težavne so visoke temperature v poletnem času, saj lahko temperature nad 30 °C povzročijo poškodbe na listih (Hummer in Dale, 2010).

Črni ribez v rastni dobi od aprila do septembra ne potrebuje veliko padavin, zadostuje mu 800 do 1200 mm, dobro se odziva na namakanje (Štampar in sod., 2009).

Črnemu ribezu ustrezajo severne, severozahodne in severovzhodne lege z dobrim pretokom zraka. Južne lege so manj primerne, še posebej v toplejših podnebjih, saj lahko poleti prihaja do ožigov na listih zaradi vročine. Ribez najboljše raste v globokih in zračnih, ilovnatih tleh, ki vsebujejo vsaj 1 % organske snovi. Ustrezna reakcija tal je med 5,5 in 7,0, a kljub temu ribezi niso občutljivi na kalcij v tleh. Potreba po hranilih v tleh ni velika, ustrezno je od 10 do 15 mg K<sub>2</sub>O in P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na 100 g tal (Harmat in sod., 1990).

## 2.2 PRIMARNI METABOLITI

Rastline sintetizirajo mnogo različnih organskih spojin. Te ponavadi delimo na primarne in sekundarne spojine, kar je velikokrat težko, saj so meje med skupinama večkrat nejasne. Primarni metabolizem predstavlja nastanek spojin, ki imajo esencialno vlogo v procesih fotosinteze, dihanja, rasti in razvoja, medtem ko spojine, ki so nastale kot produkt sekundarnega metabolizma nimajo primarne vloge v teh procesih, temveč imajo predvsem ekološko vlogo ter predstavljajo pomemben del obrambe rastlin pred stresom. Med primarne metabolite uvrščamo sladkorje, maščobe, organske kisline in aminokisline (Veberič, 2010).

### 2.2.1 Ogljikovi hidrati

V zrelem sadju glavni delež ogljikovih hidratov predstavljajo sladkorji. Pretežno so to heksoze (glukoza, fruktoza) ter disaharidi (saharoza iz ene molekule fruktoze in ene molekule glukoze). Pri jagodičju je razmerje med glukozo in fruktozo približno 1:1. Ribez vsebuje saharozo v manjših količinah, medtem ko je pri večini drugega sadja to glavni sladkor. Poleg sladkorjev v sadju najdemo tudi alkoholne sladkorje, katerih glavni predstavnik je sorbitol, ki ga v jagodičju ponavadi najdemo le v sledih ali sploh ne (Štampar in sod., 2009). V nezrelih plodovih najdemo tudi škrob, polisaharid, ki v rastlini predstavlja rezervno snov in se ob dozorevanju razgradi v enostavne sladkorje (Tester in sod., 2003).

Ogljikovi hidrati v ribezu predstavljajo glavni vir energije. Glavna sladkorja v črnem ribezu sta glukoza in fruktoza, saharoza je prisotna v manjših količinah, sorbitol je v ribezu ponavadi prisoten le v sledih (Heiberg in Maage, 2003).

V preglednici 1 so podane vsebnosti topnih snovi, sladkorjev, kislin in pH soka črnega ribeza.



Preglednica 1: Povprečne vsebnosti in razpon suhe snovi, sladkorjev in organskih kislin na kilogram svežega soka ter pH soka črnega ribeza (Heiberg in Maage, 2003)

Table 1: Characteristics of fruit juice of black currant, mean values and variation (per kilogram of fresh juice) of soluble solids, sugars, organic acids and pH (Heiberg and Maage, 2003)

Snov	Vsebnost na kg svežega soka	Razpon
Suha snov (g)	160	120 - 200
Glukoza (g)	35	30 - 45
Fruktoza (g)	38	34 - 46
Saharoza (g)	13	8 - 20
Skupni sladkorji (g)	86	74 - 105
Titracijske kisline (g)	39	22 - 56
Citronska kislina (g)	42	32 - 55
Jabolčna kislina (g)	6	3 - 10
pH	2,87	2,68 - 3,18

## 2.2.2 Maščobe

Rastline sintetizirajo veliko vrst maščob, kot so membranske maščobe, voski v kutikuli ter skladiščne maščobe v semenih (Lack in Evans, 2001). Maščobe tako delimo na rezervne, strukturne, presnovne in regulacijske, vendar med posameznimi skupinami ni ostre meje. Maščobe so sestavljene iz estrov maščobnih kislin, triacilglicerolov (trigliceridov), glicerola in tudi negliceridnih komponent, ki so prisotne v majhnih količinah (2 - 5 %), ki lahko vplivajo na fizikalne in kemijske lastnosti maščob (Rogelj, 2007).

Maščobne kisline so glavni del skoraj vseh skupin lipidov, med seboj se razlikujejo po številu ogljikovih atomov v verigi in po nasičenosti in nenasičenosti, kar je odvisno od števila dvojnih vezi. Najbolj pomembne za našo prehrano so dvakrat nenasičene maščobne kisline oziroma esencialne maščobne kisline, kot sta linolna in  $\alpha$ -linolenska kislina. Semena črnega ribeza vsebujejo dokaj velike količine esencialnih maščobnih kislin, linolne 43 % in 15 %  $\alpha$ -linolenska kislina (Rogelj, 2007). Heiberg in Maage (2003) poročata, da kilogram svežega črnega ribeza vsebuje 2 g maščob (preglednica 2).

## 2.2.3 Organske kisline

Organske kisline močno vplivajo na organoleptične lastnosti sadja, še posebej vplivajo na okus, barvo in aromo. Posredno kisline vplivajo tudi na metabolizem fenolov z regulacijo pH v celici in hkrati tudi predstavljajo prekurzorje fenolov (Flores in sod., 2012). Organske kisline se praviloma v sadju nahajajo v prosti obliki, le redko so vezane s kationi (kalij, natrij). Glavni organski kislini v sadju sta jabolčna in citronska. V manjši količini najdemo še kininsko, izocitronska, jantarno, fumarno, oksalno in šikimsko kislino (Štampar in sod., 2009). V ribezu prevladuje citronska kislina (povprečno 88 % skupnih kislin), 12 % skupnih kislin pa predstavlja jabolčna kislina (Heiberg in sod., 1992).

## 2.2.4 Aminokisliline

Aminokisliline so sestavni del beljakovin. Sadje vsebuje sorazmeroma malo beljakovin. V sadju od aminokislin prevladujejo arginin, asparagin, asparaginske kisline, glutamin in glutaminske kisline (Štampar in sod., 2009). Plodovi ribeza vsebujejo 13 g beljakovin na 1 kilogram sveže mase (preglednica 2) (Heiberg in Maage, 2003).

Preglednica 2: Kemična sestava črnega ribeza (na kilogram sveže mase) (Heiberg in Maage, 2003)

Table 2: Chemical composition (per kilogram of fresh fruit) of black currant (Heiberg and Maage, 2003)

Snov	Vsebnost na kg sveže mase
Energijska vrednost (kJ)	2600
Energijska vrednost (kcal)	621
Voda (g)	815
Ogljikovi hidrati (g)	128
Beljakovine (g)	13
Maščobe (g)	2
Vlakna (g)	43
Pektin (g)	85
Skupni sladkorji (g)	85
Natrij (mg)	17
Kalij (mg)	3100
Mangan (mg)	3
Magnezij (mg)	190
Kalcij (mg)	550
Železo (mg)	13
Fosfor (mg)	480
Baker (mg)	1
Cink (mg)	3
Pepel (mg)	7200
Askorbinska kislina (mg)	1600
Tiamin (mg)	0,5
Riboflavin (mg)	0,4
Piridoksin (mg)	1,2
Pantotenska kislina (mg)	4
Beta-karoten (mg)	1,2
Vitamin B6 (mg)	0,8
Folna kislina (mg)	0,2

## 2.3 SEKUNDARNI METABOLITI

Sekundarni metaboliti se ponavadi tvorijo v posebnih tkivih ali celicah in so večinoma bolj kompleksni od primarnih metabolitov. Sintetizirajo se iz intermediatov primarnega metabolizma ali iz primarnih metabolitov. Zelo dolgo je bila vloga sekundarnih metabolitov s strani raziskovalcev zanemarjena, a so mnoge raziskave pokazale, da imajo le-ti poglavitno vlogo v obrambi rastlin pred okužbami in napadi herbivorov, nudijo zaščito pred UV žarki, delujejo kot alelopatske snovi in imajo pomembno vlogo pri privabljanju oprasovalcev cvetov in raznašalcev semen. Še posebej velik pomen imajo za človeka, saj jih uporabljamo kot barvila, pri izdelavi vlaken, lepil, olj, voskov, ojačevalcih okusa, zdravil in parfumov. Veliko število sekundarnih metabolitov nudi tudi veliko perspektivo v izdelovanju naravnih zdravil, herbicidov in insekticidov (Veberič, 2010). Mnoge raziskave so pokazale, da uživanje sadja in zelenjave, zavira staranje in zmanjša možnost za obolenje z boleznimi modernega življenja, kot so rak, bolezni srca in ožilja ter vplivajo na zmanjšanje drugih zdravstvenih težav. Za to naj bi bila odgovorna vitamin C in E, ki imata antioksidativne lastnosti in druge snovi v rastlinah. Jagodičje je še posebej dober vir antioksidantov, med katerimi so bolj pomembne borovnica (*Vaccinium myrtillus*), črni ribez (*Ribes nigrum*), robida (*Rubus fruticosus*), ameriška borovnica (*Vaccinium corymbosum*), aronija (*Aronia melanocarpa*), malina (*Rubus idaeus*), jagoda (*Fragaria x ananassa*) in mahovnica (*Vaccinium macrocarpon*). Večji del antioksidantov predstavlja vitamina C in polifenoli (Szajdek in Borowska, 2008).

Glede na biosintetsko pot sekundarne metabolite delimo v tri večje skupine: fenolne spojine, terpeni in spojine, ki vsebujejo dušik (Veberič, 2010).

### 2.3.1 Fenolne spojine

Fenolne spojine so strukturno in funkcionalno zelo raznolike in predstavljajo eno glavnih skupin spojin sekundarnih metabolitov. Fenolne spojine vsebujejo aromatski obroč, na katerega je pripeta hidroksilna funkcionalna skupina (Szajdek in Borowska, 2008). V skupino fenolnih spojin uvrščamo okoli 10.000 naravnih spojin (Taiz in Zeiger, 2006). Fenole lahko razdelimo glede na osnovno kemijsko strukturo v dve skupini: flavonoidni fenoli in neflavonoidni fenoli (fenolne kisline). Obsežna skupina fenolov se deli na polifenole in enostavne fenole glede na število fenolnih podenot v molekuli. Polifenoli vsebujejo najmanj dve podenoti (Lapornik, 2005). Najbolj pregledna razdelitev fenolov je razdelitev po številu C-atomov, ki je prikazana v preglednici 3 (Abram in Simčič, 1997).

Fenolne spojine so v velikih koncentracijah prisotne v epidermu listov in v kožici plodov. Ne predstavljajo samo odziva rastlin na stres, na primer spremenjena jakost sončnega sevanja, ampak so tudi ključni mediatorji odpornosti rastlin na bolezni in škodljivce (Veberič, 2010).

Preglednica 3: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram in Simčič, 1997)  
Table 3: Classification of phenolic compounds (Abram and Simčič, 1997)

Število C-atomov	Osnovni skelet	Skupina
6	C <sub>6</sub>	enostavni fenoli
7	C <sub>6</sub> C <sub>1</sub>	hidroksibenzojske kisline
8	C <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	feniloctne kisline
9	C <sub>6</sub> C <sub>3</sub>	hidroksicimetne kisline, fenilpropeni, kumarini, izokumarini, kromoni
10	C <sub>6</sub> C <sub>4</sub>	naftokinoni
13	C <sub>6</sub> C <sub>1</sub> C <sub>6</sub>	ksantoni
14	C <sub>6</sub> C <sub>2</sub> C <sub>6</sub>	stilbeni, antrakinoni
15	C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub>	flavonoidi
18	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	lignani, neolignani
30	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	biflavonoidi
n	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub> (C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub> (C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	lignini, melanini, kondenzirani tanini (flavolani)

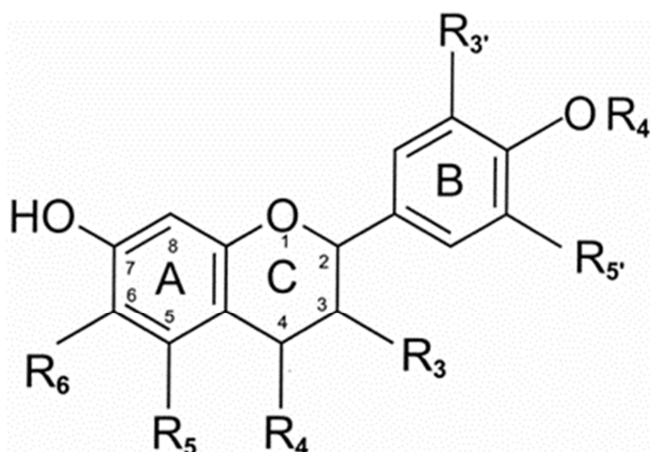
### 2.3.1.1 Flavonoidni fenoli (flavonoidi)

Flavonoidi so skupina nizkomolekularnih polifenolnih substanc. Flavonoidno jedro predstavlja osnovo flavonoidov. Jedro je sestavljeno iz dveh fenolnih obročev (A in B) in piroenskega obroča (C) (slika 1). Benzenski obroč A je kondenziran s pironskimi obročem C, ki na mestu 2 nosi fenilni benzenski obroč B. Velika kemijska raznolikost flavonoidov obstaja zaradi razlik v strukturi, različnih stopenj hidroksilacije, zamenjav in združevanja ter različnih stopenj polimerizacije (Lapornik, 2005).

Flavonoide delimo na več podrazredov (Veberič, 2010):

- Antocianidini
- Flavanoli
- Flavanoni
- Flavoni
- Flavonoli
- Izoflavoni

Ostale skupine flavonoidov, ki se pojavljajo v manjših količinah so dihidroflavonoli, flavan-3,4-dioli, kumarini, kalkoni, dihidrokalkoni, auronini (Veberič, 2010).



Slika 1: Splošna struktura flavonoida (Patel, 2008)

Figure 1: General structure of flavonoid (Patel, 2008)

### • Antocianidini

Antocianidini (aglikoni) predstavljajo osnovno zgradbo antocianov. Antocianidini vezani s sladkorjem predstavljajo antociane. V naravi najdemo veliko različnih antocianov, glavna razlika med njimi je število hidroksilnih skupin, vrsta in in število sladkorjev, ki so vezani nanje ter število karboksilatov vezanih na sladkor in njihovo mesto vezave. Do sedaj so odkrili že več kot 500 različnih antocianov in 23 antocianidinov (Castañeda-Ovando in sod., 2009), med temi se v rastlinah najbolj pogosto pojavljajo pelargonidin, cianidin, peonidin, delfinidin, petunidin in malvidin (Tanaka in sod., 2009).

V črnem ribezu so Rubinskiene in sod. (2005) v desetih sortah črnega ribeza identificirali naslednja barvila: cianidin-3-rutinozid (33-38 %), delfinidin-3-rutinozid (27-34 %), cianidin-3-glukozid (8-10 %) in delfinidin-3-glukozid (8-10 %).

### • Flavanoli

Flavanoli imajo različno stopnjo hidroksilacije na 5' in 7' mestu A obroča in 3', 4' ter 5' mestu na B obroču. Na C obroču je na 3' mestu ponavadi hidroksilna skupina ali galna kislina vezana z estersko vezjo (Valls in sod. 2009). V skupini flavanolov najdemo tako monomere, na primer katehin in njegovo izomero epikatehin, kot tudi oligomere in polimere proantocianidine, ki so znani tudi kot kondenzirani tanini (Veberič, 2010). Proantocianidine pogosto najdemo v sadju, na primer v borovnicah, grozdju, jabolkih, kivijih in hruškah (Valls in sod., 2009). Še posebej bogate s fenolnimi spojinami in s tem tudi s flavanoli so aronija, gozdna borovnica in črni ribez (Szajdek in Borowska, 2008). Proantocianidini so močni antioksidanti in imajo protivnetno delovanje (Valls in sod., 2009).

### • Flavanoni

Značilnosti flavanonov so, da nimajo 2,3 dvojne vezi, imajo keto (oksi) skupino na C4 atomu in prisotnost kiralnega centra na C2 atomu. Glavnina v naravi prisotnih flavanonov ima C-obroč priključen na B-obroč na C2 v  $\alpha$ -konfiguraciji. Flavanoni se najpogosteje

pojavljajo v citrusih. Najbolj znan med flavanoni je hesperetin-7-O-neohesperidozid (hesperidin), ki ga najdemo v kožici citrusov (Veberič, 2010). Flavononi so lahko grenkega ali nevtralnega okusa, ki se z odprtjem obroča lahko pretvorijo v sladke kalkone, ki se po dodatni hidrogenaciji stabilizirajo kot sladki dihidrokalkoni (Lapornik, 2005).

- **Flavoni**

Flavoni imajo zelo podobno strukturno zgradbo kot flavonoli. Pojavlja se velika variacija substitucij, in sicer hidroksilacija, metilacija in glikozilacija. Večina flavonov se pojavlja kot 7-O-glikozidi. Flavoni niso splošno razširjeni v sadju, večinoma se pojavljajo le v *Citrus* vrstah (Veberič, 2010).

- **Flavonoli**

Flavonoli so najbolj razširjen podrazred flavonoidov, saj jih najdemo v skoraj vseh sadnih vrstah (Veberič, 2010). Med flavonole uvrščamo kamferol, kvercetin, miricetin in izoramnetin, ki jih najpogosteje najdemo kot 3-glikozide in redkeje kot 7-glikozide (Lapornik, 2005).

V črnem ribezu so kvercetin, miricetin in kamferol obilno zastopani (Lapornik, 2005). Bakowska-Barczak in Kolodziejczyk (2011) sta ugotovila, da je v črnem ribezu prisotnih šest različnih konjugacij miricetina, kvercetina in kamferola. Prevladovali so derivati miricetina (1,9 – 11,2 mg/100 g), ki so jim sledili derivati kvercetina (1,3 – 4,7 mg/100 g) in derivati kamferola (0,7 – 1,9 mg/100 g), bilo je nekaj razlik med sortami. Milivojević in sod. (2012) so prav tako ugotovili prisotnost glikozidov sestavljenih iz aglikonov kvercetina, miricetina in kamferola v plodovih črnega ribeza. Ti flavonoli močno pripomorejo k antioksidativnemu delovanju črnega ribeza.

- **Izoflavoni**

Izoflavoni imajo B-obroč vezan na C3 namesto na C2 mestu. Najdemo jih skoraj izključno v stročnicah. Nekateri izoflavoni, na primer genistein in daidzein izražajo estrogensko aktivnost, kar lahko pri pašni živini povzroča resne težave pri reprodukciji (Veberič, 2010).

### 2.3.1.2 Fenolne kisline

Fenolne kisline (neflavonoidne fenole) predstavljajo derivati hidroksicimetne in hidroksibenzojske kisline ter stilbeni (Lapornik, 2005). V jagodičju od fenolnih kislin najdemo derivate cimetne in benzojske kisline. Večinoma so vezane kot estri ali glikozidi. Izmed derivatov benzojske kisline so v jagodičju p-hidroksibenzojska kislina, salicilna kislina, galna kislina in elagna kislina. Pri derivatih cimetne kisline so v jagodičju p-kumarna kislina, kavna kislina in ferulna kislina. Iz skupine hidroksicimetnih kislin so v jagodičju največje količine derivati kavne kisline – klorogenske kisline. Klorogenske kisline se odgovorne za kiselkast okus pri sadju in ob prisotnosti encima polifenol oksidaza

hitro oksidirajo in se nato pretvorijo v rjavo obarvane snovi. V črnem ribezu naj bi bila največja vsebnost p-kumarne kisline in kavne kisline (Szajdek in Borowska, 2008).

Skupina stilbenov vključuje resveratrol, ki so ga prvič našli v grozdju. Majhne količine trans-resveratrola so našli v gozdni borovnici, rdečem ribezu, brusnici, mahovnici in jagodi (Szajdek in Borowska, 2008).

### 2.3.2 Terpeni

Terpeni so najbolj številčni in strukturno raznoliki rastlinski produkti. Biosinteza terpenov izhaja iz aktiviranega izoprena, zato jih uvrščamo med izoprenoide. Glede na število izoprenskih enot in s tem C-atomov so terpeni razdeljeni v: monoterpene (C-10, iz dveh izoprenskih enot), seskviterpene (C-15, iz treh izoprenskih enot), diterpene (C-20, iz štirih izoprenskih enot), triterpene (C-30, iz 6 izoprenskih enot) in tetraterpene (C-40, iz 8 izoprenskih enot) (Baričevič, 1996).

Monoterpene (C-10) in seskviterpene (C-15) najdemo predvsem v eteričnih oljih. Monoterpeni so sestavni del vonja cvetov in plodov, seskviterpeni v rastlinah delujejo kot feromoni in juvenilni hormoni. Diterpeni (C-20) se tvorijo tako v rastlinah kot glivah, najdemo jih v smoli, gumijastih izločkih in ostankih po destilaciji eteričnih olj (Veberič, 2010). Diterpeni ščitijo rastline pred napadi insektov in gliv. Pomemben diterpen je rastlinski hormon giberelin, ki nadzira rast in razvoj rastlin (Hanson, 2003). Triterpeni (C-30) so velika skupina spojin, med katere sodijo tudi steroidi in steroli. Tetraterpeni (C-40) so ponavadi rdeče do oranžno obarvani in predstavljajo pigment v bakterijah, algah in višjih rastlinah. Tetraterpeni ali karotenoidi v rastlinah opravljajo tri glavne funkcije: dodatna absorpcija svetlobe pri fotosintezi, zaščita fotosintetskega aparata pred (pre)močno svetlobo in privabljanje opraševalcev in raznašalcev semen. Rastlinski karotenoidi so prekurzorji za vitamina A, zlasti  $\beta$ -karoten (Veberič, 2010).

Jagodičje vsebuje majhne količine karotenoidov. Med jagodičjem je najbolj bogata z karotenoidi aronija, ki vsebuje likopen,  $\beta$ -karoten,  $\zeta$ -karoten,  $\beta$ -kriptoksantin, lutein, 5,6-epoksilutein, trans-violaksantin, cis-violaksantin in neoksantin (Szajdek in Borowska, 2008). Črni ribez vsebuje 1,2 mg  $\beta$ -karotena na kilogram sveže mase (Heiberg in Maage, 2003).

### 2.3.3 Spojine, ki vsebujejo dušik

Sadje vsebuje le 0,1-1,5 % spojin, ki vsebujejo dušik, od tega je 35-75 % beljakovin, ki spadajo med primarne metabolite. Do sedaj so opisali že več kot 13 000 sekundarnih metabolitov, ki vsebujejo dušik. Glavne spojine v tej kategoriji so alkaloidi, amini, amino kisline, ki ne tvorijo beljakovin, cianogeni glikozidi in glukozinolati (Veberič, 2010). V plodovih črnega ribeza spojine, ki vsebujejo dušik predstavljajo zelo majhen delež in v dosedanjih raziskavah niso imele večje vloge.

### 3 MATERIAL IN METODE DE LA

#### 3.1 POSKUSNI NASAD

Poskus je potekal v letu 2011. Rastlinski material smo dobili v Poskusnem sadovnjaku Kmetijskega inštituta Slovenije Brdo pri Lukovici. Sadovnjak obsega 16,7 ha, od tega 14,93 ha jablanovih nasadov. Ostala zemljišča so namenjena drugim sadnim vrstam, med drugim tudi jagodičju. Kolekcijski nasad črnega ribeza obsega preko 50 različnih sort črnega ribeza (Kmetijski inštitut Slovenije, 2012).

##### 3.1.1 Vremenske razmere v letu 2011

V letu 2011 je bilo 936,4 mm padavin, največ v oktobru, juliju in juniju. Na zorenje ribeza imajo največji vpliv padavine v mesecu juniju (131,6 mm) in juliju (142,4 mm). Povprečna temperatura v juniju je bila 18,8 °C, v juliju 19,5 °C. Temperature so bile za pridelavo ribeza primerne, medtem ko je bilo padavin v juniju in juliju nekoliko preveč, saj ribezu najbolj ustreza med 15 in 25 mm padavin na teden. Podatki mesečnih temperatur in padavin so navedeni v prilogi A (Agrometeorološka mreža MKGP FURS, 2012).

#### 3.2 RASTLINSKI MATERIAL

V poskusu smo uporabili sorte črnega ribeza 'Ben More', 'Daniel's September' ter 'Silvergieter' iz kolekcijskega nasada Kmetijskega inštituta Slovenije. Rastline so bile posajene leta 2002, na razdalji 3 x 1,5 m. Gojitvena oblika je grm. Posamezne sorte smo obirali dvakrat, v dveh različnih zrelostih. V prvem terminu obiranja so bile jagode označene kot nezrele, v drugem terminu kot zrele. Sorto 'Ben More' smo obirali 29. junija (nezrel) in 11. julija (zrel), 'Daniel's September' 29. junija (nezrel) in 1. julija (zrel), 'Silvergieter' 29. junija (nezrel) in 1. julija (zrel). Sorto 'Ben More' smo obirali v drugem terminu (11. julij) zaradi tega, ker so organoleptične lastnosti plodov pokazale, da prvi termin (1. julij) ni primeren za obiranje te sorte.

##### 3.2.1 Sorta 'Ben More'

Sorta 'Ben More' je šibka do srednje bujna, pokončno rastoča sorta. Poganjki se pod težo pridelka povešajo, kar je potrebno upoštevati pri razdalji sajenja. Sorta je primerna tudi za strojno obiranje. Sorta 'Ben More' cveti zelo pozno, zori v sredini julija. Grozdi so kratki in imajo velike svetleče črne jagode. Jagode so primerne za predelavo v sok. Odporen je na ribezovo pepelovko, a občutljiv na pegavost, brstno pršico in virus reverzije. Zaradi poznega cvetenja je odporen na spomladanske pozebe (Štampar in sod., 2009).



### 3.2.2 Sorta `Daniel's september`

Sorta `Daniel's September` ima močno, delno povešavo rast. Grm je gost in ima številne poganjke. Zori sredi julija. Grozd je srednje dolg s srednje velikimi bleščeče črnimi in čvrstimi, sladko kislimi jagodami. Pridelek je velik. Sorta je občutljiva na kosmuljevo plesen in ribezovov hržico (Štampar in sod., 2009).

### 3.2.3 Sorta `Silvergieter`

Sorta `Silvergieter` ima pokončno in močno rast. Ima dolg grozd z velikimi do zelo velikimi jagodami, ki so svetlo črne in mehke, sladko kislega okusa. Zori zgodaj, pridelek je srednje velik. Sorta je delno odporna proti spomladanski pozebi in kosmuljevi plesni. Delno je občutljiva za listno pegavost, navadno pršico in ribezovo hržico (Koron, 2011).

## 3.3 METODE DELA

Analize vsebnosti sladkorjev, organskih kislin in fenolnih snovi so bile narejene na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Pri vsaki sorti in za vsako zrelost (zrel in nezrel) smo imeli 4 ponovitve.

Med sladkorji smo določili glukozo, fruktozo in sharozo ter skupne sladkorje; med organskimi kislinami smo določili citronsko, jabolčno in vinsko kislino ter skupne kisline; na podlagi skupnih sladkorjev in kislin, smo določili razmerje sladkorji/kisline; med fenolnimi snovmi smo določili skupne antociane (delfinidin-3-glukozid, delfinidin-3-rutinozid, cianidin-3-glukozid, cianidin-3-rutinozid, petuinidin-3-rutinozid, delfinidin-3-ksilozid, peonidin-3-rutinozid, delfinidin-3-(6-kumarol)-glikozid, cianidin-3-(6-kumarol)-glikozid), flavonole (miricetin-3-rutinozid, miricetin galaktozid, miricetin glukozid, miricetin malonilglukozid, Q-3-rutinozid, Q-3-galaktozid, Q-3-glukozid, kamferol-3-rutinozid, Q-malonilglukozid, kamferol-3-galaktozid), hidroksicimetne kisline (neoklorogenska kislina 353, p-kumarilheksoza, kafeolheksoza), flavanole (epikatehin) ter skupne fenole (TPC).

### 3.3.1 Ekstrakcija sladkorjev in organskih kislin

Za ekstrakcijo sladkorjev in organskih kislin smo zatehtali 5 g jagod črnega ribeza, jih prelili z 25 ml bidestilirane vode in homogenizirali z Ultra-Turraxom T-25 (Ika-Labortechnik, Nemčija). Vzorce smo ob mešanju ekstrahirali pri sobni temperaturi 30 minut. Nato smo vzorce centrifugirali 7 minut pri 10000 obratih/min (Eppendorf Centrifuge 5810, Hamburg, Nemčija). Supernatant smo prefiltrirali skozi 0,45 µm celulozni filter. Nadaljne analize smo naredili s pomočjo HPLC sistema Thermo Finnigan Surveyor s kvartetno črpalko.

### 3.3.2 Ekstrakcija fenolov

Za ekstrakcijo fenolov smo zatehtali 5 g jagod črnega ribeza in jih prelili z 10 ml metanola s 3 % mravljične kisline. Vzorec smo homogenizirali z Ultra-Turraxom T-25 (Ika-Labortechnik, Nemčija). Homogenizirane vzorce smo dali v ohlajeno (0 °C) ultrazvočno kopel za 1 uro. Nato smo jih centrifugirali 7 minut pri 10000 obratih/min (Eppendorf Centrifuge 5810, Hamburg, Nemčija). Supernatant smo prefiltrirali skozi 0,45 µm poliamidni filter. Nadaljne analize smo naredili s pomočjo HPLC sistema Thermo Finnigan Surveyor s kvartetno črpalko.

### 3.3.3 HPLC analiza

High performance liquid chromatograph (HPLC) – tekočinska kromatografija visoke ločljivosti se uporablja za ločevanje posameznih komponent vzorca, ki jih nato zaznajo ustrezni detektorji (Žorž, 1991). Vzorce smo analizirali na sistemu visokoločljivostne tekočinske kromatografije proizvajalca Thermo Finnigan.

#### 3.3.3.1 HPLC analiza sladkorjev in organskih kislin

Za analizo sladkorjev smo uporabili 20 µl vzorca. Za ločitev vzorcev smo uporabili kolono Rezex RCM-monosaccharide (300 mm x 7,8 mm) in IR detektor. Mobilna faza je bila bidestilirana voda, pretok je bil 0,6 ml/min. Vzorec smo analizirali 30 minut pri temperaturi 65 °C.

Za analizo organskih kislin smo uporabili 20 µl vzorca. Uporabili smo kolono RezexROA-organic acid (300 mm x 7,8 mm), UV detektor je bil nastavljen na 210 nm, kolona pa ogrevana na 65 °C. Mobilna faza je bila 4 mM žveplena kislina v bidestilirani vodi s pretokom 0,6 ml/min. Analiza je potekala 30 minut.

Koncentracijo posameznih sladkorjev (glukoza, fruktoza in saharoza) in organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) smo določili po metodi eksterne standarda in preračunali glede na umeritveno krivuljo, ki je bila narejena na podlagi standardnih raztopin.

#### 3.3.3.2 HPLC analiza fenolnih snovi

Fenolne snovi so bile analizirane s HPLC sistemom Thermo Finnigan Surveyor s kvartno črpalko (San Jose, USA). Volumen injiciranega vzorca je bil 20 µl, hitrost pretoka 1 mL/min. Detekcija je potekala pri valovni dolžini 280 in 350 nm. Kolona, ki smo jo uporabili je bila Phenomenex Gemini C18 (150 mm x 4,5 mm, 3 µm), pri temperaturi 25 °C. Mobilni fazi sta bili bidestilirana voda z dodatkom 1 % mravljične raztopine in 5 % acetonitrila in 100 % acetonitril.

Identifikacija posameznih spojin je potekala s primerjavo retenzijskih časov in spektrov. Vse fenolne snovi so bile potrjene tudi z uporabo masnega spektrometra (Thermo Scientific, LCQ Deca XP MAX) z 'electrospray' ionizatorjem. Koncentracije fenolnih

spojin so bile izračunane glede na vrhove kromatografa za vzorce in ustrezne standarde. Koncentracije so izražene mg na kg sveže mase.

### 3.3.3.3 Analiza skupnih fenolov z uporabo Folin-Ciocalteu-ovega reagenta

Vsebnost skupnih fenolov je bila ocenjena z uporabo Folin-Ciocalteu-ovega reagenta. V 100  $\mu$ l vzorca smo dodali 6 ml bidestilirane vode in 500  $\mu$ l Folin-Ciocalteu-ovega 20 % natrijevega karbonata in 1,9 ml bidestilirane vode. Vzorce smo zmešali in jih pustili stati 30 minut na 40 °C, nato smo izmerili absorbanco vzorcev s pomočjo spektrofotometra (Perkin-Elmer, UV/visible Lambda Bio 20) pri valovni dolžini 765 nm. Mešanica reagentov in bidestilirane vode je bila uporabljena kot slepi vzorec. Vsebnost skupnih fenolov je izražena v mg galne kisline na kg sveže mase. Absorbancija je bila izmerjena v treh ponovitvah.

### 3.3.4 Statistična obdelava podatkov

Pridobljene podatke kemičnih analiz smo statistično obdelali s pomočjo statističnega programa Statgraphic Plus for Windows 4.0 in programa MS Excell 2007. Statistično značilne razlike smo ugotavljali po metodi analize variance (ANOVA). Če obstajajo razlike med obravnavanji smo preizkusili z LSD testom (test mnogoterih primerjav), pri tveganju  $p \leq 0,05$ . Statistično značilne razlike so označene s črkami. Tam, kjer so rezultati statistično značilno enaki, so črke enake, kjer se statistično značilno razlikujejo, so črke različne.

## 4 REZULTATI

### 4.1 PRIMERJAVA ZRELIH PLODOV MED SORTAMI

S primerjavo sort smo poskušali ugotoviti, ali se sorte med seboj razlikujejo v vsebnosti primarnih in sekundarnih metabolitov. Primerjali smo vsebnost sladkorjev (saharoza, glukoza in fruktoza), organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) in fenolnih spojin (skupni antociani, flavonoli, hidroksicimetne kisline, flavanoli in skupne fenole).

#### 4.1.1 Sladkorji

V preglednici 4 je prikazana vsebnost sladkorjev (saharoze, glukoze, fruktoze in skupnih sladkorjev) v sortah 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'.

Preglednica 4: Povprečne vsebnosti saharoze, glukoze, fruktoze in vsote sladkorjev (g/kg) ± standardna napaka v zrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v stolpcu označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti posameznih sladkorjev med sortami  
Table 4: Average content of sucrose, glucose, fructose and total sugars (g/kg) ± standard error in ripe black currant berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters in column indicate statistical significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the content of individual sugars between cultivars

Sorta	Saharoza (g/kg)	Glukoza (g/kg)	Fruktoza (g/kg)	Skupni sladkorji (g/kg)
'Ben More'	15,8 ± 0,7 a	39,2 ± 1,5 a	54,6 ± 2,4 a	109,6 ± 4,4 a
'Daniel's September'	10,6 ± 0,7 b	28,9 ± 1,2 b	38,7 ± 1,6 b	78,2 ± 3,0 b
'Silvergieter'	6,5 ± 1,0 b	23,7 ± 1,1 c	31,5 ± 1,3 c	61,8 ± 4,1 c

Sorte se med seboj statistično značilno razlikujejo v vsebnosti vseh sladkorjev, razen v vsebnost saharoze se sorti 'Daniels September' in 'Silvergieter' statistično značilno ne razlikujeta. Največje vsebnosti vseh posameznih sladkorjev in s tem skupnih sladkorjev (109,6 g/kg) ima sorta 'Ben More', najmanjše pa sorta 'Silvergieter' (61,8 g/kg).

#### 4.1.2 Organske kisline

V črnem ribezu smo analizirali citronsko, vinsko in jabolčno kislino. Rezultati meritev posameznih organskih kislin in skupnih kislin so podani v preglednici 5. Sorti 'Daniel's September' in 'Silvergieter' sta v vsebnosti skupnih kislin precej izenačeni (28,2 g/kg in 29,7 g/kg), statistično značilno se razlikujeta v vsebnosti jabolčne in citronske kisline. Sorta 'Ben More' se v vsebnosti kislin statistično značilno razlikuje od preostalih dveh, razen v vsebnosti citronske kisline, kjer se statistično značilno ne razlikuje od nobene sorte.

Preglednica 5: Povprečne vsebnosti organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) ter skupnih kislin (g/kg) ± standardna napaka v zrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v stolpcu označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti posameznih organskih kislin med sortami

Table 5: Average organic acid (citric, malic, tartaric acid and total acids) (g/kg) ± standard error in ripe black currant berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters in column indicate statistical significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the content of individual organic acids between cultivars

Sorta	Citronska kislina (g/kg)	Vinska kislina (g/kg)	Jabolčna kislina (g/kg)	Skupne kisline (g/kg)
'Ben More'	16,3 ± 0,0 ab	1,4 ± 0,0 a	15,0 ± 0,2 a	33,1 ± 0,4 a
'Daniel's September'	16,9 ± 0,2 a	1,3 ± 0,0 b	10,0 ± 0,1 c	28,2 ± 0,3 b
'Silvergieter'	15,5 ± 0,4 b	1,3 ± 0,0 b	11,9 ± 0,7 b	29,7 ± 0,7 b

#### 4.1.3 Razmerje sladkorji/kislina

Razmerje sladkorjev in kislin nam pove, kako sladkega oziroma kislega okusa je sadje. Razmerje sladkorjev in kislin je prikazano v preglednici 6, kjer lahko vidimo, da se statistično značilno razlikuje razmerje sladkorjev in kislin sorte 'Silvergieter' (1,9) od sort 'Ben More' (3,3) in 'Daniel's September' (2,9), ki se med seboj statistično značilno ne razlikujeta.

Preglednica 6: Razmerje sladkorjev in organskih kislin ± standardna napaka v zrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v stolpcu označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v razmerju sladkorjev in kislin

Table 6: Sugar acid ratio ± standard error in ripe black currant berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters in column indicate statistical significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the sugar acid ratio between cultivars

Sorta	Razmerje sladkorji/kislina
'Ben More'	3,3 ± 0,2 a
'Daniel's September'	2,9 ± 0,1 a
'Silvergieter'	1,9 ± 0,2 b

#### 4.1.4 Fenolne spojine

Vsebnost fenolnih spojin po sortah je prikazna v preglednici 7. Sorta 'Ben More' se statistično značilno razlikuje od preostalih dveh sort v vsebnosti fenolnih spojin, razen v vsebnosti flavonolov, kjer ni statistično značilnih razlik med sortami. Sorti 'Daniel's September' in 'Silvergieter' se med seboj ne razlikujeta. Največjo vsebnost skupnih fenolov ima sorta 'Daniel's September' (4258,4 mg GAE/kg), ki se statistično značilno ne razlikuje od sorte 'Silvergieter', medtem ko ima sorta 'Ben More' bistveno manjšo vsebnost skupnih fenolov (2018,4 mg GAE/kg).

Preglednica 7: Povprečna vsebnost fenolnih spojin (skupni antociani, flavanoli, hidroksicimetne kisline, flavanoli in skupni fenoli)  $\pm$  standardna napaka v zrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrstici označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti fenolnih spojin med sortami

Table 7: Average phenolic compounds content (total anthocyanins, flavanols, hydroxycinnamic acids, flavanols, and total phenols)  $\pm$  standard error in the ripe berries of black currant cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters within a row indicate statistically significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the content of phenolic compounds between cultivars

	'Ben More'	'Daniel's September'	'Silvergieter'
Skupni antociani (mg/kg)	1950,2 $\pm$ 117,3 b	3250,9 $\pm$ 118,6 a	2826,0 $\pm$ 215,3 a
Flavanoli (mg/kg vzorca)	146,6 $\pm$ 7,4 a	164,5 $\pm$ 11,8 a	168,2 $\pm$ 6,5 a
Hidroksicimetne kisline (mg/kg)	44,2 $\pm$ 3,1 b	65,3 $\pm$ 3,2 a	76,1 $\pm$ 4,0 a
Flavanoli (mg/kg)	25,6 $\pm$ 0,7 b	46,8 $\pm$ 3,7 a	49,2 $\pm$ 1,7 a
Skupni fenoli (TPC) (mg GAE/kg)	2018,4 $\pm$ 165,8 b	4258,4 $\pm$ 215,7 a	4018,6 $\pm$ 254,1 a

## 4.2 PRIMERJAVA NEZRELIH IN ZRELIH PLODOV ZNOTRAJ SORTE

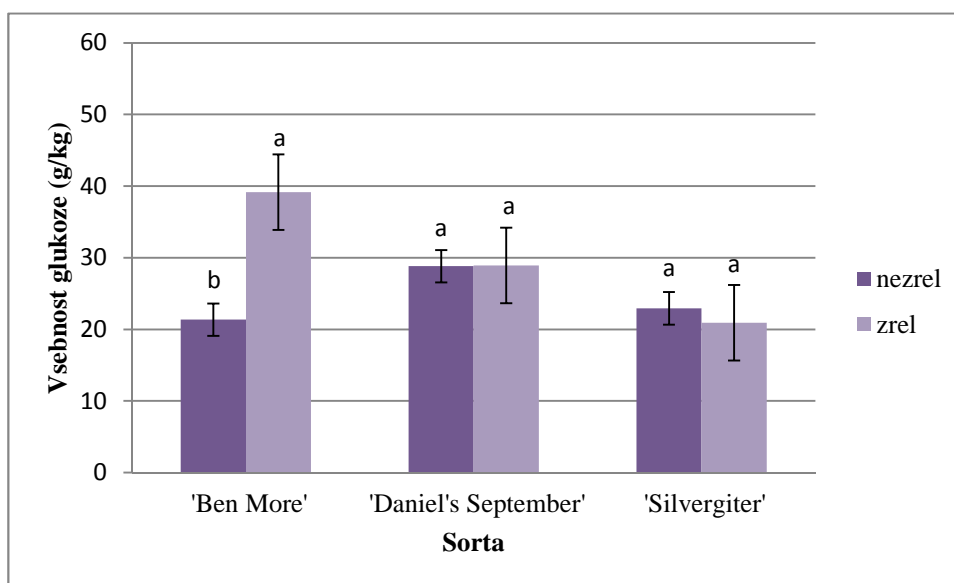
Znotraj sorte smo primerjali vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov pri zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza. Primerjali smo vsebnost sladkorjev (saharoza, glukoza in fruktoza), organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) in fenolnih spojin (skupni antociani, flavonoli, hidroksicimetne kisline, flavanoli in skupni fenoli).

### 4.2.1 Sladkorji

Med zorenjem plodov vsebnost sladkorjev praviloma narašča. V poskusu smo analizirali vsebnost glukoze, saharoze in fruktoze ter skupnih sladkorjev v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza. Preglednica rezultatov je prilogi B1.

#### 4.2.1.1 Glukoza

V sorti 'Ben More' je vsebnost glukoze statistično značilno različna med nezrelimi in zreli plodovi, medtem ko pri sortah 'Daniels September' in 'Silvergieter' ni statistično značilnih razlik v vsebnosti glukoze (slika 2).

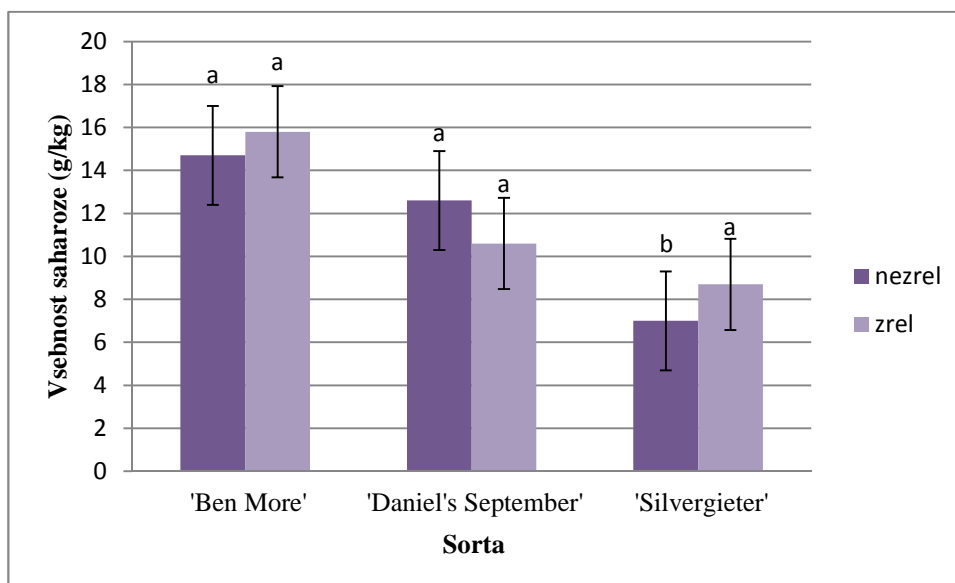


Slika 2: Povprečne vsebnosti glukoze (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti glukoze znotraj sorte

Figure 2: Average glucose content (g/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the glucose content within cultivar

#### 4.2.1.2 Saharoza

Med zreli in nezreli plodovi črnega ribeza so v vsebnosti saharoze statistično značilne razlike pri sorti 'Silvergieter', med zreli in nezreli plodovi ostalih dveh sort ni statistično značilnih razlik (slika 3).



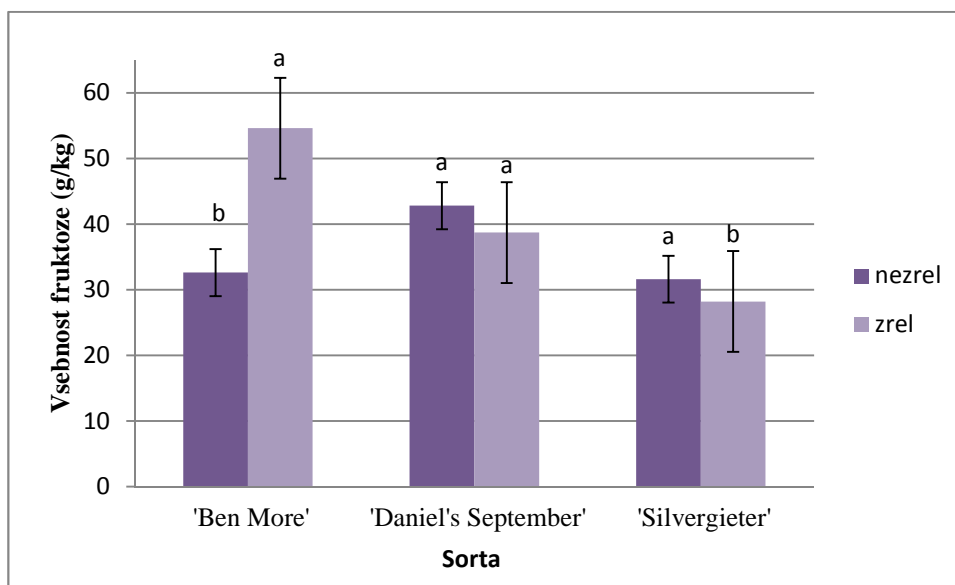
Slika 3: Povprečna vsebnost saharoze (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti saharoze znotraj sorte

Figure 3: Average sucrose content (g/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the sucrose content within cultivar



#### 4.2.1.3 Fruktaza

Podatki o vsebnosti fruktoze so prikazani na sliki 4. Statistično značilne razlike v vsebnosti fruktoze so pri sorti 'Ben More', kjer je bila vsebnost fruktoze večja v zrelih plodovih, ter sorti 'Silvergieter', kjer je bil v zrelih plodovih vsebnost fruktoze manjša kot v nezrelih plodovih.

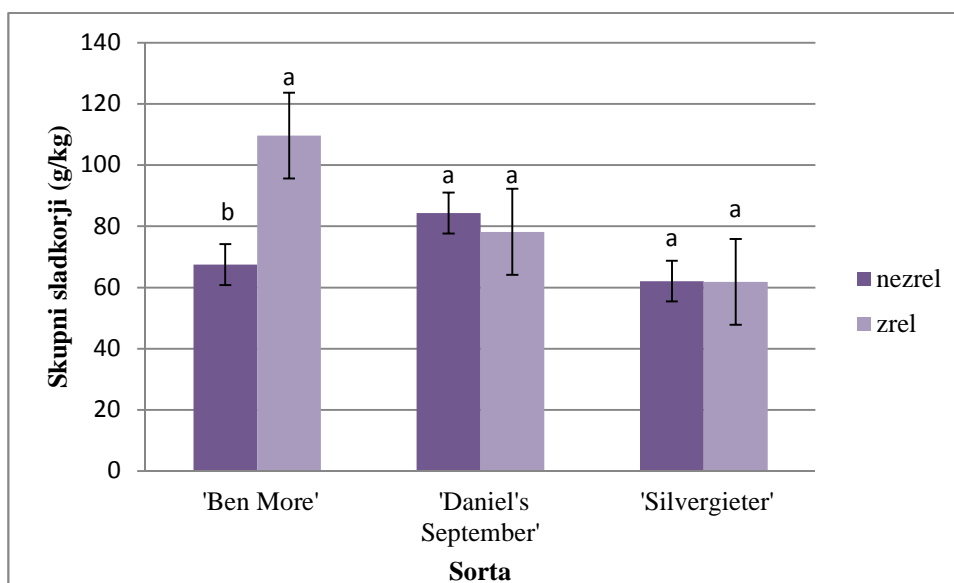


Slika 4: Povprečna vsebnost fruktoze (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti fruktoze znotraj sorte

Figure 4: Average fructose content (g/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the fructose content within cultivar

#### 4.2.1.4 Skupni sladkorji

Na sliki 5 je prikazana vsebnost skupnih sladkorjev, kjer je razvidno, da se skupni sladkorji v zrelih in nezrelih plodovih statistično značilno razlikujejo pri sorti 'Ben More', medtem ko se pri sortah 'Daniel's September' in 'Silvergieter' ne razlikujejo. Vsebnost skupnih sladkorjev se je v plodovih sorte 'Ben More' med zorenjem povečala.



Slika 5: Povprečna vsebnost skupnih sladkorjev (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September', in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti skupnih sladkorjev znotraj sorte

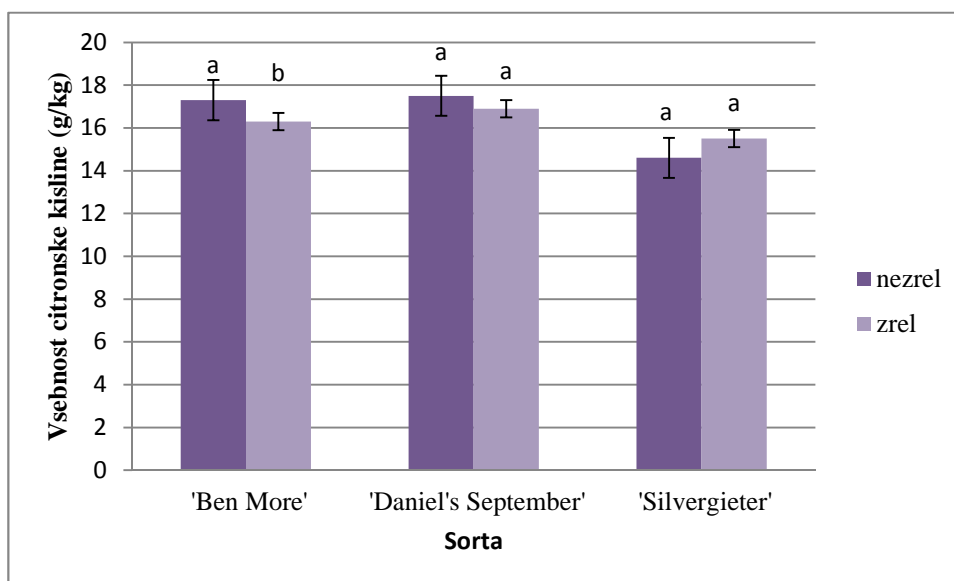
Figure 5: Average total sugar content (g/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the total sugar content within cultivar

## 4.2.2 Organske kisline

V poskusu smo analizirali vsebnost citronske, jabolčne in vinske kisline v zrelih in nezrelih plodovih vseh treh sort. Preglednica rezultatov je v prilogi B2.

### 4.2.2.1 Citronska kislina

Vsebnost citronske kisline je v zrelih in nezrelih plodovi statistično značilno različna le pri sorti 'Ben More', medtem ko pri sortah 'Daniel's September' in 'Silvergieter' ni statistično značilnih razlik (slika 6). Vsebnost citronske kisline je v zrelih plodovih sorte 'Ben More' manjša od vsebnosti v nezrelih plodovih.

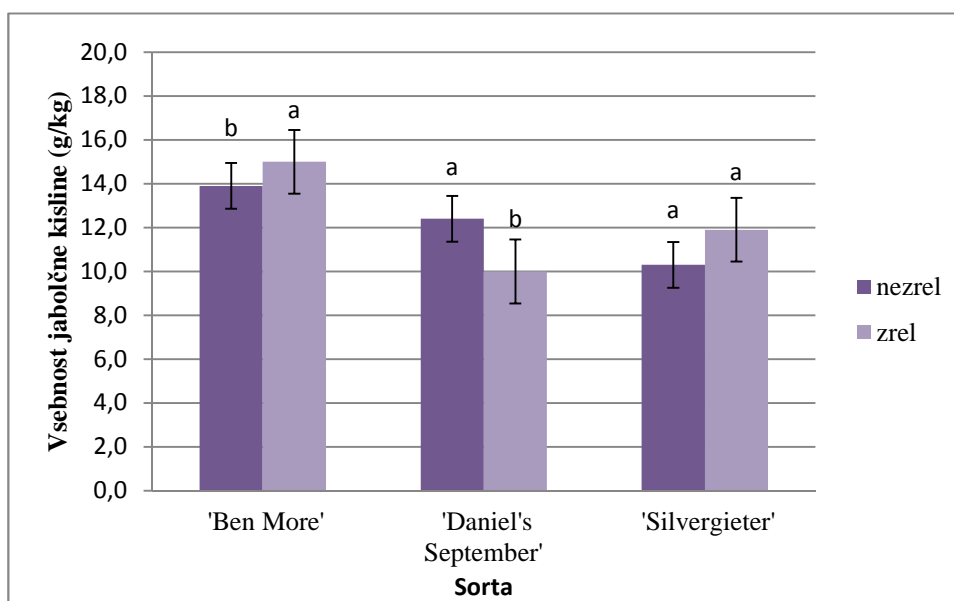


Slika 6: Povprečna vsebnost citronske kisline (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti citronske kisline znotraj sorte

Figure 6: Average citric acid content (g/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the citric acid content within cultivar

## 4.2.2.2 Jabolčna kislina

Vsebnost jabolčne kisline se med zreli in nezreli plodovi ni razlikovala pri sorti 'Silvergieter', medtem ko so bile pri sortah 'Ben More' in 'Daniel's September' statistično značilne razlike v vsebnosti jabolčne kisline. Pri sorti 'Ben More' se je vsebnost jabolčne kisline med zorenjem povečala, medtem ko se je med zorenjem sorte 'Daniel's September' vsebnost jabolčne kisline zmanjšala slika 7.

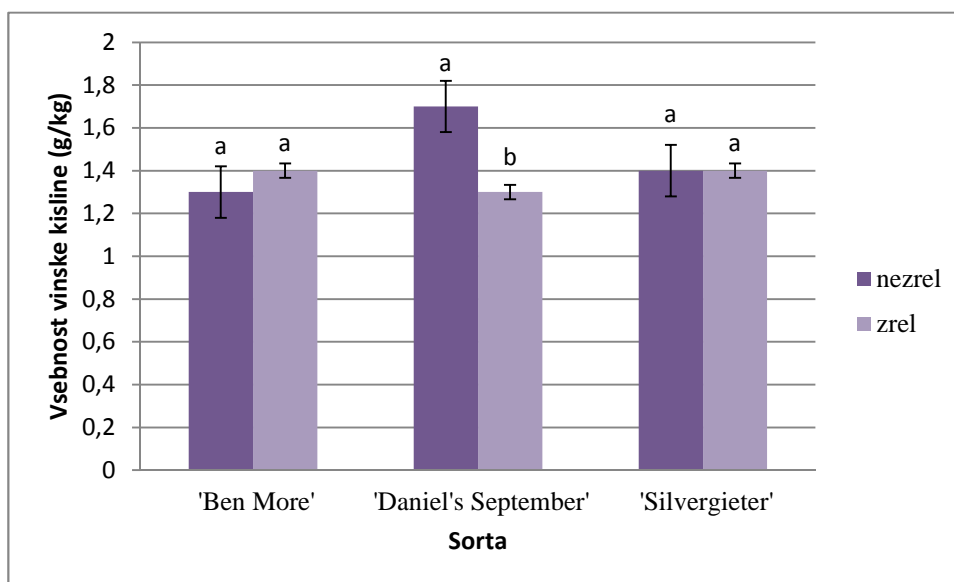


Slika 7: Povprečna vsebnost jabolčne kisline (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti jabolčne kisline znotraj sorte

Figure 7: Average malic acid content (g/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the malic acid content within cultivar

#### 4.2.2.3 Vinska kislina

Črni ribez vsebuje sorazmeroma malo vinske kisline. Statistično značilne razlike v vsebnosti vinske kisline med zreli in nezreli plodovi so bile pri sorti 'Daniel's September', medtem ko pri sortah 'Ben More' in 'Silvergieter' ni bilo statistično značilnih razlik (slika 8).

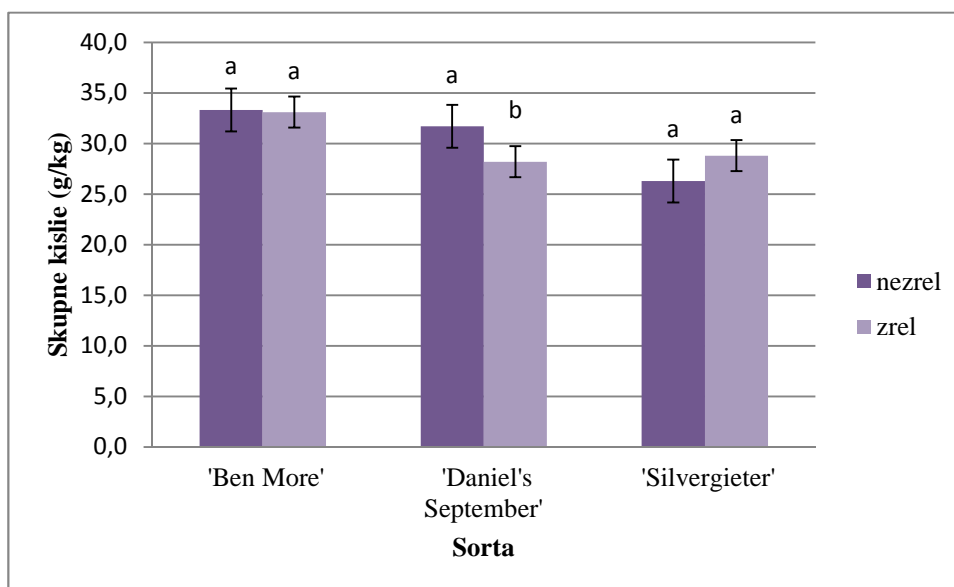


Slika 8: Povprečna vsebnost vinske kisline (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti vinske kisline znotraj sorte

Figure 8: Average tartaric acid content (g/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the tartaric acid content within cultivar

## 4.2.2.4 Skupne kisline

Na sliki 9 so prikazane skupne kisline v zrelih in nezrelih plodovih. Pri sortah 'Ben More' in 'Silvergieter' ni statistično značilnih razlik, medtem ko so skupne kisline pri sorti 'Daniel's September' statistično značilno različne med zreli in nezreli plodovi. Vsebnost skupnih kislin je bila manjša v zrelih plodovih.

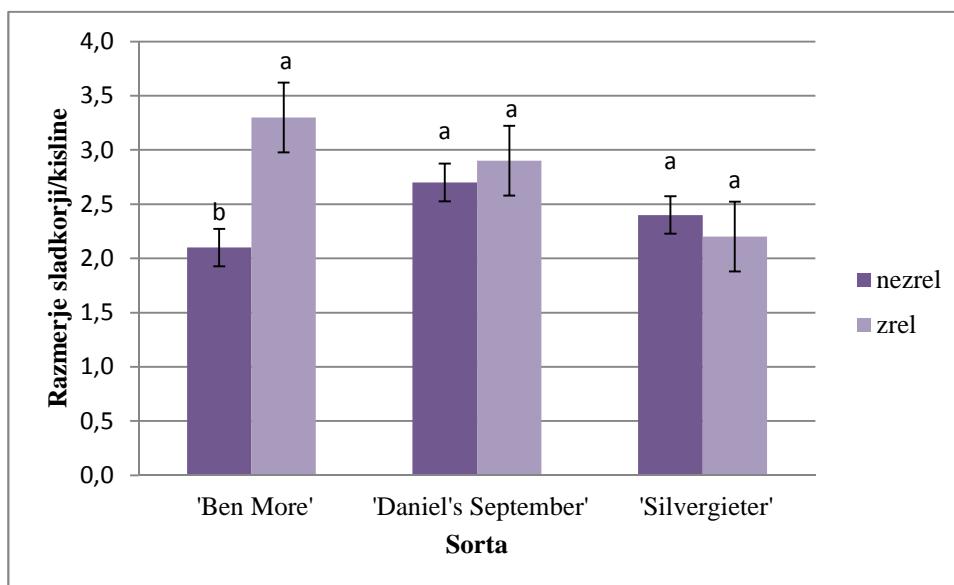


Slika 9: Povprečna vsebnost skupnih kislin (g/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti skupnih kislin znotraj sorte

Figure 9: Average total acid content (g/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the total acid content within cultivar

### 4.2.3 Razmerje med sladkorji in kislinami

Razmerje sladkorji/kislina se med zreli in nezreli plodovi črnega ribeza statistično značilno razlikuje le pri sorti 'Ben More', kjer je v zrelih plodovih bistveno večje. Pri sortah 'Silvergieter' in 'Daniel's September' ni statistično značilnih razlik (slika 10, priloga B3).



Slika 10: Povprečno razmerje sladkorji/kislina v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v razmerju sladkorji/kislina znotraj sorte

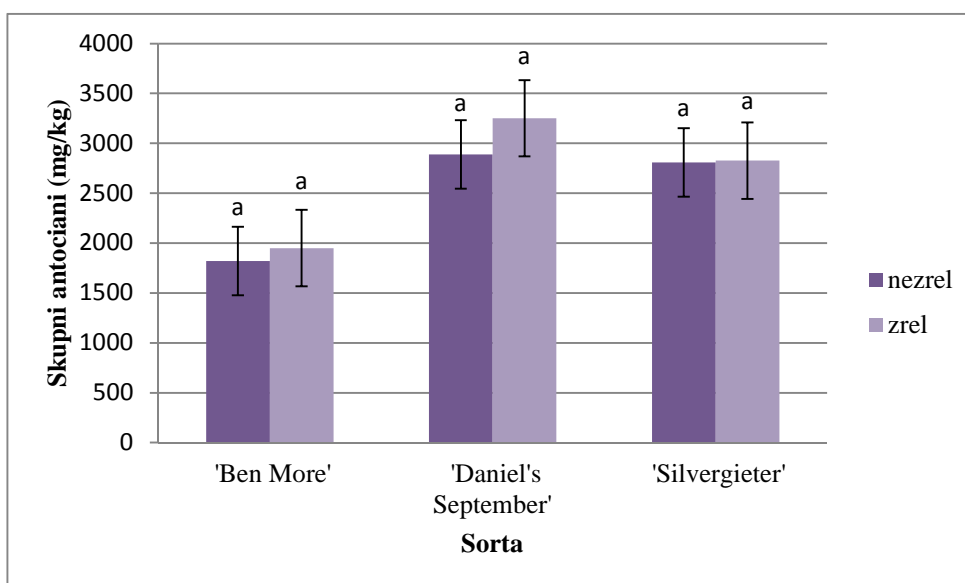
Figure 10: Average sugar acid ratio in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the sugar acid ratio within cultivar

#### 4.2.4 Fenolne spojine

Analizirali smo vsebnost skupnih antocianinov, flavonolov, hidroksicimetnih kislin, flavanolov in skupnih fenolov. Preglednica rezultatov je v prilogi B4.

##### 4.2.4.1 Skupni antociani

Na sliki 11 je prikazana vsebnost skupnih antocianov. Med zreli in nezreli plodovi pri nobeni izmed sort ni statistično značilnih razlik v vsebnosti skupnih antocianov.



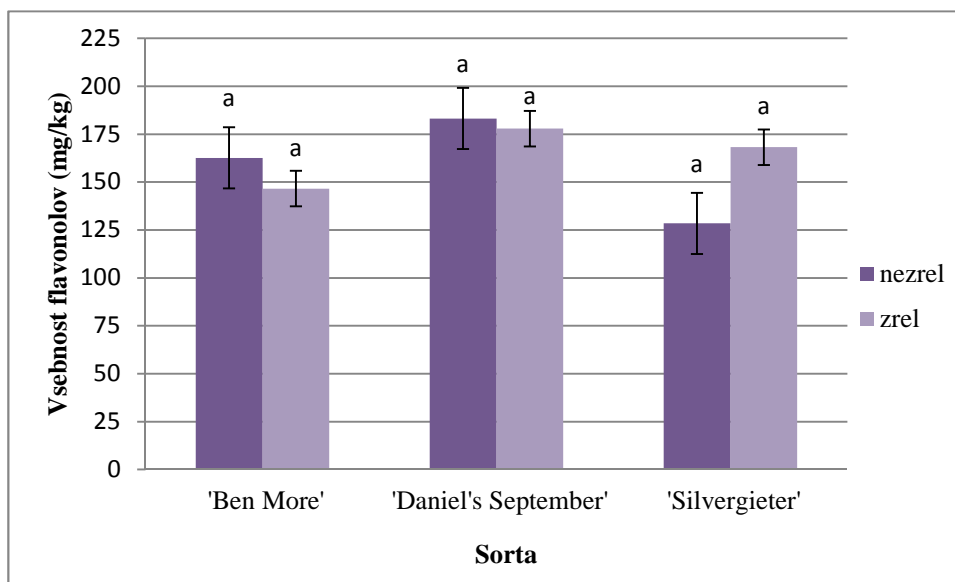
Slika 11: Povprečna vsebnost skupnih antocianov (mg/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti skupnih antocianov znotraj sorte

Figure 11: Average total anthocyanins content (mg/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the anthocyanins content within cultivar



#### 4.2.4.2 Flavonoli

V vsebnosti flavonolov ni statistično značilnih razlik med zreli in nezreli plodovi pri nobeni izmed obravnavanih sort (slika 12).

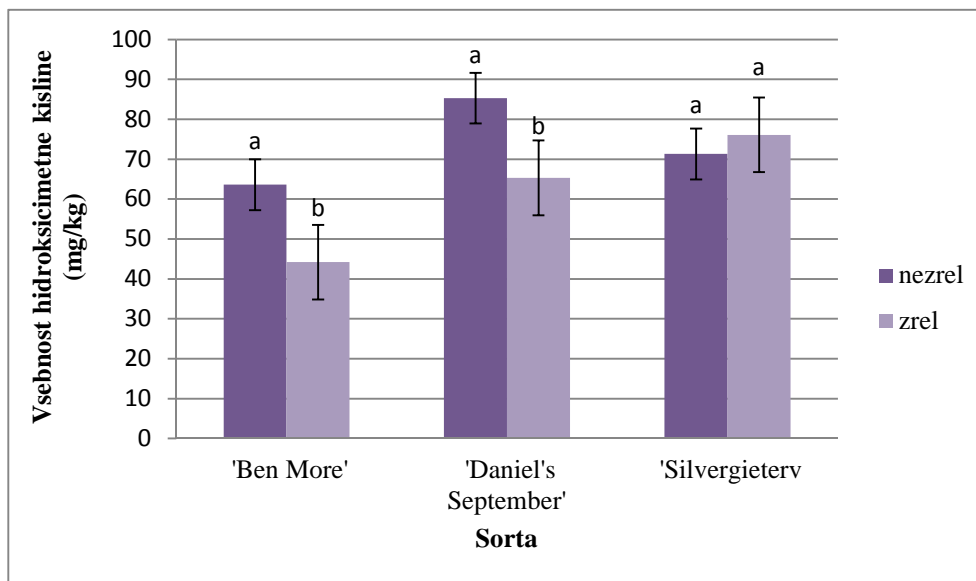


Slika 12: Povprečna vsebnost flavonolov (mg/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti flavonolov znotraj sorte

Figure 12: Average flavonol content (mg/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the flavonol content within cultivar

## 4.2.4.3 Hidroksicimetne kisline

Na sliki 13 so prikazane vsebnosti hidroksicimetnih kislin v zrelih in nezrelih plodovih. Pri sorti 'Silvergieter' ni bilo statistično značilnih razlik, medtem ko se je vsebnosti hidroksicimetnih kislin statistično značilno razlikovala pri sortah 'Ben More' in 'Daniel's September', kjer je vsebnost hidroksicimetnih kislin v zrelih plodovih manjša kot v nezrelih.

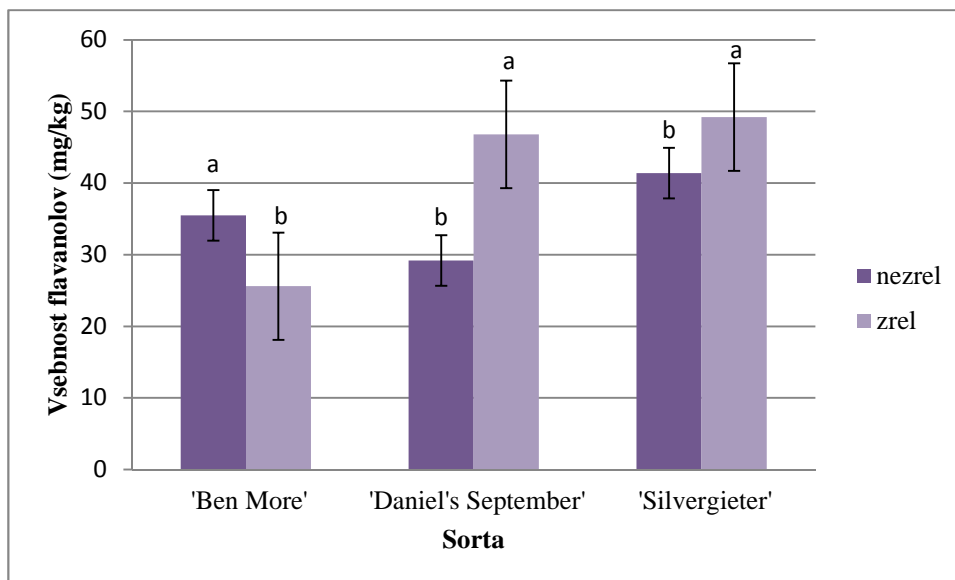


Slika 13: Povprečna vsebnost hidroksicimetnih kislin (mg/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti hidroksicimetne kisline znotraj sorte

Figure 13: Average hydroxycinnamic acids content (mg/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the hydroxycinnamic acids content within cultivar

#### 4.2.4.4 Flavanoli

Vsebnost flavanolov je statistično značilno različna pri vseh treh sortah. Pri sorti 'Ben More' je v zrelih plodovih manjša, medtem ko je zrelih plodovih sort 'Daniel's September' in 'Silvergieter' večja (slika 14).

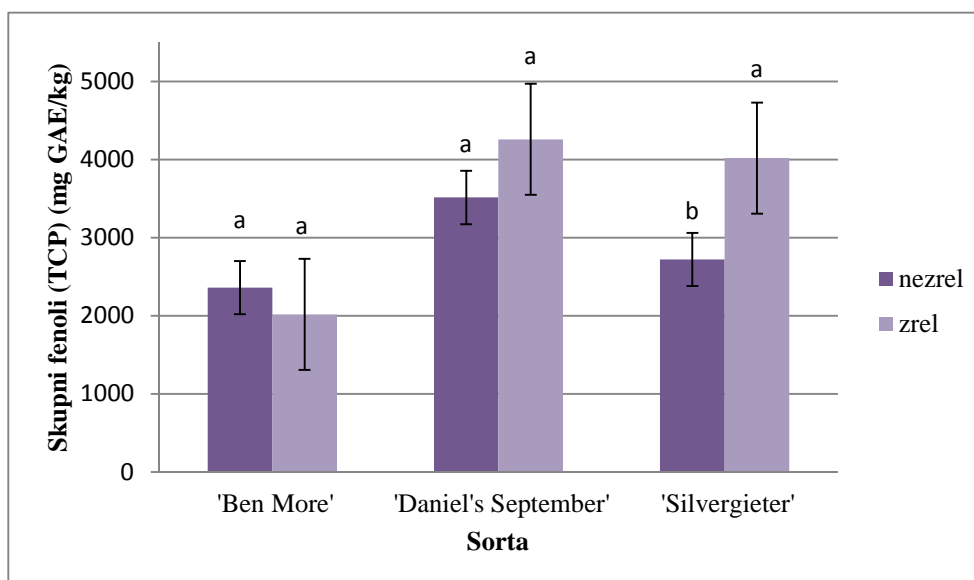


Slika 14: Povprečna vsebnost flavanolov (mg/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti flavanolov znotraj sorte

Figure 14: Average flavanol content (mg/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the flavanol content within cultivar

#### 4.2.5 Skupni fenoli

V vsebnosti skupnih fenolov se statistično značilno razlikujejo zreli in nezreli plodovi sorte 'Silvergieter', saj je v zrelih plodovih njihova vsebnost večja, medtem ko pri zrelih in nezrelih plodovih sort 'Ben More' in 'Daniel's September' ni statistično značilnih razlik (slika 15).



Slika 15: Povprečna vsebnost skupnih fenolov (mg GAE/kg) v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti skupnih fenolov znotraj sorte

Figure 15: Average total phenolic content (mg GAE/kg) in black currant ripe and unripe berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters above the columns indicate significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the total phenolic content within cultivar

V preglednici 8 je prikazan vpliv sorte, zrelosti in njihove interakcije na vsebnost posameznih sladkorjev, organskih kislin in fenolov.

Preglednica 8: Vpliv sorte, zrelosti in njihova interakcija na vsebnost posameznih sladkorjev, organskih kislin in fenolov.

Table 8: Impact of cultivar, ripeness and their interaction on sugar, organic acid and phenolic content.

Snov	Sorta	Zrelost	Sorta X Zrelost
Glukoza	***	***	***
Saharoza	***	NS	NS
Fruktoza	***	***	***
Skupni sladkorji	***	***	***
Citronska kislina	***	NS	***
Jabolčna kislina	***	NS	**
Vinska kislina	*	NS	**
Skupne kisline	***	NS	**
Razmerje sladkorji/kisline	*	*	**
Skupni antociani	***	NS	NS
Flavonoli	*	NS	NS
Hidroksicimetne kisline	***	**	*
Flavanoli	***	*	***
Skupni fenoli	***	*	*

NS - ni statistično značilnih razlik; \* - značilne razlike pri  $p=0,05$ ; \*\* - značilne razlike pri  $p=0,01$ ; \*\*\* - značilne razlike pri  $p=0,001$

Po naših predvidevanjih je sorta značilno vplivala na vsebnost posameznih in skupnih sladkorjev in organskih kislin ter fenolov. Zrelost plodov črnega ribeza je značilno vplivala na vsebnost glukoze, fruktoze, skupnih sladkorjev in posledično tudi na razmerje med sladkorji in organskimi kislinami. Prav tako je zrelost plodov značilno vplivala na vsebnost hidroksicimetnih kislin, flavanolov in skupnih fenolov.

## 5 RAZPRAVA

### 5.1 PRIMERJAVA ZRELIH PLODOV MED SORTAMI

V plodovih črnega ribeza smo primerjali vsebnost sladkorjev (saharoza, glukoza in fruktoza), organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) in fenolnih spojin (skupni antociani, flavonoli, hidroksicimetne kisline, flavanoli in skupne fenole).

#### 5.1.1 Sladkorji

Črni ribez vsebuje od 74 do 105 g sladkorjev na kilogram svežega soka (Heiberg in Maage, 2003). V desetih sortah črnega ribeza so Heiberg in sodelavci (1992) ugotovili, da sladkorji v ribezu predstavljajo 9 % skupne mase, od tega predstavlja 45 % fruktoza, 40 % glukoza in 15 % saharoza. V tabelah o sestavi in prehranski vrednosti hrane Souci in sod. (2000) navajajo 6,11 g ogljikovih hidratov na 100 g črnega ribeza, od katerih glukoza predstavlja 2,4 g, fruktoza 3,1 g in saharoza 0,7 g.

V našem poskusu smo ugotovili, da se vsebnost skupnih sladkorjev močno razlikuje med sortami, od najmanjše vsebnosti 61,8 g/kg pri sorti 'Silvergieter' do 109,6 g/kg pri sorti 'Ben More', kar je primerljivo z objavljenimi študijami. Glavni delež sladkorjev predstavlja fruktoza, v povprečju 50 %, sledi ji glukoza (38 %) in saharoza (12 %). Pri vseh sladkorjih ima največje vsebnosti sorta 'Ben More', najmanjše pa 'Silvergieter', ki se edino v vsebnosti saharoze ne razlikuje od sorte 'Daniel's September'.

#### 5.1.2 Organske kisline

V črnem ribezu pomemben delež k okusu doprinesejo organske kisline. Prevladuje citronska kislina (32 do 55 g na kg svežega soka), sledi ji jabolčna kislina (3 – 10 g na kg svežega soka) ter vinska kislina v sledih (Heiberg in Maage, 2003). Sasnauskas in sod. (2009) navajajo, da titracijske kisline v povprečju dvajsetih sort in hibridov zavzemajo 3 % delež v črnem ribezu. Milivojević in sod. (2012) poročajo o citrinski kislini, kot glavni kislini v črnem ribezu. Pri proučevanju štirih sort v dveh rastnih sezonah, so izmerili vsebnost skupnih kislin med 7,6 in 17,7 g/kg sveže mase, vsebnost se je razlikovala glede na sorto in tudi glede na leto. V črnem ribezu so določili citrinsko kislino, katere vsebnost je bila med 5,7 in 11,7 g/kg sveže mase, jabolčno kislino, katere vsebnost je bila 1,9 do 7,3 g/kg sveže mase in vinsko kislino, katere vsebnost je bila od 0,2 do 1,2 g/kg sveže mase.

V našem poskusu se je sorta 'Ben More' razlikovala v vsebnosti skupnih kislin od sort 'Daniel's September' in 'Silvergieter', saj je imela večjo vsebnost skupnih kislin, 33,1 g/kg vzorca, medtem ko sta imeli ostali sorti manjšo vsebnost skupnih kislin. Vsebnost skupnih kislin je bila v naših vzorcih večja od vsebnosti kislin v virih, za kar bi bile lahko odgovorne sorte, ki smo jih uporabili v poskusu, vremenske razmere ali čas obiranja.

V vseh treh sortah je največ citronske kisline, največja je pri sorti 'Daniel's September', najmanjša pri sorti 'Silvergieter'. Sledita ji jabolčna kislina in majhne količine vinske

kislina, ki ju je največ vsebovala sorta 'Ben More'. Sorte so se med seboj najbolj razlikovale v vsebnosti jabolčne kisline in najmanj v vsebnosti vinske kisline.

### 5.1.3 Razmerje med sladkorji in kislinami

Razmerje sladkorji/kislina je pogosto uporabljen indeks za določanje kakovosti sadja. Določen je glede na vsoto sladkorjev in organskih kislin. Večji kot je indeks, bolj sladkega okusa je sadje (Colarič in sod., 2005). V primeru črnega ribeza se upošteva vsota glukoze, fruktoze in saharoze ter vsota citronske, jabolčne in vinske kisline. V študiji Milivojević in sod. (2012) so pri štirih sortah črnega ribeza v dveh rastnih dobah dobili razmerje sladkorji/kislina med 2,4 in 13,6, slednje pomeni, da so bili plodovi te sorte slajšega okusa od sort z manjšim razmerjem. Sorta 'Ben More' je imela največje razmerje sladkorji/kislina, 3,3. Najmanjšega je imela sorta 'Silvergieter'. V naši raziskavi je bila vsebnost kislin dokaj velika, zato je razmerje majhno glede na rezultate študije Milivojević in sod. (2012), kar pomeni, da so bili plodovi precej kislega okusa.

### 5.1.4 Fenolne spojine

Vsebnost fenolnih spojin v sadju je odvisna od genetskega zapisa in okoljskih dejavnikov, vendar se lahko med skladiščenjem in predelavo spremeni, zaradi oksidacijskih procesov (Robards in sod., 1999). Jagodičje je bogato s fenolnimi spojinami, med njimi tudi črni ribez. V našem poskusu smo se osredotočili na vsebnost skupnih antocianov, flavonolov, hidroksicimetnih kislin, flavanolov in skupnih fenolov v črnem ribezu.

Črni ribez je bogat z antociani. Szajdek in Borowska (2008) navajata vsebnosti antocianov od 128 do 411 mg/100 g sveže mase, Benvenuti in sod. (2004) navajajo vsebnost skupnih antocianov  $216,3 \pm 42,3$  mg/100 g, Milivojević in sod. (2012) so dobili vrednosti med 230 do 1079,4 mg/kg sveže mase. V našem poskusu smo dobili največje vsebnosti skupnih antocianov pri sorti 'Daniel's September' z 3250,9 mg/kg in najmanjšo pri sorti 'Ben More'. Vsebnosti antocianov so bile v našem poskusu dokaj velike v primerjavi s podakti, ki jih navajajo Milivojević in sod. (2012), kar bi lahko razložili z hladnejšimi nočnimi temperaturami v našem poskusnem nasadu.

Poleg antocianov je črni ribez tudi dober vir flavonolov, Bakowska-Barczak in Kolodziejczyk (2011) navajata vsebnosti fenolov črnega ribeza petih sort od 159 do 276 mg/kg sveže mase, Milivojević in sod. (2012) navajajo za štiri sorte vsebnost flavonolov od 38,8 do 204,7 mg/kg sveže mase. V naših vzorcih smo določili od 146,6 do 168,2 mg/kg, sorte se statistično značilno niso razlikovale.

Hidroksicimetne kisline predstavljajo neflavonoidne fenole. V črnem ribezu se iz skupine hidroksicimetnih kislin nahajajo p-kumarna kislina, kavna kislina in ferulna kislina (Szajdek in Borowska, 2008). Häkkinen in sod. (1999) navajajo vsebnosti hidroksicimetnih kislin za črni ribez od 77 do 1069 mg/kg sveže mase. V naših vzorcih smo določili najmanjše vrednosti hidroksicimetnih kislin v sorti 'Ben More' 44,2 mg/kg, največ pri sorti 'Silvergieter', in sicer 76,1 mg/kg. Tudi v vsebnosti flavanolov se sorta 'Ben More'

statistično značilno razlikuje od preostalih dveh sort, saj ima namanjše vrednosti flavanолоv, medtem ko imata sorti 'Daniel's Septemer' in 'Silvergieter' še enkrat večjo vsebnost.

Črni ribez vsebuje zelo veliko skupnih fenolov in skupaj z aronijo in borovnico velja za dober vir fenolnih spojin. Vsebnost skupnih fenolov se močno razlikuje glede na podnjejbe in agrotehnične ukrepe. Črni ribez naj bi vseboval 318,2 do 1342 mg skupnih fenolov/100 g sveže mase (Szajdek in Borowska, 2008). Milivojević in sod. (2012) navajajo v štirih sortah črnega ribeza od 831,6 do 1651,6 mg skupnih fenolov/kg, medtem ko Benvenuti in sod. (2004) v devetih sortah ribeza navajajo od 530,5 do 888,5 mg GAE/ 100 g sveže mase. V našem poskusu sta sorti 'Daniel's September' in 'Silvergieter' vsebovali še enkrat več skupnih fenolov, kot sorta 'Ben More' z 2018,4 mg GAE TPC/kg.

## 5.2 PRIMERJAVA ZRELIH IN NEZRELIH PLODOV ZNOTRAJ SORTE

### 5.2.1 Sladkorji

Med zorenjem vsebnost sladkorjev narašča (Koron, 2011). V poskusu so Krüger in sod. (2011), kjer so proučevali vpliv zrelosti na vsebnost metabolitov v malinah, ugotovili, da ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti sladkorjev med različnimi stopnjami zrelosti malin, bila pa je nakazana rast sladkorjev. Ferreyra in sod. (2007) poročajo o povečanju skupnih sladkorjev med zorenjem jagod. V našem poskusu se je sorta 'Ben More' statistično značilno razlikovala v vsebnosti skupnih sladkorjev med zreli in nezreli plodovi, saj je med zorenjem močno narasla. Najmanj se je med zorenjem povečala vsebnost saharoze, ki se statistično značilno ni spremenila, medtem ko se je vsebnost glukoze in fruktoze povečala za 35 % oziroma 37 %. Pri sortah 'Daniel's September' in 'Silvergieter' se vsebnost skupnih sladkorjev ni statistično značilno spremenila. Medtem ko pri sorti 'Danile's September' ni razlik v vsebnosti nobenega od posameznih sladkorjev, se je pri sorti 'Silvergiter' vsebnost saharoze v zrelih plodovih povečala, vsebnost fruktoze v zrelih plodovih pa zmanjšala. V krajšem časovnem obdobju ni bilo večjih sprememb v vsebnosti skupnih sladkorjev, medtem ko so se skupni sladkorji močno povečali v daljšem časovnem obdobju pri obiranju sorte 'Ben More'.

### 5.2.2 Organske kisline

Vsebnost organski kislin se v plodovih med zorenjem zmanjšuje, saj jih plodovi porabljajo v procesu dihanja (Fonseca in sod., 2002). Krüger in sod. (2011) so ugotovili, da se je med zorenjem malin vsebnost kislin zmanjšala, prav tako so to potrdili Pineli in sod. (2011) pri jagodah. V našem poskusu so bile statistično značilne razlike v vsebnosti skupnih kislin pri sorti 'Daniel's September', kjer se je med zorenjem njihova vsebnost zmanjšala, predvsem zaradi zmanjšanja vsebnosti jabolčne kisline. Pri sorti 'Silvergiter' ni bilo statistično značilnih razlik, čeprav se je vsebnost skupnih kislin med zorenjem rahlo povečala. Pri sorti 'Ben More' je bila vsebnost citronske kisline v zrelih plodovih manjša, a zaradi večje vsebnosti jabolčne kisline v vsebnosti skupnih kislin ni bilo značilnih razlik.



### 5.2.3 Razmerje med sladkorji in kislinami

Za izračun razmerja sladkorji/kislina smo uporabili vsoto sladkorjev (glukoza, fruktoza, saharoza) in vsoto kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) plodov črnega ribeza. Ker se med zorenjem vsebnost sladkorja povečuje, vsebnost kislin pa zmanjšuje, pričakujemo, da bo indeks v zrelih plodovih večji, kot v nezrelih. V zrelih plodovih sorte 'Ben More' je indeks statistično značilno večji, predvsem zaradi večje vsebnosti sladkorjev v zrelih plodovih. Pri sortah 'Daniel's September' in 'Silvergieter' ni statistično značilnih razlik v razmerju sladkorji/kislina med zreli in nezreli plodovi, saj v krajšem časovnem obdobju med obiranjem teh dveh sort ni prišlo do večjih razlik v vsebnosti sladkorjev in kislin.

### 5.2.4 Fenolne spojine

Za črni ribez ni veliko raziskav o vsebnosti fenolnih spojin med zorenjem, saj se večina študij nanaša na vsebnost snovi ob obiranju in v času skladiščenja ali predelave, vendar kar nekaj raziskav poroča o spreminjanju vsebnosti fenolnih spojin v drugem jagodičju. Ferreyra in sod. (2007) poročajo, da se med razvojem plodov jagode vsebnost fenolnih spojin intenzivno zmanjša le v začetni stopnji razvoja plodov, nato pa vsebnost ostane precej konstantna. V primerjavi zelenih, roza in zrelih plodov jagod so Pineli in sod. (2011) ugotovili, da se plodovi sorte 'Camino Real' niso razlikovali v vsebnosti fenolnih spojin, medtem ko so plodovi sorte 'Osogrande' največ fenolnih spojin vsebovale v stopnji roza obarvanja, kar pomeni, da je sprememba vsebnosti fenolnih spojin odvisna tudi od sorte. Krüger in sod. (2011) poročajo o rahlem naraščanju fenolnih spojin med zorenjem malin, vendar razlike med različnimi stopnjami zrelosti niso bile statistično značilne. Aaby in sod. (2012) so pri proučevanju 27 sort jagod ugotovili, da med zorenjem nastajajo razlike med vsebnostjo fenolnih spojin, vendar so razlike zelo odvisne od sorte.

V našem poskusu se vsebnost skupnih fenolov med zreli in nezreli plodovi pri sortah 'Ben More' in 'Daniel's September' ni statistično značilno razlikovala, vendar lahko kljub temu opazimo, da se je pri sorti 'Ben More' vsebnost fenolov zmanjšala, pri sorti 'Daniel's September' pa povečala. Zreli plodovi sorte 'Silvergieter' so vsebovali bistveno več skupnih fenolnih spojin, 4018,6 mg GAE/kg, od nezrelih. Največja, statistično značilna razlika je bila v vsebnosti flavanolov. Med ostalimi spojinami, ni bilo statistično značilnih razlik, vendar so bile vse večje v zrelih plodovih. Vsebnost flavanolov je bila tudi pri sortah 'Daniel's September' in 'Ben More' statistično značilno različna med zreli in nezreli plodovi, vendar je bila pri sorti 'Ben More' v zrelih plodovih manjša kot v nezrelih. Prav tako se je v tej sorti zmanjšala vsebnost hidroksicimetnih kislin med zorenjem. Pri vseh sortah je med zorenjem ostala nespremenjena vsebnost antocianov. Da ni bilo statistično značilnih razlik, je odgovorno zgodnje obarvanje plodov črnega ribeza, saj se jagode obarvajo že zelo zgodaj v razvoju, tako da se med zorenjem v zadnjih tednih in dnevih vsebnost antocianov le malo povečuje.

Rezultati kažejo, da sorta ne vpliva le na vsebnost fenolnih spojin v zrelih plodovih, temveč tudi na dinamiko spreminjanja vsebnosti spojin med zorenjem.

## 6 SKLEPI

V poskusu smo proučevali vsebnost sladkorjev (glukoza, saharoza in fruktoza), organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) in fenolnih spojin (skupni antociani, flavonoli, hidroksicimetne kisline, flavanoli in skupne fenole) v črnem ribezu pri treh različnih sortah, 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter', v dveh različnih časih obiranja.

Pri primerjavi sort smo ugotovili, da se sorta 'Ben More' v vsebnosti sladkorjev, organskih kislin in skupnih fenolnih spojin razlikuje od sort 'Daniel's September' in 'Silvergieter', med katerima je bilo bistveno manj razlik. Sorti se razlikujeta v vsebnosti skupnih sladkorjev, medtem ko se v vsebnosti skupnih kislin in skupnih fenolnih spojin ne razlikujeta.

Sorta 'Ben More' ima od sort 'Daniel's September' in 'Silvergieter' večje vsebnosti sladkorjev in organskih kislin, medtem ko je vsebnost skupnih fenolnih spojin manjša od ostalih dveh sort.

Hipotezo, da med sortami obstajajo razlike, potrdimo, saj se sorta 'Ben More' močno razlikuje od sort 'Daniel's September' in 'Silvergieter'.

Pri primerjavi zrelih in nezrelih plodov smo ugotovili, da se zreli plodovi sorte 'Ben More' statistično značilno razlikujejo od nezrelih plodov v vsebnosti sladkorjev, medtem ko v vsebnosti skupnih kislin in skupnih fenolov ni razlik. Med dozorevanjem se je povečalo razmerje sladkorji/kislina. Med zorenjem se je zmanjšala vsebnost hidroksicimetnih kislin in flavanolov.

Pri sorti 'Daniel's September' se vsebnost skupnih sladkorjev, razmerje sladkorji/kislina in skupni fenoli med zreli in nezreli ne razlikujejo, medtem ko je vsebnost skupnih kislin manjša v zrelih plodovih. Vsebnost hidroksicimetnih kislin se je med dozorevanjem zmanjšala, vsebnost flavanolov pa povečala.

Primerjava zrelih in nezrelih plodov pri sorti 'Silvergieter' je pokazala, da ni razlik v vsebnosti skupnih sladkorjev, organskih kislin in razmerju sladkorji/kislina, vendar so razlike v vsebnosti skupnih fenolnih spojin. V zrelih plodovih je vsebnost flavanolov večja.

Med sortami so bile razlike v zrelih in nezrelih plodovih. To razliko bi lahko pripisali različnim časovnim razmikom med obiranji posameznih sort ter tudi plivu sorte.

Hipotezo, da znotraj sorte obstajajo razlike med zreli in nezreli plodovi v vsebnosti metabolitov, potrdimo, saj so se vsebnosti nekaterih metabolitov razlikovale.

Za nadaljne raziskave bi bilo zanimivo spremljati vsebnost metabolitov v daljšem časovnem obdobju razvoja plodov pri več sortah črnega ribeza.

## 7 POVZETEK (SUMMARY)

### 7.1 POVZETEK

V Poskusnem sadovnjaku Kmetijskega inštituta Slovenije Brdo pri Lukovici smo v letu 2011 nabrali rastlinski material, in sicer plodove treh različnih sort črnega ribeza 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter' v dveh različnih zrelostih. Pri vsaki sorti in pri vsaki zrelosti (zrel in nezrel) smo imeli 4 ponovitve. Analize vsebnosti sladkorjev (fruktoza, glukoza in saharoza), organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) in fenolnih snovi (antociani, flavanoli, flavonoli in hidroksicimetne kisline) smo naredili na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

V plodovih vseh treh sort, zrelih in nezrelih plodov, smo s pomočjo tekočinske kromatografije (HPLC) določili vsebnost sladkorjev, organskih kislin, antocianov, flavanolov, flavonolov in hidroksicimetnih kislin ter z uporabo Folin-Ciocalteu-ovega reagenta določili vsebnost skupnih fenolnih spojin.

Sorta 'Ben More' se v vsebnosti sladkorjev, organskih kislin in skupnih fenolnih spojin razlikuje od sort 'Daniel's September' in 'Silvergieter', med katerima je bilo bistveno manj razlik, saj sta se razlikovali le v vsebnosti skupnih sladkorjev.

Zreli plodovi sorte 'Ben More' se razlikujejo od nezrelih plodov v vsebnosti sladkorjev, medtem ko v vsebnosti skupnih kislin in skupnih fenolov ni razlik. Zaradi povečanja sladkorjev med zorenjem se je povečalo tudi razmerje sladkorji/kislina. Med zorenjem se je zmanjšala vsebnost hidroksicimetnih kislin in flavanolov.

Pri sorti 'Daniel's September' se je med dozorevanjem zmanjšala vsebnost organskih kislin, medtem ko je vsebnost skupnih sladkorjev in skupnih fenolov ostala nespremenjena. Pri analizi posameznih skupin fenolnih spojin smo ugotovili, da se je vsebnost hidroksicimetnih kislin med dozorevanjem zmanjšala, vsebnost flavanolov pa povečala.

V sorti 'Silvergieter' se je povečala le vsebnost skupnih fenolnih spojin, razlik ni bilo v vsebnosti skupnih sladkorjev, organskih kislin in posledično razmerju sladkorji/kislina. V zrelih plodovih je bila večja vsebnost flavanolov.

Na podlagi rezultatov smo potrdili obe hipotezi. Sorta in čas obiranja imata vpliv na vsebnost primarnih in sekundarnih metabolitov v črnem ribezu.

## 7.2 SUMMARY

### INTRODUCTION

Awareness of importance of fresh fruit consumption and its beneficial effect on human health is growing day by day. The composition of fruits is the focus of recent studies and it is influenced by many factors, one of them is also the time of harvest. The correct decision when to pick fruits is important because it affects not only the composition of fruits, but also the fruit viability in handling and storage.

Black currant (*Ribes nigrum* L.) is well known for its beneficial composition to human health. It is one of the richest berries with vitamin C content and is abundant in phenolic compounds, but is not appreciated for fresh consumption because of its specific and strong aroma and sour taste, especially in old cultivars. New cultivars have higher content of sugars and therefore more pleasant taste. The berries of black currant develop the typical dark colouration in early stages of development; that is why the determination of correct picking time is today mostly based on organoleptic properties of berries. With our study we tried to find out how cultivar and different time of harvest influence the composition of black currant berries.

The aim of this research is to find out if there are differences in content of primary and secondary metabolites between cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter' and if the time of harvest influences the content of primary and secondary metabolites.

## LITERATURE REVIEW

### **Black currant (*Ribes nigrum* L.)**

Black currant, family Grossulariaceae, is indigenous species of alpine and pre-alpine world. Its indigenous varieties are widely distributed throughout North Europe, Asia, North America and alpine region of South America. It has been first cultivated in Netherlands, from where it spread throughout whole Europe. Today the world's largest grower of all currant species (black, red and white) is Russia with 51 % of total world production, which is 640,968 ton per 119,259 Ha.

### **Black currant morphology**

Black currant is a short bush which reaches the height of 1 to 2 m. The centre of new shoot production is near the soil surface. The specific aroma of wood and buds helps to separate the black currant from other *Ribes* species throughout the whole year. The adventitious root system extends up to half a meter deep in the soil.

Flower buds are terminal buds, from which short internode fruiting structures develop which contain from 8 to 30 flowers. Flowers are greenish yellow, white to red. The cultivars are self-fertile to half self-fertile, so it is recommended to plant different cultivars for better pollination. Good pollinators are bees and bumblebees. The fruits are called berries, born in clusters, which ripe in July. The fruits ripen in order along the string, the fruit closest to the branch first and the terminal last. The production is 10 to 15 tons per hectare or 2 to 4 kg per bush.

### **Ecological requirements of black currant**

Black currant is very frost hardy species; it can survive temperatures to -40 °C in dormant period but can have some problems with summer temperatures over 30 °C. Currants do not need high amounts of water; 800 to 1200 mm is enough in growing season. Black currant grows well on north, northwest and northeast sites with good air flow. The most suitable is clay soil with 1 or more percent of organic matter content with pH ranging from 5.5 to 7.0.

### **Primary metabolites**

Plants synthesise many different organic compounds, which are usually divided into two groups: primary and secondary metabolites. Primary metabolites have essential role in photosynthesis, respiration, growth and development. These metabolites are carbohydrates, lipids, organic acids and amino acids.

In fresh fruits the sugars are most abundant carbohydrates. Sugars that are found in fruits are mostly hexoses (glucose, fructose) and disaccharides (sucrose). In black currant carbohydrates are the main source of energy, with glucose and fructose as main sugars, and sucrose in smaller amounts (Table 1).

Plants synthesise many different types of lipids. We can divide them according their role in plant as structural, metabolic and storage lipids. Black currant seeds contain great amounts of essential fatty acids, with linoleic acid as the main fatty acid. According to Heiberg and Maage (2003) black currant contains 2 g of lipids per kg of fresh fruits (Table 2).

Organic acids have great influence on organoleptic properties of fruits, especially on taste, colour and aroma. Organic acids also influence phenolic compound metabolism with regulation of pH in the cell. In black currant citric acid, which is predominant organic acid in black currant, malic acid and traces of tartaric acid were found (Table 1).

In fruits very low amount of amino acids, which form proteins, were found. Black currant berries contain 13 g proteins per kilogram of fresh weight (Table 2).

### **Secondary metabolites**

Secondary metabolites mostly have an ecological role in plant, where they are a part of defence mechanism against stress. They play major role in protecting plants against herbivores, pathogens and UV light, work as allelopathic agents and help to attract pollinators and seed-dispersing animals. Secondary metabolites usually have more complex structure and are synthesised from primary metabolites. Numerous studies concluded that diet rich in fruits and vegetables delays the aging process and reduces the risk of various lifestyle diseases, mainly cardiovascular diseases and cancer. The compounds responsible for those protective effects are phytochemicals and vitamin C and E which have antioxidant properties. Berry fruits are particularly rich source of antioxidants, which are mainly represented by vitamin C and polyphenols. Based on biosynthetic origins, plant secondary metabolites are divided into three major groups: phenolics, terpenoids and nitrogen-containing compounds.

Phenolics vary greatly in their structure and function and are one of main groups of secondary metabolites. There are more than 10,000 different compounds in the phenolics group. They can be divided into two groups: the flavonoids and the non-flavonoids.

In group of flavonoids we have six main sub groups: anthocyanins, flavanols, flavanones, flavones, flavonols and isoflavones. In the anthocyanin sub group the pigments cyanidin-3-rutinoside, delphinidin-3-rutinoside, cyanidin-3-glucoside and delphinidin-3-glucoside were identified in black currant. Myricetin, quercetin in kaempferol are the main flavonols in black currant, which have important role in high antioxidant properties of black currant.

Non-flavonoids or phenolic acids are a group of hydroxybenzoic acids, its derivatives, hydroxycinnamic acids and its derivatives. In berry fruits phenolic acids are represented by cinnamic acid and benzoic acid derivatives. In black currant high contents of p-coumaric acid and caffeic acid are reported.

Terpenoids are the most numerous and structurally diverse plant natural products. Five carbon unit (C-5), isoprene, is the basic unit, two isoprene units together form a monoterpene (C-10), three isoprene units form sesquiterpenes (C-15) etc. Tetraterpenes (C-40), also called carotenoids, are orange or red pigments in bacteria, algae and higher plants. Berry fruits contain small quantities of carotenoids, according to Haeiberg and Maage (2003) black currant contains 1.2 mg  $\beta$ -caroten per kilogram of fresh fruit.

Nitrogen-containing compounds are very rare in fruit, only 0.1-1.5 % of mass of fruit, from which 35-75 % are proteins (primary metabolites). Main compounds in this category are alkaloids, amines, non-protein amino acids, cyanogenic glycosides and glucosinolates.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

The experiment was carried out in the year 2011. Black currant was obtained from Experimental orchard of Agricultural Institute of Slovenia at Brdo pri Lukovici. Among other fruit species they also have the black currant collection with more than 50 different cultivars. The plants were planted in 2002 at a distance 1.5 x 3 m. The summer of 2011 had a lot of rainfall in June and July. There were 274 mm of rainfall, which is excess for currant in the time of ripening. The temperatures were suitable for currant cultivation (Supplement A).

Three cultivars of black currant were used: 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. 'Ben More' is weak to medium vigorous variety with large berries. It blooms late and ripens normally in mid-July. It can also be harvested with machine harvester and processed into juice. 'Daniel's September' is vigorous cultivar with medium length clusters and medium-sized berries. It ripens in mid-July and has high yield. 'Silvergieter' has upright and strong growth with a large cluster with large to very large berries. It ripens early and has medium yield.

Each cultivar was harvested twice. In the first picking period the berries were marked as unripe, and in the second period as ripe. Cv. 'Ben More' was harvested 29<sup>th</sup> June (unripe) and 11<sup>th</sup> July (ripe), 'Daniel's September' 29<sup>th</sup> of June (unripe) and 1<sup>st</sup> July (ripe), 'Silvergieter' 29<sup>th</sup> June (unripe) and 1<sup>st</sup> July (ripe).

### Methods

Analysis of sugars, organic acids and phenolic compounds were made in the Chair for Fruit Growing, Viticulture and Vegetable Growing at the Biotechnical Faculty in Ljubljana. For each cultivar and each maturity (ripe and unripe) four replications were done.

For the extraction of sugars and organic acids 5 g of black currant berries were immersed in 25 mL of twice distilled water and homogenized with a T-25 Ultra-Turrax (Ika-Labortechnik). The samples were left for extraction for half an hour at room temperature with frequent stirring, and the extracted samples were centrifuged at 10,000 rpm for 7 min at 10 °C (Eppendorf Centrifuge 5810). The supernatants were filtered through a 0.45 µm cellulose ester filter, transferred to a vial and analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC; Thermo Scientific, Spectra System). For each analysis 20 µL of sample was used. Analysis of sugars was carried out using a Rezex RCM-monosaccharide column (300 × 7.8 mm) with a flow of 0.6 mL min<sup>-1</sup> and column temperature maintained at 65 °C. For the mobile phase, twice distilled water was used, and an RI detector for identification. Organic acids were analysed using a Rezex ROA-organic acid column (300 × 7.8 mm), and the UV detector set at 210 nm with a flow of 0.6 mL min<sup>-1</sup> maintaining the column temperature at 65 °C. For the mobile phase, 4 mM sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) was used. The concentrations of sugars (glucose, sucrose and fructose) and organic acids (citric acid, malic acid and tartaric acid) were calculated with the help of corresponding external standards. The concentrations were expressed in g kg<sup>-1</sup> sample.

For the extraction of phenols 5 g of black currant berries were immersed in 10 mL of methanol with 3 % formic acid and homogenized with a T-25 Ultra-Turrax (Ika-Labortechnik). The samples were placed in cooled ultrasonic bath (0 °C) for 1 hour. The treated samples were centrifuged for 7 min at 10,000 rpm. The supernatant was filtered through a polyamide filter and transferred to a vial prior to injection into a HPLC system. Samples were analyzed using a Thermo Finnigan Surveyor HPLC system. Injected sample volume was 20 µL with a flow speed 1 mL min<sup>-1</sup>. The detection was at 280, 350 and 530 nm. The column used was Phenomenex Gemini C18 (150 mm x 4.5 mm, 3 µm) with the temperature 2 °C. The first mobile phase was composed of twice distilled water with 1% formic solution and 5 % acetonitrile and the second mobile phase 100 % acetonitrile. Identification of individual compounds was carried out by comparison of retention times and spectra. All the phenolic substances were confirmed by using mass spectrometer (Thermo Scientific, LCQ Deca XP MAX) with electrospray ioniser. Concentration of phenolic compounds was calculated according to the chromatographic peaks for samples and appropriate standards. The concentrations are expressed as mg kg<sup>-1</sup> of sample.

Determination of total phenolic content (TPC) of the extracts was assessed using the Folin-Ciocalteu phenol reagent method. To 100 µL of sample 6 mL of twice distilled water and 500 µL of Folin-Ciocalteu reagent were added. The sample extracts were left to stand between 8 s and 8 min at room temperature; 1.5 mL sodium carbonate (20 % w/v) and 1.9 mL twice-distilled water was then added. The extracts were mixed and allowed to stand for 30 min at 40 °C before measuring absorbance at 765 nm on a Lambda Bio 20 UV spectrophotometer (Perkin Elmer, Waltham, MA). A mixture of water and reagents was used as a blank. The total phenolic content was expressed as gallic acid equivalents (GAE) in mg 1 kg<sup>-1</sup> sample of fruit peel or pulp. Absorptions were measured in three replications.

The data was analyzed using the Statgraphic Plus for Windows 4.0 program and program MS Excell 2007. Data from all the analyses was tested for any differences among treatments using one-way analysis of variance (ANOVA). Significant differences among means were determined by the least significant difference (LSD) with a significance level of 0.05.



## RESULTS AND DISCUSSION

We compared sugars (sucrose, glucose and fructose), organic acids (citric, malic and tartaric acid) and phenolic compounds (total anthocyanins, flavonols, hydroxycinnamic acid, flavonols and total phenolic content (TPC)) between varieties and between ripe and unripe berries within cultivar.

### Comparison between cultivars

Sugar content varied greatly among cultivars, from 61.8 g kg<sup>-1</sup> in 'Silvergieter' to 109.6 g kg<sup>-1</sup> in cv. 'Ben More' (Table 4). The amount of sugar was comparable to other studies, Heiberg in Maage (2003) reported amount of sugars between 74 and 105 g kg<sup>-1</sup> of fresh juice. Predominant sugar was fructose, with about 50 %, followed by glucose 38 % and sucrose 12 %. Cv. 'Ben More' had the highest amounts of all individual sugars, while cv. 'Silvergieter' had the lowest amounts (Table 4).

Total organic acid content was significantly higher in cv. 'Ben More' than in cvs. 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. The predominant organic acid is citric acid, followed by malic acid and traces of tartaric acid. The results are shown in table 5. The amount of organic acids in our study was higher than in literature, where the highest values in Milivojević et al. (2012) study were 17.7 g kg<sup>-1</sup> FW, whereas our highest value was 33.1 g kg<sup>-1</sup>. That could be explained by abundant rainfall and lower temperatures in June and July in our experimental field.

Sugar/acid ratio was also determined. The higher the ratio, the sweeter the taste. As expected, by the highest values of sugar, cv. 'Ben More' had the highest ratio, but did not differ from 'Daniel's September', while 'Silvergieter', with the lowest ratio, did (Table 6). Comparing to study Milivojević et al. (2012) the ratio was quite low, so it would mean the taste was sourer.

From phenolic compounds total anthocyanins, hydroxycinnamic acid, flavonols and total phenolic content were determined; results are presented in table 7. Cv. 'Ben More' differed in all phenolic compounds but flavonols, where there were no significant differences between varieties. The same variety also had the lowest amounts of all phenolic compounds, whereas 'Daniel's September' and 'Silvergieter' had higher and more equal amounts of phenolic compounds. According to Szajdek and Borowska (2008), total phenolic content varies greatly according to climate and agrotechnical measures; it can range from 3182 to 13420 mg TPC kg<sup>-1</sup> FW. The lowest value in our experiment was determined in cv. 'Ben More', only 2018.4 mg GAE TPC kg<sup>-1</sup>, while 'Daniel's September' and 'Silvergieter' had more than 4000 mg GAE TPC kg<sup>-1</sup>.

### Comparison between ripe and unripe berries

Total sugar content increased during ripening in cv. 'Ben More', whereas in other two cultivars there was no significant difference in total sugar content between ripe and unripe berries (Figure 5). In cv. 'Daniel's September' there were also no differences among individual sugars, whereas in cv. 'Silvergieter' during ripening the amount of sucrose increased and amount of fructose decreased (Figure 3 and Figure 4). The numeric results are shown in Supplement B1. Smaller changes in sugar content in varieties 'Daniel's

September' and 'Silvergieter' could be explained with smaller time difference in picking time of ripe and unripe berries.

Cv. 'Daniel's September' had lower values of total organic acids in ripe berries than in unripe (Figure 9). The decrease of total organic acid content was due to decrease of malic and tartaric acid content (Figure 7 and Figure 8). There were no significant differences in total organic acid content between ripe and unripe berries of other two varieties. There were however some changes in individual organic acids content in cv. 'Ben More', where citric acid decreased and malic acid increased during ripening (Figure 6 and Figure 7). The numeric results are shown in Supplement B2.

The sugar/acid ratio increased during ripening in cv. 'Ben More', due to higher sugar content, whereas in other two cultivars there were no significant differences (Figure 10). There are probably no differences because of the short period between picking time of ripe and unripe berries. The numeric results are shown in Supplement B3.

Total phenolic content was significantly different between ripe and unripe berries in cv. 'Silvergieter', where it increased almost by half. There were no significant differences among cvs. 'Ben More' and 'Daniel's September', but we can see that in first cultivar it decreased and in second increased (Figure 15). As expected, the anthocyanin content remained the same during ripening, because the colour changes really early in fruit development, and was already changed when we picked unripe berries (Figure 11). Also flavonol content remained the same in all cultivars (Figure 12), whereas flavanol content differed in all cultivars between ripe and unripe berries (Figure 14). It has decreased in cvs. 'Ben More' and 'Daniel's September' and increased in cv. 'Silvergieter'. There was also decrease of hydroxycinnamic acid content in cvs. 'Ben More' and 'Silvergieter' (Figure 13). The numeric results are shown in Supplement B4. We can see that cultivar not only influences the amount of phenolic compounds, but also influences the dynamics of changing compound content during ripening.

## CONCLUSION

Cultivar 'Ben More' differs in the amount of total sugars, total organic acids and total phenolic content in comparison with cvs. 'Daniel's September' and 'Silvergieter', which are different only in total sugar content. In cv. 'Ben More' total sugar and total organic acid content are higher, but total phenolic content is lower than in other two cultivars.

The hypothesis that there are differences among cultivars was confirmed.

The comparison of ripe and unripe berries of cv. 'Ben More' showed differences in total sugar content, it was higher ripe berries, whereas total organic acid content and total phenolic content staid unchanged. Due to increase of sugar content also the sugar/acid ratio increased. Among individual phenolic compounds, hydroxycinnamic acid and flavonol content decreased.

The comparison of ripe and unripe berries of cv. 'Daniel's September' showed differences in total organic acid content, it decreased during ripening. Total sugar and total phenolic content did not change during ripening and also sugar/acid ratio remained the same due to small organic acid change. Among individual phenolic compounds, hydroxycinnamic acid content decreased and flavonol content increased.

The comparison of ripe and unripe berries of cv. 'Silvergieter' showed differences in total phenolic content, it increased during ripening. There was no difference between total sugar and total organic acid content; consequently, there was also no change in sugar/acid ratio. Among individual phenolic compounds flavonol content increased.

The hypothesis that there are differences among ripe and unripe berries was confirmed.

For further research it would be interesting to monitor the content of metabolites through longer time period of development of fruits in several cultivars of black currant.

## 8 VIRI

- Aaby K., Mazur S., Nes A., Skrede G. 2012. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*, 132: 86-97
- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. *Farmaceutski vestnik*, 48: 573-589
- Bakowska-Barczak A. M., Kolodziejczyk P. P. 2011. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial crops and products*, 34: 1301 – 1309
- Baričević D. 1996. Rastlinske droge in njihovi sekundarni metaboliti – surovina rastlinskih zdravilnih pripravkov. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 81 str.
- Benvenuti S., Pellati E., Melegari M., Bertelli D. 2004. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Journal of Food Science*, 69, 3: 164-169
- Castañeda-Ovando A., Pacheco-Hernández M. de L., Páez- Hernández M. E., Rodríguez J. A., Galán-Vidal C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113: 859-871
- 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. 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> (5. 5. 2012)
- Ferreira R. M., Viña S. Z., Mugridge A., Chaves A. R. 2007. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. *Scientia Horticulturae*, 112: 27-32
- Flores P, Hellin P., Fenoll J. 2012. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 132: 1049 – 1054
- Fonseca S. C., Oliveira F. A. R., Brecht J. K. 2002. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering*, 52: 99-119
- Häkkinen S., Heinonen M., Kärenlampi S., Mykkänen H., Ruuskanen J., Törrönen R. 1999. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International*, 32: 345-353

- Hanson J. R. 2003. Natural Products: The Secondary Metabolites. Cambridge, The Royal Society of Chemistry: 147 str.
- Harmat L., Porpaczy A., Himelrick D. G., Galletta G. J. 1990. Currant and gooseberry management. V: Small fruit crop management. Galletta G. J., Himelrick D. G. (eds.). New Jersey, Prentice Hall: 245-272
- Heiberg N., Maage F. 2003. Currants and gooseberries. V: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Caballero B., Trugo L. C., Finglas P. M. (eds.). 2<sup>nd</sup> ed. Amsterdam, Academic Press: 1708 – 1712
- Heiberg N., Maage F., Haffner K. 1992. Chemical composition of ten black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & plant science, 42, 4: 251 – 254
- Hummer K. E., Dale A. 2010. Horticulture of *Ribes*. Forest Pathology, 40: 251-263
- Kmetijski inštitut Slovenije. Poskusni sadovnjak Brdo pri Lukovici. 2012.  
<http://www.kis.si/pls/kis/!kis.web?m=15&j=SI> (20. 5. 2012)
- Agrometeorološka mreža MKGP FURS. Postaja KIS-vrt (5719). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije (izpis iz baze podatkov, junij, 2012)
- Krüger E., Dietrich H., Schöppl E., Rasim S., Kürbel P. 2011. Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. Postharvest Biology and Technology, 60: 31-37
- Koron D. 2011. Jagodičje: gojenje in uporaba. Ljubljana, Kmečki glas: 122 str.
- Lack A. J., Evans D. E. 2001. Plant biology. Oxford, BIOS Scientific Publishers Ltd, 332 str.
- Lapornik B. 2005. Stabilnost polifenolov med staranjem v polizdelkih iz črnega ribeza. Doktorska disertacija. Ljubljana. Oddelek za živilstvo: 135 str.
- Milivojević J., Slatnar A., Mikulič-Petkovšek M., Štampar F., Nikolić M., Veberič R. 2012. The influence of early yield on the accumulation of major taste and health-related compounds in black and red currant cultivars (*Ribes* spp.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 10: 2682-91
- Patel J. M. 2008. A review of potential health benefits of flavonoids. Lethbridge Undergraduate Research Journal, 3, 2: 5
- Pineli L. L., Moretti C. L., Santos M. S., Campos A. B., Brasileiro A. V., Córdova A. C., Chiarello M. D. 2011. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. Journal of Food Composition and Analysis, 24: 11-16

- Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436
- Rogelj M. 2007. Vsebnost esencialnih maščobnih kislin v semenih kosmulje (*Ribes uva-crispa* L.), črnega ribeza (*Ribes nigrum* L.) in rdečega ribeza (*Ribes rubrum* L.). Magistrsko delo, Ljubljana, Oddelek za živilstvo: 80 str.
- Rubinskiene M., Viskelis P., Jasutiene I., Viskeliene R., Bobinas C. 2005. Impact of various factors on the composition and stability of the black currant anthocyanins. *Food Research International*, 38: 867-871
- Sasnauskas A., Trajkovski V., Strautina S., Tikhonova O., Šikšnianas T., Rubinskiene M., Viškelis P., Lanauskas J., Valiuškaitė A., Rugienius R., Bobinas Č. 2009. Evaluation of blackcurrant cultivars and perspective hybrids in Lithuania. *Agronomy Research* 7, 2: 737-743
- Souci S. W., Fachmann W., Kraut H. 2000. *Food composition and nutrition tables*. Stuttgart, CRC Press: 1182 str.
- 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
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. *Sadjarstvo. 2. dopolnjena izdaja*. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Taiz L., Zeiger E. 2006. *Plant Physiology*. 4 izdaja. USA, Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates: 764 str.
- Tanaka Y., Brugliera F., Chandler S. 2009. Recent progress of flower colour modification by biotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*, 10: 5350-5369
- Tester R. F., Karkalas J. 2003. Carbohydrates: classification and properties. V: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Caballero B., Trugo L. C., Finglas P. M. (eds.). 2<sup>nd</sup> ed. Amsterdam, Academic Press: 862 – 875
- Valls J., Millán S., Martí M. P., Borrás E., Arola L., 2009. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*, 1216: 7143-7172
- Veberič R. 2010. *Bioactive compounds in fruit plants*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 65 str.
- Žorž M. 1991. *HPLC*. Ljubljana, samozaložba: 154 str.

## **ZAHVALA**

Za vse strokovne nasvete, napotke in pomoč pri izdelavi magistrskega dela se iskreno zahvaljujem mentorju izr. prof. dr. Robertu VEBERIČU.

Zahvaljujem se članom komisije prof. dr. Metki HUDINA, doc. dr. Borisu KRŠKI, doc. dr. Carlo ANDREOTTI-ju, in predsedniku komisije prof. dr. Franciju BATIČU, za pregled in dopolnila magistrskega dela.

Zahvaljujem se Ani SLATNAR, univ. dipl. inž. agr., za pomoč pri delu v laboratoriju in obdelavi podatkov.

Zahvaljujem se tudi mag. Darinki KORON za rastlinski material iz Poskusnega nasada Brdo pri Lukovici.

Hvala staršem in fantu za podporo med študijem.

## PRILOGA A – SUPPLEMENT A

### Povprečna, minimalna in maksimalna temperatura zraka ter količina padavin

Priloga A: Povprečna, minimalna in maksimalna temperatura zraka (°C) ter padavine (mm) po mesecih za leto 2011 (Kmetijski inštitut Slovenije, 2012)

Supplement A: Monthly average, minimum, maximum air temperature (°C) and percipitation (mm) in the year 2011 (Kmetijski inštitut Slovenije, 2012)

Mesec	Temperatura			Padavine (mm)
	Povprečna (°C)	Minimalna (°C)	Maksimalna (°C)	
Januar	0,5	-8,8	13,4	25,6
Februar	0,9	-8,1	17,7	24,8
Marec	6,0	-6,1	20,7	63,0
April	12,7	1,1	27,3	39,0
Maj	15,6	2,0	27,6	90,2
Junij	18,8	7,1	30,8	131,6
Julij	19,5	8,2	34,5	142,4
Avgust	21,4	8,2	36,1	76,8
September	18,6	8,4	32,7	80,6
Oktober	9,4	-2,0	26,1	153,6
November	2,7	-4,2	16,7	1,2
December	2,0	-5,1	13,4	107,6
Skupaj				936,4



## PRILOGA B – SUPPLEMENT B

### Vsebnost metabolitov v zrelih in nezrelih plodovih

Priloga B1: Povprečna vsebnost sladkorjev (saharoza, glukoza in fruktoza) v g/kg v zrelih in nezrelih plodovih sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrsti označujejo statistično različne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti sladkorjev med zreliimi in nezreliimi plodovi

Supplament B1: Average sugar content (sucrose, glucose and fructose) (g/kg of sample) in ripe and unripe fruits from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Different letters within a row indicate statistically significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in sugar content between ripe and unripe fruit

	Stopnja zrelosti	
	nezrel	zrel
Saharoza (g/kg)		
'Ben More'	14,7 ± 1,2 a	15,8 ± 0,7 a
'Daniel's September'	12,6 ± 1,0 a	10,6 ± 0,7 a
'Silvergieter'	7,0 ± 0,3 b	8,7 ± 0,2 a
Glukoza (g/kg)		
'Ben More'	21,4 ± 1,0 b	39,2 ± 1,5 a
'Daniels September'	28,8 ± 1,0 a	28,9 ± 1,2 a
'Silvergiter'	22,9 ± 0,5 a	20,9 ± 1,1 a
Fruktoza (g/kg)		
'Ben More'	32,6 ± 1,4 b	54,6 ± 2,4 a
'Daniel's September'	42,8 ± 1,3 a	38,7 ± 1,6 a
'Silvergieter'	31,8 ± 0,7 a	28,2 ± 1,3 b
Skupni sladkorji (g/kg)		
'Ben More'	67,5 ± 2,9 b	109,6 ± 4,4 a
'Daniel's September'	84,3 ± 2,8 a	78,2 ± 3,0 a
'Silvergieter'	62,1 ± 1,3 a	61,8 ± 8,2 a

Priloga B2: Povprečna vsebnost organskih kislin (citronska, vinska in jabolčna kislina) v g/kg v zrelih in nezrelih plodovih črnega ribeza sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrsti označujejo statistično različne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti kislin med zreli in nezreli plodovi

Supplament B2: Average organic acid content (citric, malic, tartaric acid and total acids) in g/kg in ripe and unripe black currant berries from cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters within a row indicate statistically significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in organic acid content between ripe and unripe fruit

	Stopnja zrelosti	
	nezrel	zrel
Citronska kislina (g/kg)		
'Ben More'	17,3 ± 0,1 a	16,3 ± 0,0 b
'Daniel's September'	17,5 ± 0,2 a	16,9 ± 0,2 a
'Silvergieter'	14,6 ± 0,1 a	15,5 ± 0,4 a
Vinska kislina (g/kg)		
'Ben More'	1,3 ± 0,0 a	1,4 ± 0,0 a
'Daniel's September'	1,7 ± 0,1 a	1,3 ± 0,0 b
'Silvergieter'	1,4 ± 0,1 a	1,4 ± 0,1 a
Jabolčna kislina (g/kg)		
'Ben More'	13,9 ± 0,2 b	15,0 ± 0,2 a
'Daniel's September'	12,4 ± 0,4 a	10,0 ± 0,1 b
'Silvergieter'	10,3 ± 0,7 a	11,9 ± 0,8 a
Skupne kisline (g/kg)		
'Ben More'	33,3 ± 0,4 a	33,1 ± 0,4 a
'Daniel's September'	31,7 ± 0,5 a	28,2 ± 0,3 b
'Silvergieter'	26,3 ± 0,9 a	28,8 ± 1,0 a

Priloga B3: Razmerje sladkorji/kislina v sortah 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrsti označujejo statistično različne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v razmerju sladkorji/kislina med zreli in nezreli plodovi

Supplement B4: Sugar/acid ratio in cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters within a row indicate statistically significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in sugar/acid ratio between ripe and unripe fruit

Sorta	Stopnja zrelosti	
	nezrel	zrel
'Ben More'	2,1 ± 0,1 b	3,3 ± 0,2 a
'Daniel's September'	2,7 ± 0,1 a	2,9 ± 0,1 a
'Silvergieter'	2,4 ± 0,1 a	2,2 ± 0,3 a

Priloga B4: Povprečna vsebnost fenolnih spojin (skupni antociani, flavonoli, flavanoli, hidroksicimetne kisline in skupni fenoli) v zrelih in nezrelih jagodah sort 'Ben More', 'Daniel's September' in 'Silvergieter'. Različne črke v vrsti označujejo statistično različne razlike ( $p \leq 0,05$ ) v vsebnosti fenolnih spojin med zreli in nezreli plodovi

Supplement B4: Average fenolic content (total anthocyanins, flavonols, hydroxycinnamic acids, flavanols, and total phenols) in ripe and unripe berries of black currant cultivars 'Ben More', 'Daniel's September' and 'Silvergieter'. Different letters within a row indicate statistically significant differences ( $p \leq 0,05$ ) in the content of phenolic compounds between ripe and unripe fruit

	Stopnja zrelosti	
	nezrel	zrel
Skupni antociani (mg/kg)		
'Ben More'	1820,1 ± 155,1 a	1950,2 ± 117,3 a
'Daniel's September'	2889,7 ± 161,2 a	3250,9 ± 118,6 a
'Silvergieter'	2807,3 ± 201,5 a	2826,0 ± 215,3 a
Flavonoli (mg/kg)		
'Ben More'	162,6 ± 7,9 a	146,6 ± 7,4 a
'Daniel's September'	183,2 ± 13,7 a	177,9 ± 15,8 a
'Silvergieter'	128,5 ± 15,2 a	168,2 ± 6,5 a
Hidroksicimetne kisline (mg/kg)		
'Ben More'	63,6 ± 0,7 a	44,2 ± 3,1 b
'Daniel's September'	85,3 ± 6,1 a	65,3 ± 3,2 b
'Silvergieter'	71,3 ± 2,8 a	76,1 ± 4,0 a
Flavanoli (mg/kg)		
'Ben More'	35,5 ± 3,1 a	25,6 ± 0,7 b
'Daniel's September'	29,2 ± 2,8 b	46,8 ± 3,7 a
'Silvergieter'	41,4 ± 2,7 b	49,2 ± 1,7 a
Skupni fenoli (TCP) (mg GAE/kg)		
'Ben More'	2362,3 ± 216,3 a	2018,4 ± 165,8 a
'Daniel's September'	3513,6 ± 320,8 a	4258,4 ± 215,7 a
'Silvergieter'	2721,1 ± 305,6 b	4018,6 ± 254,1 a