

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Manca KNAP

**METODE ZA UGOTAVLJANJE PRISTNOSTI EKOLOŠKO
PRIDELANIH ŽIVIL**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**METHODS FOR THE DETECTION OF AUTHENTICITY OF
ORGANIC FOODS**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana, 2014

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Biotehniške fakultete in sklepa Senata Univerze z dne 21.9.2011, je bilo potrjeno, da kandidatka izpolnjuje pogoje za neposreden prehod na doktorski Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti ter opravljanje doktorata znanosti s področja živilstva. Za mentorja doktorske disertacije je bil imenovan prof. dr. Rajko Vidrih, za somentorico prof. dr. Nives Ogrinc.

Večji del analiz raziskovalnega dela je bil opravljen na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, Oddelku za živilstvo, v laboratoriju Katedre za tehnologije, prehrano in vino. Meritve koncentracij elementov s pomočjo rentgenske fluorescenčne spektrometrije so bile opravljene na Odseku za fiziko nizkih in srednjih energij Instituta Jožef Stefan. Meritve stabilnih izotopov z metodo izotopskega razmerja z masno spektrometrijo (IRMS) so bile opravljene na Odseku za kemijo okolja Instituta »Jožef Stefan«. Statistična analiza je bila opravljena na Biotehniški fakulteti na Oddelku za živilstvo in Oddelku za zootehniko.

Mentor: prof. dr. Rajko VIDRIH

Somentorica: prof. dr. Nives OGRINC

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Tatjana KOŠMERL
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Članica: doc. dr. Lea POGAČNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

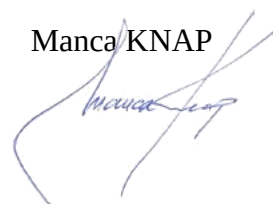
Članica: doc. dr. Branka MOZETIČ VODOPIVEC
Univerza v Novi Gorici, Visoko šola za vinogradništvo in vinarstvo,
Center za raziskave vina

Datum zagovora: 26.9.2014

Podpisana izjavljam, da je disertacija rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Doktorandka:

Manca KNAP



KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dd
DK	UDK 641.1:631.147:543.61:544.02(043)=163.6
KG	sadje/zelenjava/zelišča/ekološka pridelava/konvencionalna pridelava/pristnost živil/antioksidativna učinkovitost/skupni fenoli/izotopsko razmerje/ $\delta^{13}\text{C}/\delta^{15}\text{N}/^{13}\text{C}/^{12}\text{C}/^{15}\text{N}/^{14}\text{N}/\text{IRMS}/\text{XRF}$
AV	KNAP, Manca, univ. dipl. inž. zoot.
SA	VIDRIH, Rajko (mentor)/OGRINC, Nives (somentorica)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti, znanstveno področje živilstvo
LI	2014
IN	METODE ZA UGOTAVLJANJE PRISTNOSTI EKOLOŠKO PRIDELANIH ŽIVIL
TD	Doktorska disertacija
OP	XIII, 142 str., 15 pregl., 53 sl., 5 pril., 184 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Sadje, zelenjava in zelišča so znani kot bogat vir antioksidantov in fenolov. Namen raziskave je bil vzorcem določiti antioksidativno učinkovitost (AOP), skupne fenole (SF), stabilne izotope ogljika in dušika in nekatere elemente (P, S, Cl, K in Ca. Z določanjem smo želeli preveriti, ali je mogoče na osnovi rezultatov analiz ločevati med ekološkimi in konvencionalnimi pridelki. Za določanje AOP smo uporabili metodo DPPH, medtem ko smo SF določili s Filin-Ciocalteu. Z metodo določanja izotopskega razmerja z masno spektrometrijo (IRMS) smo določali vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter z energijsko disperzijsko rentgensko fluorescenčno spektrometrijo (EDXRF) določili elementarno sestavo. V raziskavo smo vključili 16 različnih vrst sadja, zelenjave in zelišč. Rastline smo vzgojili sami v poskusni gredici, kjer se več kot 30 let niso uporabljala mineralna gnojila. Ekološke pridelke smo le zalivali z vodo, konvencionalne pa po navodilih proizvajalca gnojili z mineralnim gnojilom. Ker nekaterih rastlin nismo uspeli vzgojiti, smo jih pridobili pri slovenskih ekoloških oziroma konvencionalnih kmetovalcih. Z različnimi statističnimi metodami smo preverili, ali se vzorci iste vrste, pridelani po različni metodi kmetovanja, razlikujejo v posameznih parametrih. Rezultati antioksidativne učinkovitosti in skupnih fenolov v povprečju niso kazali statistično značilnih razlik glede na način kmetovanja, prav tako se $\delta^{13}\text{C}$ ni izkazal kot primeren kriterij za ločevanje med ekološkimi in konvencionalnimi živili. Po drugi strani pa so ekološko pridelani vzorci v povprečju dosegali višje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ kot tisti, pridelani na konvencionalen način. To potrjuje hipotezo, da je med preučevanimi parametri, $\delta^{15}\text{N}$ najprimernejši parameter za razlikovanje med ekološkimi in konvencionalnimi živili.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN	Dd
DC	UDK 641.1:631.147:543.61:544.02(043)=163.6
CX	fruits/vegetables/herbs/organic farming/conventional farming/authenticity of foods/antioxidant activity/total phenols/isotop ratio/ $\delta^{13}\text{C}/\delta^{15}\text{N}/^{13}\text{C}/^{12}\text{C}/^{15}\text{N}/^{14}\text{N}/$ IRMS/XRF
AU	KNAP, Manca
AA	VIDRIH, Rajko (supervisor)/OGRINC, Nives (co-advisor)
PP	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB	University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate Study of Biological and Biotechnical Sciences, Field: Food Science and Technology
PY	2014
TI	METHODS FOR THE DETECTION OF AUTHENTICITY OF ORGANIC FOODS
DT	Doctoral dissertation
NO	XIII, 142 p., 15 tab., 53 fig., 5 ann., 184 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	Fruits, vegetables and herbs are known to be a rich source of antioxidants. The aim of the thesis was to determine antioxidant activity, total phenols, stable isotopes of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and certain elements (P, S, Cl, K in Ca) as well as establish whether the results based on the mentioned analysis can be used to distinguish between organic and conventional crops. Antioxidant activity was determined by DPPH method, total phenols by Folin-Ciocalteu. In addition to chemical parameters, the isotopic compositions of carbon and nitrogen ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) using isotope ratio mass spectrometry (IRMS) were determined and minerals by Energy Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF). Our study included 16 different fruits, vegetables and herbs. Most of the samples were grown in an experimental patch, where mineral fertilizers hadn't been used for over 30 years. Organic crops were only watered, whereas conventional crops were fertilized according to instructions given by the mineral fertilizers manufacturer. Samples which we were unable to breed on our own were obtained from Slovenian organic and conventional farmers. By the means of different statistical methods, we verified whether samples of the same variety, grown using different farming systems, differ in individual parameters. On average, the results of antioxidant activity and total phenolsshow no statistically significant differences between farming systems. Furthermore, it was found that the $\delta^{13}\text{C}$ is not a suitable parameter for the distinction between organic and conventional produce. Organically grown samples, however, had on average higher $\delta^{15}\text{N}$ values than those produced conventionally. This confirms the hypothesis that amongst all studied parameters $\delta^{15}\text{N}$ is the most suitable parameter for distinguishing between organic and conventional crops.

KAZALO VSEBINE

str.

	KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)	III
	KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)	IV
	KAZALO VSEBINE	V
	KAZALO PREGLEDNIC	IX
	KAZALO SLIK	X
	KAZALO PRILOG	XIV
	OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XV
1	UVOD	1
1.1	NAMEN DELA	2
1.2	RAZISKOVALNE HIPOTEZE	3
2	PREGLED OBJAV	4
2.1	VRSTE KMETIJSTVA V SLOVENIJI	4
2.1.1	Konvencionalno kmetijstvo	4
2.1.2	Integrirano kmetijstvo	4
2.1.3	Ekološko kmetijstvo	5
2.1.3.1	Zgodovina ekološkega kmetijstva	6
2.1.3.2	Določila ekološkega kmetijstva	7
2.1.3.3	Označevanje in certificiranje	9
2.1.4	Primerjave med ekološkim in konvencionalnim kmetijstvom	11
2.2	ANALIZA STANJA EKOLOŠKEGA KMETIJSTVA V SLOVENIJI	
	SKOZI LETA	12
2.3	ZELENJADARSTVO	14
2.3.1	Pridelava in poraba zelenjave v Sloveniji	15
2.4	SADJARSTVO	17
2.4.1	Pridelava sadja v Sloveniji	17
2.5	ANTIOKSIDANTI	18
2.5.1	Antioksidanti v sadju in zelenjavi	19
2.5.2	Antioksidativna učinkovitost	20
2.5.3	Metode za določanje antioksidantov	21

2.5.3.1	ORAC (angl. Oxygen Radical Absorbance Capacity) metoda	21
2.5.3.2	Določanje antioksidativne učinkovitosti z β -karotenom	21
2.5.3.3	Indirektna metoda z radikalom DPPH	21
2.5.3.4	TEAC (angl. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay) metoda	22
2.5.3.5	FRAP (angl. Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) metoda	23
2.6	FENOLNE SNOVI	23
2.6.1	Delitev fenolnih snovi	23
2.6.2	Vloga fenolov v sadju in zelenjavi	26
2.6.3	Metode za določanje fenolnih spojin	27
2.7	IZOTOPI DUŠIKA IN OGLJIKA V OKOLJU	28
2.7.1	Kroženje dušika	28
2.7.2	Kroženje ogljika	29
2.7.3	Povezava med ogljikom in dušikom	30
2.7.4	Stabilni izotopi	31
2.7.5	Frakcionacija	32
2.7.6	Stabilni izotopi dušika	32
2.7.6.1	Uporaba meritev stabilnih izotopov dušika	34
2.7.7	Stabilni izotopi ogljika	36
2.7.8	Metoda za določanje izotopskega razmerja (IRMS)	37
2.8	ELEMENTNA SESTAVA SADJA IN ZELENJAVE	38
2.8.1	Razlike med vsebnostjo elementov glede na način kmetovanja	39
2.8.2	Metoda za določanje vsebnosti elementov - Energijsko disperzijska rentgenska fluorescenčna spektrometrija (EDXRF)	41
3	MATERIAL IN METODE	43
3.1	VZORCI	43
3.1.1	Zbiranje vzorcev	43
3.2	METODE DELA	44
3.2.1	Priprava vzorcev	44
3.2.2	Določanje antioksidativne učinkovitosti	46
3.2.2.1	Meritev antioksidativne učinkovitosti frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov (AOPea)	47
3.2.2.2	Merjenje polarne AOP	48

3.2.3	Določanje skupnih fenolov (Folin-Ciocalteu metoda)	50
3.2.4	Določanje deleža ogljikovih in dušikovih izotopov	53
3.2.5	Določanje vsebnosti mineralov s pomočjo EDXRF	54
3.2.5.1	Priprava vzorcev	54
3.2.5.2	Postopek	54
3.2.6	Statistična analiza podatkov	55
4	REZULTATI	56
4.1	OSNOVNA STATISTIKA	56
4.1.1	Antioksidativna učinkovitost	56
4.1.1.1	Antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov	56
4.1.1.2	Polarna antioksidativna učinkovitost	58
4.1.2	Vsebnost skupnih fenolov	59
4.1.3	Vrednosti izotopske sestave ogljika in dušika	60
4.1.4	Elementna sestava	62
4.1.4.1	Vsebnost fosforja in žvepla	62
4.1.4.2	Vsebnost kalcija in kalija	63
4.1.4.3	Vsebnost klora	64
4.2	KORELACIJE	65
4.2.1	Korelacije med AO_{Pea}, polarnima AOP in skupnimi fenoli	66
4.2.2	Korelacije med vrednostma $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter vsebnostjo elementov	71
4.2.2.1	Korelacije med meritvami AOP in skupnimi fenoli, vrednostmi $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter vsebnostmi elementov	77
4.3	OCENA RAZLIK PO PRIDELKIH	89
4.3.1	Antioksidativna učinkovitost	90
4.3.2	Skupni fenoli	94
4.3.3	Stabilni izotopi ogljika in dušika	94
4.3.4	Vsebnost elementov	97
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	102
5.1	RAZPRAVA	102
5.1.1	Antioksidativna učinkovitost sadja in zelenjave	103
5.1.2	Skupne fenolne spojine	107
5.1.3	Stabilni izotopi ogljika in dušika	109

5.1.4	Elementna sestava	110
5.2	SKLEPI	113
6	POVZETEK (SUMMARY)	114
6.1	POVZETEK	114
6.2	SUMMARY	117
7	VIRI	122

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

str.

Preglednica 1: Skupno število ekoloških kmetij in obdelovalnih površin v Sloveniji po letih (MKO, 2014a)	12
Preglednica 2: Razredi fenolnih komponent v rastlinah (Balasundram in sod., 2006)	24
Preglednica 3: Priporočene vrednosti vnosa elementov (Referenčne...., 2004)	39
Preglednica 4: Razredčitve vzorcev	49
Preglednica 5: Primerne razredčitve vzorcev za določanje skupnih fenolov	52
Preglednica 6: Osnovni statistični parametri za antioksidativno učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov (AOPea) po skupinah pridelkov glede na način pridelave	57
Preglednica 7: Osnovni statistični parametri za polarno AOP po skupinah pridelkov glede na način pridelave	58
Preglednica 8: Osnovni statistični parametri za vsebnost skupnih fenolov (SF) po skupinah pridelkov glede na način pridelave	60
Preglednica 9: Osnovni statistični parametri za vrednosti izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) in dušika ($\delta^{15}\text{N}$) po skupinah pridelkov glede na način pridelave.....	61
Preglednica 10: Osnovni statistični parametri za vsebnost fosforja (P) in žvepla (S) po skupinah pridelkov glede na način pridelave	63
Preglednica 11: Osnovni statistični parametri za vsebnost kalcija (Ca) in kalija (K) po skupinah pridelkov glede na način pridelave	64
Preglednica 12: Osnovni statistični parametri za vsebnost klora (Cl) po skupinah pridelkov glede na način pridelave.....	65
Preglednica 13: Ocenjeni korelacijski koeficienti med pari vrednosti za antioksidativno učinkovitost in vsebnost skupnih fenolov.....	66
Preglednica 14: Ocenjeni korelacijski koeficienti med pari vrednosti izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$) in ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) ter elementne sestave.....	71
Preglednica 15: Ocenjeni korelacijski koeficienti med vrednostmi antioksidativne učinkovitosti in skupnih fenolov ter vsebnostjo elementov in vrednostma izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$) in ogljika ($\delta^{13}\text{C}$).....	78

KAZALO SLIK

str.

Slika 1:	Uradni slovenski državni zaščitni znak (a) in znaka evropske unije (b) za označevanje ekoloških živil (Označevanje..., 2006)	9
Slika 2:	Znak Zveze združenj ekoloških kmetov Slovenije (a) in mednarodni zaščitni znak za živila (b), proizvedena po biološko-dinamični metodi ekološkega kmetovanja (Označevanje..., 2006)	10
Slika 3:	Logotipi kontrolnih organizacij za ekološko kmetijstvo v Sloveniji (Označevanje..., 2006).....	10
Slika 4:	Osnovne razlike med ekološkim in konvencionalnim kmetijstvom (Løes, 2003).....	12
Slika 5:	Delež obdelovalnih površin v Sloveniji za leto 2013, po skupinah kultur v ekološki pridelavi (MKO, 2014a).....	13
Slika 6:	Skupna površina ekoloških sadovnjakov in vrtnin v Sloveniji po letih (MKO, 2014a)	14
Slika 7:	Stopnja samooskrbe po vrstah kmetijskih proizvodov (SURs, 2013)	15
Slika 8:	Pridelava in poraba zelenjave v Sloveniji v letih 2008-2012 (SURs, 2013).....	16
Slika 9:	Pridelava sadja v Sloveniji po letih (SURs, 2014).....	18
Slika 10:	Model referenčne reakcije DPPH (DPPH in Trolox) (Litescu in sod., 2010).....	22
Slika 11:	Struktura glavnih skupin flavonoidov (Balasundram in sod., 2006).....	25
Slika 12:	Kroženje dušika (Oulton, 2014)	29
Slika 13:	Kroženje ogljika (NACD, 2014)	30
Slika 14:	Vrednosti izotopske sestave dušika in kisika v različnih okoljih (Pezdič, 1999).....	33
Slika 15:	Razlike v vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v vodnih virih glede na način gnojenja (Fogg in sod., 1998)	34
Slika 16:	Povprečno povečanje vsebnosti elementov ekoloških pridelkov glede na konvencionalne (Worthington, 2001).....	40

Slika 17: Princip delovanja rentgenske fluorescenčne spektrometrije (Humphrey in sod., 2013)	42
Slika 18: Zbiranje vzorcev	45
Slika 19: Priprava vzorcev za merjenje antioksidativne učinkovitosti	46
Slika 20: Priprava vzorcev za določanje skupnih fenolov	51
Slika 21: Povezanost med polarnima antioksidativnima učinkovitostma, izmerjenima po 30 (AOPmet30) in 75 (AOPmet75) minutah.....	67
Slika 22: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo skupnih fenolov	68
Slika 23: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), in vsebnostjo skupnih fenolov	69
Slika 24: Povezanost med antioksidativnima učinkovitostma frakcij v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjenima po 30 (AOPea30) in 90 (AOPea90) minutah	70
Slika 25: Povezanost med vrednostjo izotopov ogljika $\delta^{13}\text{C}$ in vsebnostjo žvepla	72
Slika 26: Povezanost med vrednostjo izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) in vsebnostjo kalcija	73
Slika 27: Povezanost med vrednostjo izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$) in vsebnostjo fosforja	74
Slika 28: Povezanost med vsebnostma žvepla in fosforja	75
Slika 29: Povezanost med vsebnostma žvepla in kalcija	76
Slika 30: Povezanost med vsebnostma kalija in klorida	77
Slika 31: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vrednostjo izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$)	79
Slika 32: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$).....	80
Slika 33: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo fosforja.....	81
Slika 34: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo kalcija.....	82
Slika 35: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo kalija	83
Slika 36: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), in vrednostjo izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$)	84

Slika 37: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), in vsebnostjo kalcija.....	85
Slika 38: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), in vsebnostjo kalija	86
Slika 39: Povezanost med antioksidativno učinkovitostjo frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjeno po 90 minutah (AOPea90) in vsebnostjo fosforja.....	87
Slika 40: Povezanost med antioksidativno učinkovitostjo frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjeno po 90 minutah (AOPea90) in vsebnostjo žvepla.....	88
Slika 41: Povezanost med antioksidativno učinkovitostjo frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjeno po 90 minutah (AOPea90) in vsebnostjo kalija	89
Slika 42: Ocene LSM za antioksidativno učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjene po 30 minutah (AOPea30), interakcije pridelka in načina pridelovanja.....	90
Slika 43: Ocene LSM za antioksidativno učinkovitost reakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjene po 90 minutah (AOPea90), interakcije pridelka in načina pridelovanja.....	91
Slika 44: Ocene LSM za polarno antioksidativno učinkovitost, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), interakcije pridelka in načina pridelovanja.....	92
Slika 45: Ocene LSM za polarno antioksidativno učinkovitost, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), interakcije pridelka in načina pridelovanja.....	93
Slika 46: Ocene LSM za vsebnost skupnih fenolov (SF), interakcije pridelka in načina pridelovanja.....	94
Slika 47: Primerjava vrednosti izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) po pridelkih in načinu pridelave	95
Slika 48: Primerjava vrednosti izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$) po pridelkih in načinu pridelave	96
Slika 49: Primerjava vsebnosti fosforja (P) po pridelkih in načinu pridelave	97
Slika 50: Primerjava vsebnosti žvepla (S) po pridelkih in načinu pridelave	98
Slika 51: Primerjava vsebnosti kalcija (Ca) po pridelkih in načinu pridelave.....	99

Slika 52: Primerjava vsebnosti kalija (K) po pridelkih in načinu pridelave.....	100
Slika 53: Primerjava vsebnosti klora (Cl) po pridelkih in načinu pridelave.....	101

KAZALO PRILOG

- PRILOGA A: Vrednosti antioksidativne učinkovitosti frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov po vrstah pridelkov in načinu pridelave, izmerjene po 30 in 90 minutah
- PRILOGA B: Vrednosti polarne antioksidativne učinkovitosti po vrstah pridelkov in načinu pridelave, izmerjene po 30 in 75 minutah
- PRILOGA C: Meritve skupnih fenolnih snovi po vrstah pridelkov in načinu pridelave
- PRILOGA D: Meritve izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) in dušika ($\delta^{15}\text{N}$) po vrstah pridelkov in načinu pridelave
- PRILOGA E: Vsebnosti elementov po vrstah pridelkov in načinu pridelave
- PRILOGA F: Seznam sort, ki so bile vključene v poskus in leto pridelave

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AOP	antioksidativna učinkovitost
AOP _{met30}	polarna antioksidativna učinkovitost izmerjena po 30 minutah
AOP _{met75}	polarna antioksidativna učinkovitost izmerjena po 75 minutah
AOP _{ea30}	antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov izmerjena po 30 minutah
AOP _{ea90}	antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov izmerjena po 90 minutah
C3 rastline	rastline, ki ogljikove spojine sintetizirajo preko Calvinovega cikla
C4 rastline	rastline, ki ogljikove spojine sintetizirajo preko Hatch-Slackovega cikla
CAM rastline	rastline, ki za pridobivanje sladkorjev uporabljajo CAM (angl. Crassulacean Acid Metabolism) cikel
DPPH	stabilni prosti radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
F.C.	Folin-Ciocalteujev reagent
IRMS	masna spektrometrija za merjenje izotopskih razmerij lahkih izotopov (angl. Isotope Ratio Mass Spectrometry)
LSM	ocenjena vrednost izračunana po metodi najmanjših kvadratov (angl. Least Square Means)
SF	skupne fenolne spojine
EDXRF	energijsko disperzijska rentgenska fluorescenčna spektrometrija (angl. Energy dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry)
$\delta^{13}\text{C}$	relativna razlika v vsebnosti stabilnega izotopa ogljika ^{13}C med vzorcem in standardom, izražena v ‰
$\delta^{15}\text{N}$	relativna razlika v vsebnosti stabilnega izotopa dušika ^{15}N med vzorcem in standardom, izražena v ‰

1 UVOD

Osveščenost o sonaravnosti je tako po svetu kot v Sloveniji čedalje večja. Vse bolj ljudje označujejo ekološko hrano in način obdelovanja zemlje kot zdravo in se hkrati zavedajo, da s prekomerno uporabo pesticidov in mineralnih gnojil onesnažujejo okolje. Kljub povečanju števila ekoloških kmetij se ponudba njihovih izdelkov na trgu ne povečuje sorazmerno.

Ne glede na vedno več informacij in višjo stopnjo izobraženosti kot nekoč, se velika večina obdelovalcev kmetijskih površin odloča za uporabo okolju škodljivih snovi. Večina potrošnikov stremi k lepemu izdelku in nizki ceni, medtem ko je kakovost zanemarjena. Tako imajo danes potrošniki na voljo polne police prehrabnih proizvodov iz različnih koncev sveta. Njihova cena je navadno nižja od domačih proizvodov, kar vodi v slabo prodajo domačih proizvodov in temu posledično sledi propadanje domačih proizvajalcev.

Radi bi jedli bolj zdravo, a se pri izbiri večkrat zatakne. Ponudbo ekološke hrane zasledimo že v vsakem večjem trgovskem centru, vendar nas lahko zmedejo različne oznake, katere naj bi zagotavljale ekološko poreklo živil. Če na izdelku ne zasledimo uzakonjenih znakov, ki potrjujejo ekološko živilo, gre v veliko primerih za zavajanje kupcev.

Za ugotavljanje pristnosti ekološko pridelane hrane se uporablja nekatere osnovne kemijske analize, ki sicer pokažejo razlike v sestavi. Rezultati teh analiz niso dovolj dobri kazalniki in ne omogočajo zanesljivega razlikovanja med ekološko in konvencionalno pridelano hrano.

Pristnost ekološko pridelanega sadja in zelenjave je, po rezultatih raziskovalcev, mogoče ugotoviti z analizo deleža stabilnega izotopa ^{15}N v njihovem tkivu, saj različni tipi gnojil, ki se uporabljajo v konvencionalnem in ekološkem kmetijstvu, privedejo do različne izotopske sestave rastlin. Rezultati študij kažejo, da iz analize enega samega vzorca rastline še ne moremo z gotovostjo trditi, ali gre za ekološko ali konvencionalno pridelano rastlino, vendar so statistično obdelani rezultati dober kazalnik pri ugotavljanju zamenjave ekološko pridelanih živil z živil iz konvencionalne pridelave.

Dejstvo je, da gre v življenju večina stvari mimo nas in le hrana je tista, ki gre skozi nas. Zato je pravilno, da nam je njen izvor poznan in da nismo tarče zavajanj.

1.1 NAMEN DELA

Povpraševanje po ekološko pridelanih živilih se povečuje, prav tako se povečuje število afer, ki nakazujejo na potvorbe ekoloških živil.

Do sedaj uporabljene metode za razlikovanje med ekološko in konvencionalno pridelanimi živilami temeljijo predvsem na kemijskih analizah sestavin in določanju morebitno prisotnih fitofarmacevtskih sredstev.

Pri spremljanju tuje literature smo ugotovili, da so se analitske metode za določanje prostih radikalov pokazale kot dovolj natančne za ločevanje med ekološkimi živilami in živilami, pridelanimi na konvencionalen način.

V do sedaj objavljeni literaturi smo zasledili le analize za posamezne vrste sadja in zelenjave. Z našo študijo želimo preveriti, ali se razlike med živilami, pridelanimi na ekološki in konvencionalni način, kažejo tudi, ko v analizo zajemamo večje število različnih vrst sadja, zelenjave in zelišč.

Predstavljena študija bo dala vpogled v prednosti analiz stabilnih izotopov dušika in ogljika pri ločevanju ekološko in konvencionalno pridelanih živil v Sloveniji. Razlike bomo iskali tudi iz rezultatov, vsebnosti antioksidantov in skupnih fenolov ter mineralni sestavi živil.

Zbiranje vzorcev in spremljanje poskusa je trajalo dve leti (2012-2013). Prvo leto smo oblikovali svojo gredico, vendar zaradi vremenskih ujm, ki so leta 2012 pestile celotno Slovenijo, nismo uspeli pridelati vseh zelenih vzorcev. Manjkajoče vzorce smo naslednje leto zbirali neposredno pri ekoloških oziroma konvencionalnih kmetih iz Slovenije. Dokaz za pristnost ekoloških izdelkov je bil certifikat. Na zbranih vzorcih smo opravili sledeče analize:

- spektrofotometrično določanje antioksidativne učinkovitosti za polarne in nepolarne antioksidante z metodo DPPH,
- določanje skupnih fenolnih spojin s Folin-Ciocalteu metodo,
- za določanje vsebnosti ogljikovih ($\delta^{13}\text{C}$) in dušikovih ($\delta^{15}\text{N}$) izotopov smo uporabili metodo IRMS,
- rentgenska fluorescentna spektrometrija (XRF) je bila uporabljena za analizo elementov v sadju in zelenjavi,

- statistično analizo rezultatov z namenom poiskati ali obstajajo statistično značilne razlike med načini pridelovanja ter obstoj korelacij med obravnavanimi parametri.

1.2 RAZISKOVALNE HIPOTEZE

Veliko je govora o tem, da se konvencionalni in ekološki izdelki med seboj ločijo ne le po izgledu in hektarskemu donosu, pač pa tudi po kakovosti. Zaradi navedenega smo za naš poskus postavili sledeče hipoteze:

- Ekološka živila, dostopna na slovenskem tržišču, se od konvencionalno pridelanih živil ločijo po kvalitativnih lastnostih.
- Na osnovi rezultatov klasičnih kemijskih analiz ne moremo z gotovostjo ločiti med ekološko in konvencionalno pridelanimi živili.
- Ekološke pridelke je možno ločiti od konvencionalnih na osnovi antioksidativne učinkovitosti in vsebnosti skupnih fenolov.
- Razliko med ekološkimi in konvencionalnimi živili je možno dodatno potrditi na podlagi rezultatov analiz o vsebnosti izotopov dušika.

2 PREGLED OBJAV

2.1 VRSTE KMETIJSTVA V SLOVENIJI

Kmetijstvo ali agrikultura je ena osnovnih in prvotnih človekovih dejavnosti. V zadnjem obdobju se pojavljajo novi načini kmetovanja. Na slovenski zemlji so v uporabi trije različni načini kmetovanja: konvencionalno, integrirano in ekološko (Bavec in sod., 2009).

2.1.1 Konvencionalno kmetijstvo

Konvencionalno kmetijstvo je danes tehnološko specializirano ter kemično in kapitalsko zelo intenzivno. To se odraža v onesnaževanju voda, slabšanju strukture prsti, zmanjšanju biotske raznolikosti ter zmanjševanja zalog neobnovljivih fosilnih goriv, ki predstavljajo surovino za mineralna gnojila (Francis, 1990).

V konvencionalnem načinu pridelovanja prevladuje pretežno monokulturno pridelovanje. V kolikor se pridelovalci poslužujejo uporabe kolobarjev, so ti v večini preveč ozki, s premalo različnimi kulturami, in dober krogotok hranil ni zagotovljen. Prav tako se pojavita zapleveljenje in erozija tal (Bavec in Slekovec, 2003).

S tem načinom pridelovanja v prehransko verigo vnesemo onesnaževala, kot so nitrati, pesticidi, antibiotiki, rastni hormoni in drugo (Rembalkowska, 2007).

2.1.2 Integrirano kmetijstvo

Integrirana pridelava je neke vrste srednja pot med konvencionalnim in ekološkim kmetijstvom. Nekateri avtorji poleg ekološkega tudi integrirano kmetijstvo uvrščajo v paradigmo trajnostnega kmetijstva (Bavec in sod., 2009). Zaradi dovoljene uporabe kemičnih sredstev (pesticidi, herbicidi, mineralna gnojila itd.) integrirano pridelavo težko označimo za naravi prijazen način kmetovanja. To potrjujejo tudi rezultati študije, ki kažejo izrazitejše negativne vplive na okolje pri integrirani pridelavi v primerjavi z ekološkim načinom kmetovanja (Pacini in sod., 2003).

Glavni cilji integrirane pridelave so nadzorovana uporaba gnojil in fitofarmacevtskih sredstev. Za pridelavo zelenjave je prepovedana celoletna nepokritost tal, uporaba herbicidov v zaščitnih prostorih, kemično razkuževanje tal v zaščitnih prostorih in odprt sistem hidroponskega pridelovanja zelenjave v zaščitnih prostorih, obvezna je tudi

vzpostavitev kolobarja. Poleg navedenega ima organsko gnojenje prednost pred mineralnim. Izvajajo pa se tudi obvezne analize tal (MKO, 2014b).

Pri pridelovanju sadja mora biti število dreves sadnih vrst najmanj 200/ha. Lega mora biti ustrezna zahtevam posameznih sadnih vrst in sort. Za kemično varstvo rastlin lahko pridelovalec uporablja le fitofarmacevtska sredstva, ki so registrirana v Sloveniji. Tudi pri pridelovanju sadja mora pridelovalec skrbeti za manjši krogotok hranil in pokošeno travo pustiti na travnih površinah okoli dreves (MKO, 2014c).

Priporočeno je opuščanje monokultur ter poleg gnojenja z mineralnimi gnojili tudi uporaba organskih gnojil. Pri gnojenju je pomembna odločitev o času in količini uporabe organskih in mineralnih gnojil glede na analizo tal in videz posevka (Kocjan Ačko, 2000).

2.1.3 Ekološko kmetijstvo

Ekološko kmetijstvo je kmetijski sistem, ki si prizadeva potrošnike preskrbeti z okusnimi in pristnimi izdelki, ob tem pa spoštuje sisteme naravnih življenjskih ciklov (Bavec in sod., 2001). Uporaba kemijskih sredstev za varstvo rastlin, mineralnih gnojil, razkuženih semen in gensko spremenjenih organizmov (GSO) ni dovoljena. V ekološki živinoreji je poleg naštetega prepovedana uporaba preventivnih veterinarsko-medicinskih izdelkov in hormonov (ANEK ..., 2006).

Ta oblika kmetovanja ima poudarek na gospodarjenju v sožitju z naravo. Gre za trajnostno kmetovanje, ki temelji na ravnovesju tla-rastline-žival-človek in skrbi za ravnovesje vseh vključenih elementov. Poudarek je na ohranjanju rodovitnosti tal z večanjem deleža humusa in uporabo organskih gnojil. Poleg tega ima glavni pomen ohranjanje genetske pestrosti, usmerjenost k čim bolj zdravim in odpornim rastlinam in živalim ter gojenju tistih vrst in pasem, ki so v določenem okolju tradicionalne in so s tem najbolj prilagojene na dane razmere tistega območja. V biološkem kmetijstvu ločimo tri osnovne oblike oziroma smeri:

- organsko - biološko oziroma ekološko kmetovanje,
- kmetovanje po biološko - dinamični metodi,
- permakultura.

Razlika je v posameznih kmetijskih praksah, cilji so pri vseh načinih enaki. Tudi z vidika terminologije se za ta način kmetovanja uporabljajo različni izrazi. V Sloveniji

uporabljamo izraz ekološko kmetijstvo, za živila sta v uporabi dva termina: biološka živila in ekološka živila, za kar se pogosto uporabljajo kratice BIO in EKO (Bavec in sod., 2001).

Za zdravje prebivalstva pomen ekološkega kmetijstva ni zanemarljiv. Vedno več študij namreč dokazuje, da so ekološka živila bolj naklonjena zdravju in imajo višjo prehransko vrednost v primerjavi s konvencionalnimi. Pomemben vidik je omejena dovoljena uporaba aditivov, ki je kar desetkrat manjša od dovoljenih v konvencionalni predelavi živil. Velika večina bioloških živil ima tudi veliko bolj izrazit in poln okus ter vonj (Weibel in sod., 2000; Brandt in Molgaard, 2001; Zhao in sod.; 2006; Bavec M. in Bavec F., 2007).

Številni avtorji (Worthington, 2001; Wszelaki in sod., 2005; Citak in Sonmez, 2009; Roussos in Gasparatos, 2009) so v raziskavah preverjali in potrdili mnenje zagovornikov ekoloških izdelkov, da so ekološka živila bolj bogata z vitamini in minerali. Do razhajanja v vsebnosti teh pomembnih snovi je prišlo pri različnih vrstah sadja in zelenjave. Vsebnosti nekaterih elementov (Fe, Mn) so bile večje pri konvencionalnih izdelkih, velika skupina drugih elementov (K, Mg, S, Cu, Ca) pa je višje vsebnosti dosegala pri ekoloških izdelkih. Mnoge sestavine so nepogrešljive za normalno delovanje človeškega organizma. Ena od njih je tudi vitamin C, katerega človek ne more sintetizirati sam. Ko so v raziskavah določali vsebnost vitamina C, se je izkazalo, da so ga ekološko pridelana živila vsebovala več kot živila, pridelana na konvencionalen način (Woese in sod., 1997; Worthington, 2001; Ismail in sod., 2004).

Ekološki pridelovalci so navadno mlajši, bolj izobraženi in bolj usposobljeni. V ta način kmetovanja je vključenih več žensk kot moških. Dolgoročni cilj do leta 2025 je obrniti migracijo iz mest nazaj na podeželje in prav ekološka pridelava prispeva k razvoju podeželja in diverzifikaciji dejavnosti z razvojem turizma. Ta način kmetovanja bo postal vodilna sila razvoja na podeželju, saj se povpraševanje po visoko kakovostnih živilih z dodano vrednostjo na trgu iz leta v leto povečuje (Niggli in sod., 2008).

2.1.3.1 Zgodovina ekološkega kmetijstva

Za začetnika ekološkega kmetijstva se šteje Rudolf Steiner, ki je leta 1921 organiziral »Poljedelski tečaj« za velike kmetovalce v Nemčiji, na katerem je opozoril na resne posledice uporabljanja kemičnih sredstev, umetnih gnojil in škropiv v poljedelstvu ter nespoštovanje naravnih ciklov v kmetijstvu, ki se je vse bolj industrializiralo. Pričel s

posebno vejo ekološkega kmetijstva: biološko-dinamična metoda (Bavec in sod., 2001). Začetki v Sloveniji segajo v pozna osemdeseta leta prejšnjega stoletja. Ponekod v Evropi (Nemčija, Finska, Avstrija) korenine ekološkega kmetovanja segajo že v leto 1920 (Grešak, 2008). Pravi razcvet je ekološko kmetijstvo v Evropi doseglo v devetdesetih letih. Od leta 1985 do 1999 je na tem območju število kmetij naraslo od 6.300 na skoraj 130.000 s 3,3 milijona ha obdelovalnih površin (Padel, 2001).

Tate (1994) razdeli razvoj ekološkega kmetijstva na tri glavna obdobja:

- obdobje od leta 1924 in 1970 je zaznamovano z bojem za utemeljevanje ekološkega kmetijstva zaradi sovražnega odnosa do okolja; v tem času so bila napisana tudi temeljna dela,
- obdobje med letoma 1970 in 1980 je čas okoljske ozaveščenosti, pride tudi do povpraševanja po ekoloških izdelkih,
- po letu 1980 dobi ekološko kmetijstvo večje priznavanje in veljavo in vzpostavijo se nacionalni in mednarodni standardi.

Leta 1992 je bilo v Sloveniji ustanovljeno društvo Ajda, ki se zavzema za uveljavitev biodinamičnega kmetovanja. Leta 1997 so bila pripravljena »Priporočila za ekološko kmetovanje«. Leta 1999 je bila ustanovljena Zveza združenj ekoloških kmetov Slovenije, kar je za ekološko kmetijstvo v Sloveniji pomenilo velik prelom. Že naslednje leto so dobile certifikate prve ekološke kmetije in s tem dobile pravico do uporabe blagovne znamke BIODAR. Z vstopom Slovenije v EU (leta 2004) je pričela za Slovenijo veljati uredba (Uredba ..., 1991) »Uredba o ekološki pridelavi kmetijskih proizvodov in označevanju tovrstno pridelanih kmetijskih proizvodov in živil« (Grešak, 2008).

Po zadnjih podatkih se danes na svetu kmetuje na ekološki način na okoli 31 milijonov ha zemljišč. Največji obseg površin ima Avstralija, ki zajema kar 12 milijonov ha. Številčno je v svetu največ ekoloških kmetij v Mehiki (120.000). V Evropski uniji je površin z ekološkim kmetovanjem 6,5 milijonov ha, pri čemer vodi Italija z 1,1 milijona ha površin. Slovenija ime le-teh nekaj manj kot 30.000 ha, kar predstavlja 6 % vseh obdelovalnih površin s približno 2.000 ekološkimi kmetijami (Yussefi, 2006).

2.1.3.2 Določila ekološkega kmetijstva

Začetni standardi so bili postavljeni bolj v obliki priporočil kot prepovedi ali določil (Vogl in sod., 2005).

Z naraščanjem povpraševanja po ekološko pridelani hrani in številu ekoloških kmetovalcev se je pojavila potreba po določitvi standardov, pravil in nadzora. Leta 1972 je bila za te namene ustanovljena Mednarodna zveza gibanj za ekološko kmetijstvo (IFOAM). Deset let kasneje so bili sprejeti še »Temeljni standardi za ekološko kmetijstvo in predelavo živil«. Z uredbo (Uredba ..., 1991) iz leta 1991 so bile postavljene pravne podlage za ekološko kmetijstvo v EU. Kontrola s tem ni bila več v domeni združenja ekoloških kmetov, pač pa so jo začele izvajati neodvisne akreditirane organizacije (Bavec M. in Bavec F., 2007).

Leta 2008 je bila sprejeta nova uredba, ki je v veljavo stopila januarja 2009. Pravila o ekološki pridelavi so v večini ostala nespremenjena, zmanjšalo se je število odstopanj in postavili so strožja merila na nivoju regionalne prilagodljivosti (Uredba ..., 2007).

Poleg uredbe je moral ekološki kmet upoštevati tudi »Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil«. Ta zajema tako rastlinsko pridelavo, nabiranje prosto rastočih rastlin, živinorejo, čebelarstvo, ribogojstvo, kot tudi predelavo, pravilno označevanje ekoloških pridelkov oz. živil kot tudi sistem kontrole (Pravilnik ..., 2006).

Kmetovalci, ki želijo svoje proizvode prodajati kot ekološke, morajo biti vključeni v sistem kontrole, to pa pomeni redne preglede in certifikacijo. To je tudi glavna skupna značilnost ekološkega kmetijstva v Evropi. S takim pristopom se utrjuje zaupanje pri porabnikih, saj se s kontrolo zagotavlja verodostojnost ekoloških proizvodov (Bavec in sod., 2001).

Ekološko kmetijstvo se od drugih načinov pridelave in samih postopkov predelave razlikuje zaradi določenih pomembnih omejitev predvsem pri uporabi sredstev, ki so naravi tuja (Bavec in sod., 2001). Izpostavimo lahko sledeče:

- ☞ uporaba kemično sintetičnih sredstev za varstvo rastlin,
- ☞ uporaba razkuženega semena,
- ☞ uporaba lahkotopnih gnojil,
- ☞ uporaba sintetičnih in farmakoloških dodatkov (kokcidostatiki, hormoni) v krmilih,
- ☞ uporaba gensko spremenjenih organizmov (GSO),
- ☞ uporaba preventivnega zdravljenja živali s kemoterapevtiki,
- ☞ uporaba živalim neustrezne – neprilagojene reje (kokoši v kletkah, vezana reja).

Z letom 2010 je v veljavo stopil nov pravilnik »Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil« (Pravilnik ..., 2010).

2.1.3.3 Označevanje in certificiranje

Ekološki pridelki oziroma živila so označena enotno z označbo »ekološki«. Ekološki kmetijski pridelki oziroma živila, pridelana v Sloveniji, morajo biti označeni z enotno označbo »ekološki« ter s predpisanim znakom v skladu s predpisi o znaku za označevanje kmetijskih pridelkov oziroma živil (slika 1). Ekološka živila so označena s kodo nadzorne organizacije, ki je v Sloveniji SI-____-EKO. Dovoljene so tudi dodatne označbe, kot je biološko ali biodinamično, a le pod pogojem, da je pridelava in predelava v skladu s pravilnikom »Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil« (Pravilnik ..., 2010).



a)



b)



Slika 1: Uradni slovenski državni zaščitni znak (a) in znaka evropske unije (b) za označevanje ekoloških živil (Označevanje..., 2006)

Figure 1: The official Slovenian national (a) and EU organic certification labels (b) (Označevanje..., 2006)

Poleg uradnih oznak poznamo še zasebne blagovne znamke. V Sloveniji je najbolj poznana znamka Biodar, ki je najbolj razširjena blagovna znamka za ekološka živila slovenskega porekla in je hkrati tudi znak Zveze združenj ekoloških kmetov Slovenije. Demeter je mednarodna blagovna znamka za ekološke pridelke oziroma živila, ki so pridelana in predelana po biološko-dinamični (biodinamični) metodi (ANEK..., 2006).



a)



b)

Slika 2: Znak Zveze združenj ekoloških kmetov Slovenije (a) in mednarodni zaščitni znak za živila (b), proizvedena po biološko-dinamični metodi ekološkega kmetovanja (Označevanje..., 2006)

Figure 2: The union of Slovenian Organic Farmers Association symbol (a) and the international guaranteed quality symbol for foods (b) produced by bio-dynamic organic farming (Označevanje..., 2006)

Označevanje ekoloških pridelkov in izdelkov oziroma živil, ki zagotavlja sledenje proizvodnemu procesu »od polja do mize«, je v Sloveniji po zakonodaji obvezno. Ekološko živilo je prepoznavno po zaščitnem znaku, deklaraciji ali, če ni pakirano v posebni embalaži, priloženem certifikatu. Vsebovati mora najmanj 95 % proizvoda, pridelanega v skladu z Uredbo EU 2092/91, kar pomeni, da surovine niso bile obdelane z nedovoljenimi snovmi, brez ionizirajočega sevanja ter brez gensko spremenjenih organizmov (GSO).

V Sloveniji kontrolo pridelave in predelave ekoloških pridelkov oziroma živil opravljajo tri (s strani Evropske skupnosti) akreditirane kontrolne organizacije (Grešak, 2008; slika 3):

- Inštitut za kontrolo in certifikacijo v kmetijstvu Univerze v Mariboru
- Inštitut za kontrolo in certifikacijo v kmetijstvu in gozdarstvu Maribor
- Bureau Veritas, d.o.o., Ljubljana



Slika 3: Logotipi kontrolnih organizacij za ekološko kmetijstvo v Sloveniji (Označevanje..., 2006)

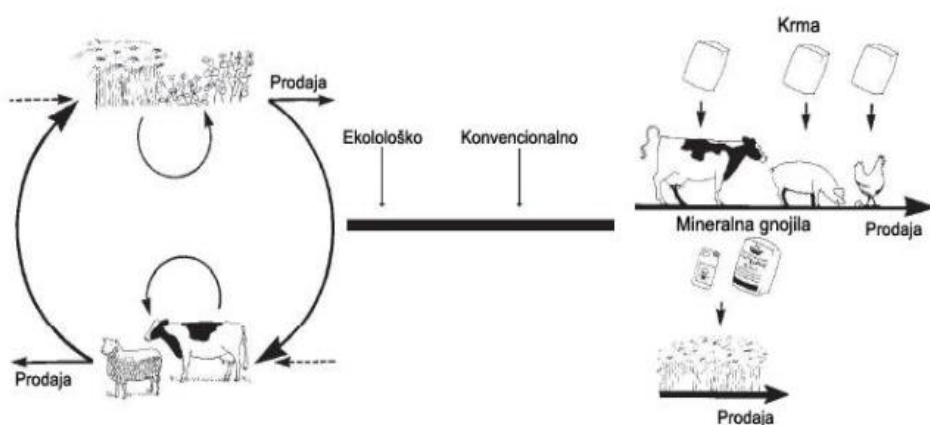
Figure 3: Logos of Slovenia organic farming inspection services (Označevanje..., 2006)

2.1.4 Primerjave med ekološkim in konvencionalnim kmetijstvom

Medtem, ko se konvencionalno kmetijstvo poslužuje kmetijske prakse, kjer je dovoljeno uporabljati vsa registrirana kemična sredstva za izboljšanje rasti in zatiranje neželenih plevelov, ekološko kmetijstvo ne predvideva uporabe topnih mineralnih gnojil, umetnih sredstev za zatiranje bolezni in herbicidov in zato zahteva dobro poznavanje odnosov med organizmi in vplivi na okolje. Ekološko kmetijstvo oblikujejo tako prednosti kot pomanjkljivosti, med katerimi so še posebej izpostavljeni manjši pridelek in višji pridelovalni stroški. Nasprotno omenjenim slabostim sta boljša kakovost in višje cene protiutež navedenim dejavnikom (Bavec in sod., 2001).

Konvencionalno kmetijstvo predstavlja veliki pridelki prikupnega videza. Je tehnološko specializirano ter tako kapitalsko kot kemično zelo intenzivno. Posledično negativno vpliva na okoljske vire. Zaradi kemičnih pripravkov pride do onesnaženja okolja, poruši se naravni krogotok. V konvencionalnem kmetijstvu prevladujejo monokulture, čeprav je v zadnjem času možno zaslediti, da se na slovenskih tleh tudi konvencionalni kmetje poslužujejo kolobarjenja. S porušenim ravnotežjem namreč nastaja vedno več škodljivih dejavnikov in hrana postaja biološko osiromašena (Bavec in sod., 2001).

Ekološko načelo določa ohranjanje in povečanje rodovitnosti in biološke dejavnosti prsti. Uporabljajo naj se lokalno prilagojene kulturne, biološke in mehanske metode, ki so trajnostne. Kmetijske zemlje se po tem prepričanju ne bi smelo uporabljati pasivno, temveč rodovitnost tal omogočati s kolobarjenjem. Konvencionalno kmetovanje je bližje linearnemu modelu, medtem ko se v ekološkem kmetijstvu celostno dopolnjujeta rastlinska pridelava in reja živali in s tem sledenje naravnim metodam in kroženju snovi v naravi (Løes, 2003; Bavec in sod., 2001) (slika 4).



Slika 4: Osnovne razlike med ekološkim in konvencionalnim kmetijstvom (Løes, 2003)

Figure 4: Contrasting ideas of nutrient management between organic and conventional farming (Løes, 2003)

2.2 ANALIZA STANJA EKOLOŠKEGA KMETIJSTVA V SLOVENIJI SKOZI LETA

Iz preglednice 1 je razvidno, da je bilo v letu 2007 v kontrolo vključenih 2.000 ekoloških kmetijskih gospodarstev, kar predstavlja 2,6 % vseh kmetijskih gospodarstev. Do leta 2013 je ta številka narasla na 3.049, kar predstavlja 4,1 % vseh kmetij v Sloveniji.

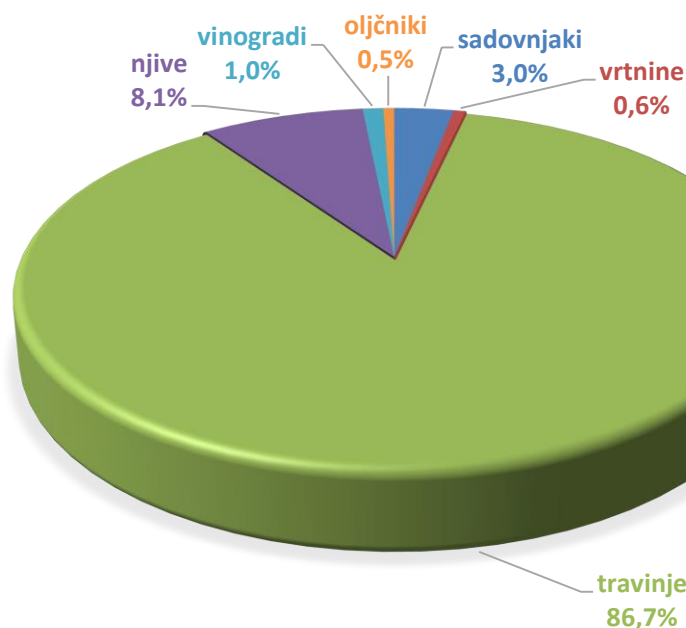
Prav tako so se od leta 2007 do 2013 povečale površine, obdelovane po načelih ekološkega kmetijstva, in sicer iz 29.322 na 38.664 ha.

Preglednica 1: Skupno število ekoloških kmetij in obdelovalnih površin v Sloveniji po letih (MKO, 2014a)

Table 1: The total number of organic farms and arable land per year in Slovenia (MKO, 2014a)

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Ekološke kmetije v kontroli (št.)	2.000 (2,6 %)	2.067 (2,6 %)	2.096 (2,6 %)	2.218 (2,9 %)	2.363 (3,1 %)	2.682 (3,6 %)	3.049 (4,1 %)
Ekološko obdelane površine v kontroli (ha)	29.322 (5,88 %)	29.836 (6,05 %)	29.388 (6,27 %)	30.688 (6,47 %)	32.148 (6,8 %)	35.100 (7,6 %)	38.664 (8,4 %)
Število certifikatov	1.610	1.789	1.853	1.897	1.999	2.104	2.232
Biodinamične kmetije	25	21	21	21	23	28	28

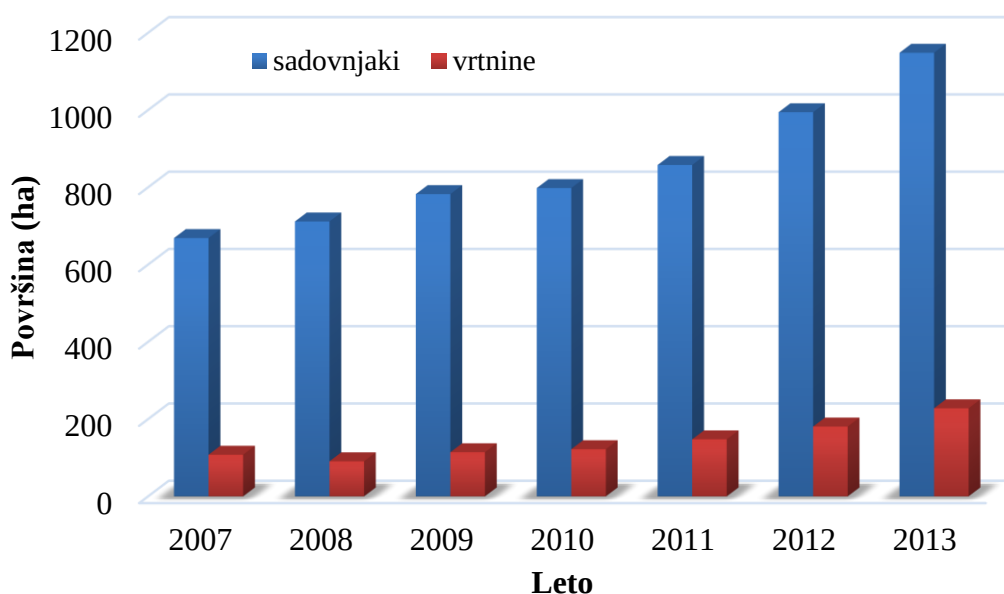
Največji obseg obdelovalnih površin, vključenih v kontrolo ekološke pridelave, zajemajo travinje, ki so v letu 2013 obsegale 33.530 ha (slika 5). Sledijo njive, ki so v letu 2013 obsegale 3.148 ha, nato s 1.148 ha sledijo sadovnjaki, s 401 ha vinogradi, 228 ha vrtnine in oljčniki, ki se s 208 ha uvrščajo med najmanjše obdelovalne površine. Vse površine so od leta 2007 povečale svoj obseg. Najbolj je to opazno pri sadovnjakih, katerih površina se je povečala za kar 480 ha (MKO, 2014a).



Slika 5: Delež obdelovalnih površin v Sloveniji za leto 2013, po skupinah kultur v ekološki pridelavi (MKO, 2014a)

Figure 5: The share of arable areas in Slovenia by organic production culture groups in 2013 (MKO, 2014a)

Kot je razvidno iz slike 6, se sadovnjaki raztezajo na znatno večjih površinah (v letu 2013 na 1.148 ha) kot vrtnine (v letu 2013 le na 228 ha). Tako ekološko pridelano sadje kot vrtnine so med potrošniki najbolj iskani, vendar kljub temu v pridelavi prevladuje živinoreja. Kaže se nujna potreba po večjih količinah pridelkov in organiziranem nastopanju na tržišču z osveščanjem potrošnikov in pridelovalcev (MKO, 2014a).



Slika 6: Skupna površina ekoloških sadovnjakov in vrtnin v Sloveniji po letih (MKO, 2014a)

Figure 6: Total land area of organic orchards and crops in Slovenia by year (MKO, 2014a)

2.3 ZELENJADARSTVO

S prehranskega vidika zelenjavo, glede na del rastline, ki ga uživamo, razdelimo, v sledeče skupine: solatnice, špinačnice, kapusnice, korenovke, čebulnice, stročnice, plodovke in gomoljnice (Pennington in Fisher, 2009).

Zelenjava je v prehrani ljudi cenjena predvsem zaradi vsebnosti prehranskih vlaknin, ki imajo pomembno vlogo v prehrani ljudi. Spodbujajo delovanje prebavil, vežejo strupene presnovne produkte, povečajo občutek sitosti, upočasnijo absorpcijo maščob in sladkorja, ne zvišujejo energijske vrednosti hrane in delujejo preventivno pred boleznimi prebavil. Zelenjava je tudi bogat vir beljakovin, ogljikovih hidratov in maščob. Vsebnost maščob ne presega 0,1 %, med mineralnimi snovmi prevladujejo Na, K, Ca in Fe. Barvila (flavonoidi, karotenoidi, antociani) in nekateri vitamini (C, E in B) imajo vlogo antioksidantov, ki nevtralizirajo proste radikale (Roy in Chakrabarti, 2003).

Vrsta in svežost zelenjave pogojujeta vsebnost vitaminov, med katerimi prevladujejo provitamini, vitamin A, vitamin C in vitamini skupine B. Poleg vrste in svežine na hranilno vrednost vplivajo še številni drugi dejavniki. Okolje in tehnologija pridelave vplivata na

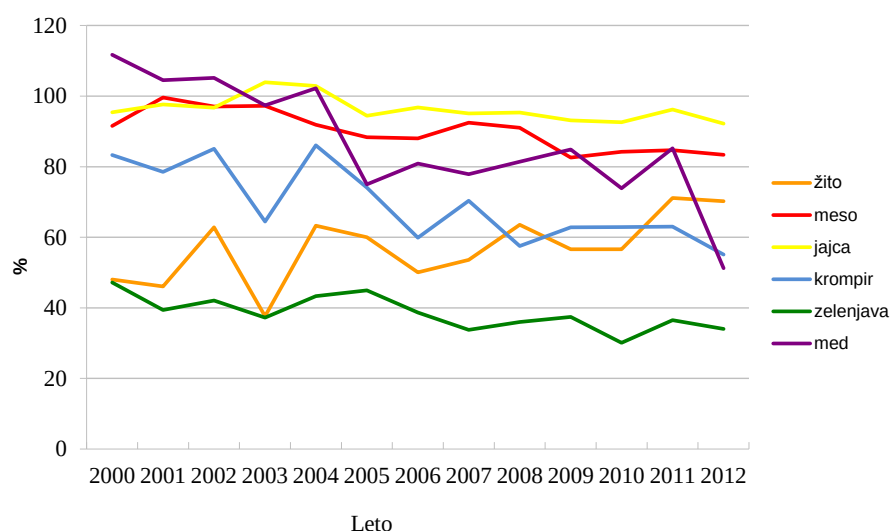
kemijsko sestavo. Ključno vlogo pri okoljskem vplivu imajo temperatura, svetloba, vlaga ter hranljive snovi in fizikalno-kemijske lastnosti tal (Roy in Chakrabarti, 2003).

V Evropi je bilo leta 2009 pridelane 59.276,479 ton zelenjave. Povprečen Evropejec jo je to leto pojedel 130,3 kg. V svetovnem merilu je istega leta vsak zemljan v povprečju zaužil 131,8 kg zelenjave, svetovna pridelava pa je ocenjena na 877.489.376 ton (FAOSTAT, 2014).

2.3.1 Pridelava in poraba zelenjave v Sloveniji

Slovenija se uvršča med najmanjše pridelovalke zelenjave v Evropi, a kljub temu predstavlja tržno priložnost za številne kmetije v Sloveniji. Predvsem se to izraža v predelih, kjer so primerne naravne danosti oziroma možnost namakanja. Vodilna usmeritev je pridelovanje sveže zelenjave z neposredno prodajo, medtem ko je desetletje nazaj prevladovala pridelava za predelovalno industrijo (Bavec, 2003).

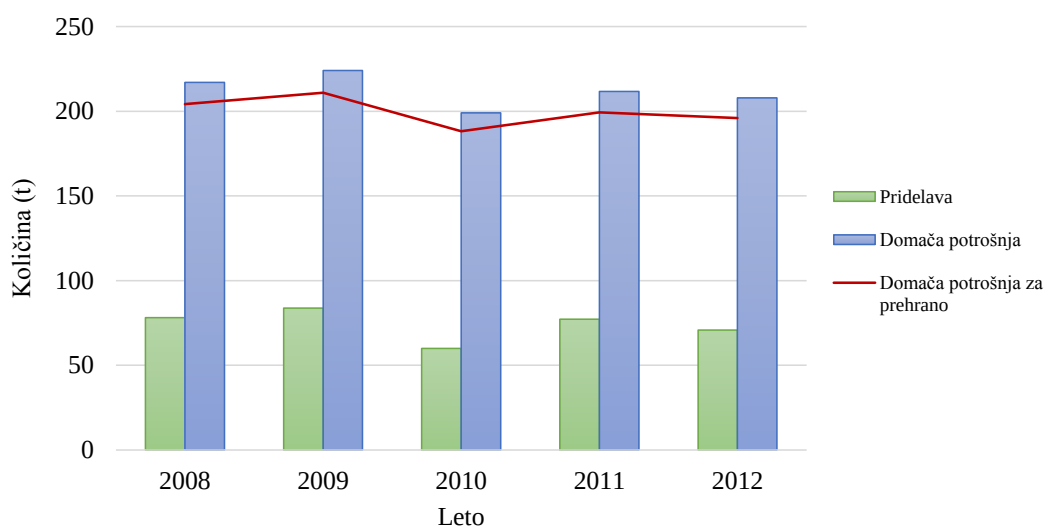
Po podatkih (SURs, 2014) se stopnja samooskrbe z zelenjavo od leta 2000 zmanjšuje. Vzrok je zmanjšan obseg pridelave. V primerjavi s stopnjo samooskrbe drugih kmetijskih pridelkov je stopnja samooskrbe z zelenjavo najnižja. V opazovanem obdobju od leta 2000 - 2012 je najvišja stopnja samooskrbe z zelenjavo opažena v letu 2005 s 45 %, do leta 2012 pa se je zmanjšala na 34 %. Z izjemo žit se v prikazanem obdobju stopnja samooskrbe za vse vrste pridelkov v Sloveniji zmanjšuje (slika 7).



Slika 7: Stopnja samooskrbe po vrstah kmetijskih proizvodov (SURs, 2013)

Figure 7: Self-sufficiency rate by types of agricultural products (SURs, 2013)

Po navajanju avtorjev (Zagorc in sod., 2013) je bilo v letu 2012 v Sloveniji v sveži in predelani obliki porabljeno 208 tisoč ton zelenjave. To je dober odstotek manj kot v letu prej in na ravni povprečja v zadnjih petih letih. V letu 2012 smo v Sloveniji uvozili 149 tisoč ton zelenjave, od tega 64 % sveže. Skupni uvoz zelenjave se je v primerjavi z letom prej povečal za 2 %, od tega je bil uvoz sveže zelenjave večji za 3 %. V letu 2012 je bilo izvožene okoli 12 tisoč ton zelenjave. Glede na leto 2011 to predstavlja 6 % manj. Sveža zelenjava je predstavljala okoli 78 % izvoza. Po posameznih vrstah zelenjave se v obliki sveže zelenjave uvozi največ paradižnika, čebule, solate in paprike.



Slika 8: Pidelava in poraba zelenjave v Sloveniji v letih 2008-2012 (SURs, 2013)

Figure 8: Production and consumption of vegetables in Slovenia in years 2008-2012 (SURs, 2013)

V Sloveniji imamo nizko stopnjo samooskrbe z zelenjavo, ki ima trend zmanjševanja, opazna pa so tudi velika nihanja med leti (slika 8). V letu 2012 je bila stopnja samooskrbe nekoliko pod povprečjem zadnjih petih let. Predvsem zaradi povečanega uvoza se je poraba zelenjave na prebivalca do leta 2009 povečevala. V letu 2010 je bilo s strani Statističnega urada Republike Slovenije zabeležena manjša količina pridelanih zelenjadnic, kar je vplivalo tudi na oceno porabe, ki je bila v letu 2010 tako manjša za desetino. Po ocenah je bila v letih 2011 in 2012 poraba zelenjave ponovno večja. V letu 2012 je prebivalec Slovenije porabil 95 kg, od tega 70 kg sveže zelenjave (Zagorc in sod., 2013).

2.4 SADJARSTVO

Svetovna pridelava sadja v zadnjem desetletju narašča. Leta 2009 je bilo v svetovnem merilu pridelanih okoli 485 milijonov ton sadja. To je predstavljalo približno 72 kg sadja na posameznika. Po pričakovanjih je tudi pridelava sadja v Evropi v zadnjem desetletju naraščala, leta 2009 je dosegla okoli 51 milijonov ton pridelanega sadja. To po izračunu na prebivalca Evrope znese okoli 103 kg sadja (FAOSTAT, 2014).

Več kot polovica zemljišč, na katerih pridelujejo sadje, je v Aziji. Tu pridelajo okoli 40 % svetovnih količin sadja. Srednja in Severna Amerika predstavljata le 5 % svetovnih sadovnjakov, kjer pridelajo 13 % svetovne pridelave. Velike količine pridelanega sadja se uporabijo za predelavo, predvsem jabolka in grozdje, pa tudi citrusi. V svetovnem merilu so Evropske države največji uvozniki sadja (Nemčija, Belgija, Rusija, Nizozemska in Velika Britanija). Največji izvozniki sadja so poleg Francije, Italije in ZDA, Čile (Štampar in sod., 2005).

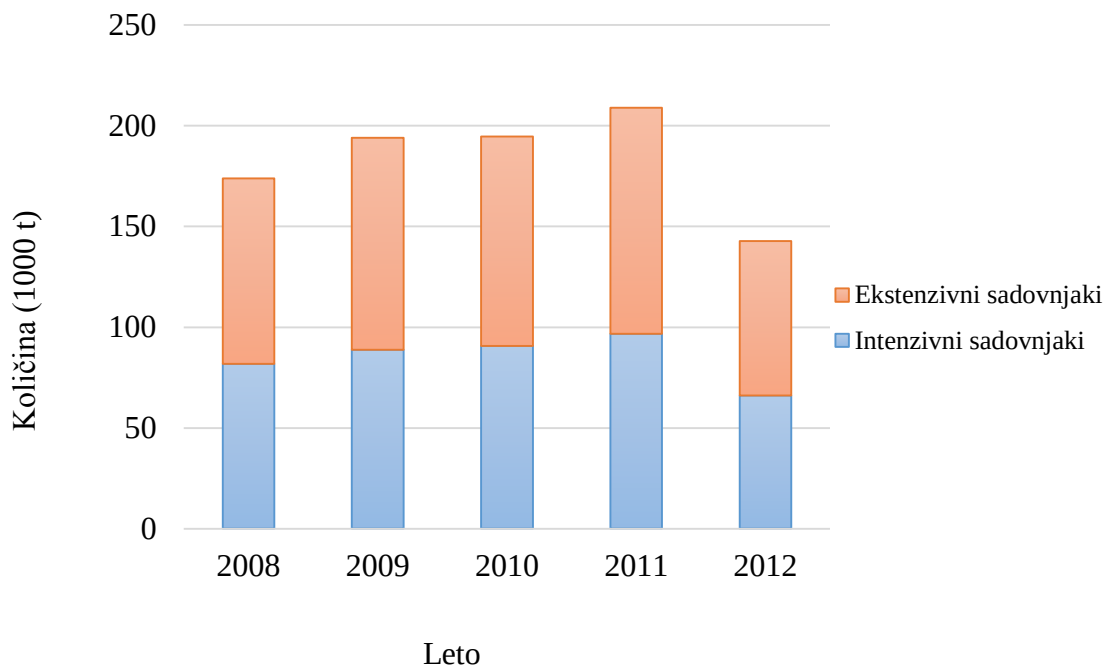
2.4.1 Pridelava sadja v Sloveniji

Slovenija velja za tradicionalno sadjarsko deželo. Klima omogoča gojenje različnih vrst sadja od jabolk, hrušk, breskev, češenj, sliv, marelic do jagod, kakija in ostalih sort sadja. Poleg intenzivnih nasadov, so na naših tleh pogosti tudi travniški nasadi in sadne vrste, ki rastejo po vrtovih. Med vsemi naštetimi vrstami so v Sloveniji najpomembnejša sadna vrsta jabolka (Štampar in sod., 2005).

Po podatkih popisa kmetijstva v letu 2010 obdeluje sadovnjake (intenzivni nasadi in ekstenzivni nasadi kot glavna raba) 21 tisoč kmetijskih gospodarstev, to je dobrih 28 % vseh kmetijskih gospodarstev. Sadovnjaki so razširjeni na 9 tisoč ha in v povprečju obsegajo 0,43 ha. Ekstenzivni kmečki nasadi obsegajo v povprečju 0,27 ha na kmetijsko gospodarstvo (ekstenzivni sadovnjak kot glavna raba), intenzivni sadovnjaki pa 2,1 ha na kmetijsko gospodarstvo. Sem sodijo v večjem obsegu tudi kmetijska podjetja s površinami intenzivnih sadovnjakov, večjimi od 30 ha. Poleg ekstenzivnih sadovnjakov, kjer je kot glavna raba opredeljen ekstenzivni sadovnjak, so na kmetijskih gospodarstvih tudi ekstenzivni sadovnjaki, kjer je kot glavna raba opredeljen travnik (SURs, 2014).

V letu 2012 so intenzivni sadovnjaki obsegali 3,5 tisoč ha, na katerih je bilo posejanih okoli 8,6 milijonov dreves in grmov. V strukturi neto površine prevladujejo jablane (68 %).

Površina ekstenzivnih kmečkih nasadov se je od leta 2000 do 2008 zmanjševala, popis leta 2010 pa je pokazal povečanje obsega nasadov vseh sadnih vrst (SURs, 2014).



Slika 9: Pridelava sadja v Sloveniji po letih (SURs, 2014)

Figure 9: Fruit production of in Slovenia by year (SURs, 2014)

Zaradi neugodnih vremenskih razmer v letu 2012 je bila letina sadja zelo slaba. Pridelek sadja je bil tako v intenzivnih kot ekstenzivnih sadovnjakih za skoraj tretjino manjši kot leto prej (slika 9).

Po navedbah (Zagorc in sod., 2013) je sadje v letu 2012 k skupni vrednosti kmetijske proizvodnje prispevalo 5,7 %, z vidika rastlinske pridelave pa 10,9 %. Omenjena deleža se od leta 2000 nista bistveno spreminjala.

2.5 ANTIOKSIDANTI

Kisik, sicer nepogrešljiv element za življenje, lahko v nekaterih okoliščinah negativno vpliva na žive organizme. Negativni učinki kisika se izražajo kot reaktivne kisikove spojine oz. reaktivne kisikove zvrsti (ROS). Posledica nenadzorovane tvorbe teh snovi in neuravnovešeno delovanje antioksidantov v telesu privede do številnih kroničnih bolezni in

pospeši staranje (Koksal in Gulcin, 2008). Poleg ROS med glavne vrste prostih radikalov prištevamo tudi superoksidni anion ali peroksilni radikal (O_2^-), hidroksilni radikal ($-OH$); radikal dušikovega oksida (NO) in peroksidni radikal (ROO^-).

Za preprečevanje ali zmanjševanje nastalih prostih radikalov so organizmi razvili različne obrambne mehanizme (encimske in neencimske). Antioksidanti, katere delno dobimo s hrano, delno pa jih telo sintetizira samo, so pravzaprav močni reducenti. Razlikujejo se po kemijski sestavi in po mehanizmi delovanja. Antioksidativni encimi in proteini nastajajo v organizmu kot proizvod celičnega metabolizma (Cigić in Tasič, 2006). Preprečujejo oksidativne reakcije, tako da lovijo ROS in z njimi reagirajo, še preden le-te poškodujejo celice (Pryor, 1994; Korošec, 2000).

Antioksidante lahko delimo po različnih ključih. Ena od delitev je delitev na vodotopne (askorbinska kislina, glutation, bilirubin, sečna kislina, tioli) in topne v maščobah (ubikinon Q_{10} , vitamin E, likopen in β karoten) (Korošec, 2000). Ločimo tudi naravne, ki se v rastlinah nahajajo kot fenolne spojine (flavonoidi, fenolne kisline, tokoferoli in karotenoidi), in sintetične (askorbinska kislina), ki se največkrat uporabljajo kot dodatki v hrani (Shanin in sod., 2007).

Najbolj specifična delitev antioksidantov je delitev na primarne, sekundarne in terciarne. Primarni nastajajo v organizmu ali jih tvorijo mikroorganizmi. V to skupino sodijo predvsem encimi, superoksid mutaza in glutation peroksidaza. Njihova poglavitna vloga je preprečevanje nastajanja prostih radikalov.

Sekundarni antioksidanti (polifenoli, nekateri flavoni in flavonoidi, karoten, vitamina C in E, ...) skrbijo za nevtralizacijo nastalih prostih radikalov in jim onemogočajo vstop v verižne reakcije. Te snovi zavirajo avtooksidacijo brez direktnega vključevanja v verižno reakcijo. Delujejo kot odjemalci kisika, odjemalci radikalov ali sinergisti.

Terciarni antioksidanti so snovi, ki popravljajo že nastale poškodbe, ki so jih povzročili prosti radikali v strukturi celice (Kovač in Raspor, 2000).

2.5.1 Antioksidanti v sadju in zelenjavi

Sadje in zelenjava sta pomemben vir naravnih antioksidantov. Večina antioksidantov v sadju in zelenjavi predstavljajo flavonoidi, izoflavoni, flavoni, antocianini, prisotni pa so tudi vitamini A, C, E in β -karoten. Različne študije so pokazale, da obstaja okoli 5000 rastlinskih fenolov, katerim je bilo dokazano antioksidativno delovanje. Antioksidanti

zaščitijo celice pred oksidativno poškodbo in zato igrajo pomembno vlogo pri zmanjševanju tveganja za nastanek različnih obolenj. Poleg preprečevanja oksidacije je bilo naravnim antioksidantom dokazano tudi antibakterijsko, antivirusno, antialergijsko in protivnetno delovanje (Karadeniz in sod., 2005; Koksall in Gulcin, 2008).

Ko govorimo o parametrih kakovosti, antioksidanti v sadju in zelenjavi predstavljajo pomembno vlogo pri skladiščnih in stabilnostnih sposobnostih, ohranjanju prehranske vrednosti in senzoričnih lastnosti, obstojnosti barve in videza, ter nenazadnje pri ohranjanju učinkovin, ki pozitivno vplivajo na zdravje ljudi (Hribar in Simčič, 2000).

Ko primerjamo ekološka živila s konvencionalnimi, so lahko tudi antioksidanti eden od pokazateljev kakovosti. Razlike v prid ekološkimi živilom so v svojih raziskavah potrdili številni raziskovalci (Cao in sod., 1996; Halvorsen in sod., 2002; Aldrich in sod., 2010).

2.5.2 Antioksidativna učinkovitost

Antioksidativna učinkovitost (AOP) živila je odvisna od različnih dejavnikov, med drugim nanj vpliva vsebnost polifenolov in vitaminov. Nekateri dejavniki lahko na AOP delujejo tudi zaviralno. Nekateri tehnološki postopki povzročijo razpad naravno prisotnih antioksidantov. Prav tako lahko pride do nastanka spojin s prooksidativnimi lastnostmi. Določanje AOP je zaradi nestabilnosti določenih antioksidantov lahko težavno. Predvsem vitamin C je poznan kot zelo nestabilen. Po homogenizaciji se namreč hitro pretvarja v dehidroaskorbinsko kislino. Tudi velika večina ostalih med procesom predelave izgubi antioksidativne lastnosti (Hribar in Simčič, 2000).

Za določanje AOP v živilih lahko uporabimo direktno ali indirektno metodo.

Direktne metode so metode na osnovi kinetike peroksidacije lipidov, metoda ORAC (angl. Oxygen Radical Antioxidant Capacity) in določanje AOP z β -karotenom. Direktne metode veljajo za bolj občutljive in natančne. Z njimi proučujemo učinke antioksidantov, prisotnih v analiziranem vzorcu, na oksidativno razgradnjo substratov. Med indirektno metode prištevamo metodo z radikalom DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), metodi TEAC (angl. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) in FRAP (angl. Fluorescence Recovery After Photobleaching).

Pri indirektnih metodah merimo sposobnost antioksidantov za lovljenje prostih radikalov, ki niso direktno povezani z oksidacijsko razgradnjo. Te metode se v praksi zaradi

preprostejše uporabe uporabljajo pogosteje, prav tako so bolj primerne za rutinsko analizo (Roginsky in Lissi, 2005; Litescu in sod., 2010).

Metoda lovljenja prostih radikalov, DPPH, se v zadnjem času pogosto uporablja za dokazovanje razlik med pridelki, pridelanimi na različne načine kmetovanja (Cao in sod., 1996; Halvorsen in sod., 2002; Sandoval in sod., 2002; Llorach in sod., 2003; Karadeniz in sod., 2005; Rembialkowska, 2007; Aldrich in sod., 2010).

2.5.3 Metode za določanje antioksidantov

2.5.3.1 ORAC (angl. Oxygen Radical Absorbance Capacity) metoda

Metoda ORAC se najpogosteje uporablja za določanje prisotnosti naravnih fenolov v različnih živilih. Kot fluorescenčni marker se uporablja β -fikoeritrin, na katerega delujejo peroksilni radikali, katerih izvor je 2,2-azobis (2-amidinopropan) dihidroklorid (AAPH). Kot standard se v tej metodi uporablja Trolox, ki je sintetičen analog vitamina E (Roginsky in Lissi, 2005).

2.5.3.2 Določanje antioksidativne učinkovitosti z β -karotenom

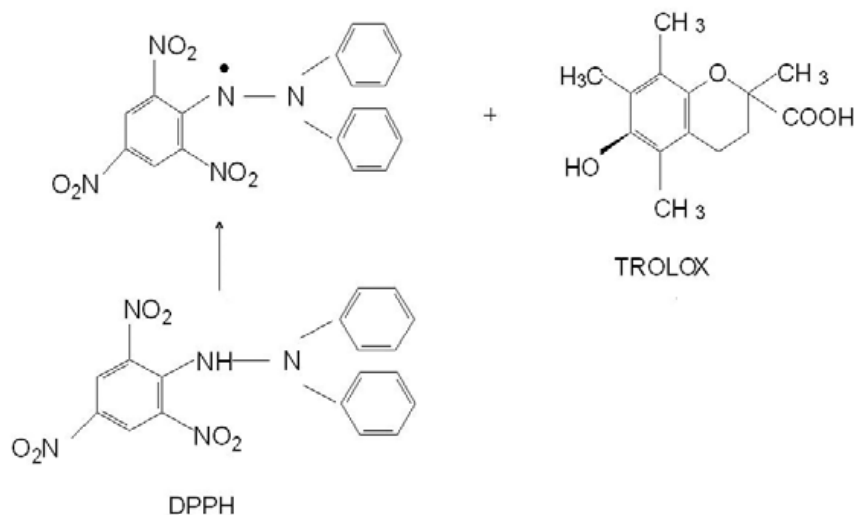
Metoda temelji na mehanizmu, pri katerem vsebnost antioksidantov v vzorcu zmanjšuje oksidacijo β -karotena. Slabost omenjene metode je, da pod nekontroliranimi pogoji ponovljivost ni mogoča in da je sam postopek dolgotrajen (Roginsky in Lissi, 2005).

2.5.3.3 Indirektna metoda z radikalom DPPH

To je ena najstarejših metod za določanje AOP z radikalom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) za rastlinske ekstrakte (Bondet in sod., 1997; Llorach in sod., 2003; Dincer in sod., 2013). Metoda, ki jo je leta 1958 opisal Blois, temelji na reakciji med stabilnimi radikali DPPH in donorji vodika, kamor sodijo fenolne spojine, askorbinska kislina, vitamina A in E. Omenjena metoda AOP določi s pomočjo UV absorpcije, saj temelji na merjenju absorbance raztopine 2,2-difenil-1 pikrilhidrazila (Blois, 1958).

DPPH je stabilen radikal z organskim dušikom, katerega raztopina je temno vijolične barve. Ko reagira z antioksidanti, se tvori reducirana oblika DPPH₂. To povzroči spremembo barve iz vijolične v rumeno (shematsko prikazano na sliki 10). Sprememba povzroči zmanjšanje absorbance, ki je premosorazmerna AOP vzorca. Za doseg učinkovitosti pri tej metodi moramo DPPH raztopiti v metanolu ali etanolu. Na rezultate

analiz lahko vpliva tudi pH, reagenti, reakcijski čas in ekstrakcija. Priporočen reakcijski čas metode je 30 minut, vendar je ta pogojen tudi z vsebnostjo antioksidantov v vzorcu (Locatelli in sod., 2009).



Slika 10: Model referenčne reakcije DPPH (DPPH in Trolox) (Litescu in sod., 2010)

Figure 10: Reference reaction DPPH model (DPPH and Trolox) (Litescu in sod., 2010)

Za interpretacijo rezultatov se spremembe izraža s pomočjo parametra, ki ga imenujemo koncentracija učinkovitosti oziroma EC_{50} . To je koncentracija antioksidanta, ki povzroči 50 % zmanjšanje začetne koncentracije DPPH. Večjo natančnost rezultatov dobimo, če jih prikažemo kot absorbanco (Litescu in sod., 2010).

2.5.3.4 TEAC (angl. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay) metoda

Metoda določa antioksidativno aktivnost vzorca na podlagi absorbance 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kisline) ($ABTS^{•+}$). Ta radikal se tvori pri oksidaciji med $ABTS^{•+}$ in kalijevim persulfatom in močno absorbira. Absorpcija je vidna pri različnih valovnih dolžinah: 415 nm, 645 nm, 734 nm in 815 nm. V prisotnosti antioksidantov pride do razbarvanja. Rezultate izražamo kot AOP v ekvivalentih Troloxa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kislina). Metoda je preprosta za izvedbo, a nam poda le sposobnost spojin za reakcijo z $ABTS^{•+}$, ne pa za določitev AOP (Litescu in sod., 2010).

2.5.3.5 FRAP (angl. Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) metoda

Metoda FRAP meri antioksidativno učinkovitost s proučevanjem zmanjšanja koncentracije kompleksa železovega iona v feri obliki (Fe^{3+}) pri nizkem pH. Zmanjšanje koncentracije ionov železa povzroči intenzivno modro barvo, katero se lahko zazna spektrofotometrično. Ta metoda je enostavna in poceni. Njena pomanjkljivost je neuporabnost za antioksidante, ki vsebujejo skupine - SH ali tiste, ki reagirajo z železom (Litescu in sod., 2010).

2.6 FENOLNE SNOVI

Sadje in zelenjava predstavljata manjši delež dnevnega vnosa kalorij, vendar koristi uživanja sadja in zelenjave na zdravje nadgradijo prispevek kalorij. Dodano vrednost dajejo vitamini in provitamini, kot so askorbinska kislina, tokoferoli, karotenoidi in številne druge snovi. Poleg naštetega sadje in zelenjavo bogatijo različne vrste fenolnih snovi (Ismail in sod., 2004).

Fenoli so zelo raznolika skupina sekundarnih metabolitov, ki vsebujejo eno ali več hidroksilnih (- OH) skupin, ki so vezane neposredno na aromatsko jedro. Odgovorni so za notranje in zunanje kakovostne parametre sadja in zelenjave, kot so vonj, videz, okus in aroma. Imajo najmanj en aromatski obroč z eno ali več hidroksilnimi (- OH) skupinami, vezanimi neposredno na obroč (Bravo, 1998). V naravi so običajno prisotni fenoli z več aromatskimi obroči in z več - OH skupinami, zato se zanje uporablja tudi ime polifenoli. Na splošno se za poimenovanje najpogosteje uporablja razdelitev po številu C - atomov (Abram in Simčič, 1997; Ismail in sod., 2004; Robards in Prenzler, 1999).

2.6.1 Delitev fenolnih snovi

Fenolne spojine, ki jih najdemo v naravi, so prisotne kot konjugati z mono- in polisaharidi, ki so povezani z eno ali več fenolnimi spojinami. Pojavljajo se lahko tudi v obliki funkcionalnih derivatov kot estri in metilni estri. V osnovi fenolne spojine, ki se pojavljajo v naravi, lahko razdelimo v več razredov, ki so prikazani v preglednici 2 (Balasundram in sod., 2006).

Preglednica 2: Razredi fenolnih komponent v rastlinah (Balasundram in sod., 2006)

Table 2: Classes of phenolic compounds in plants (Balasundram et al., 2006)

Razred	Struktura
Enostavni fenoli	C ₆
Fenolne kisline	C ₆ - C ₁
Fenilocetne kisline	C ₆ - C ₂
Hidroksicimetne kisline, fenil propeni (kumarini, izokumarini, kromoni, kromeni)	C ₆ - C ₃
Naftokinoni	C ₆ - C ₄
Ksantoni	C ₆ - C ₁ -C ₆
Stilbeni, antrakinoni	C ₆ - C ₂ -C ₆
Flavonoidi, izoflavonoidi	C ₆ - C ₃ -C ₆
Lignani, neolignani	(C ₆ - C ₃) ₂
Biflavonoidi	(C ₆ - C ₃ -C ₆) ₂
Lignini	(C ₆ - C ₃) _n
Kondenzirani tanini (flavonoli)	(C ₆ - C ₃ -C ₆) _n

Enostavni fenoli v naravi niso prisotni, medtem ko vse ostale lahko najdemo v sadju in zelenjavi. Pod glavne prehranske fenolne spojine prištevamo fenolne kisline, flavonoide in tanine (King in Young, 1999).

Med fenolne kisline prištevamo hidroksi benzojske kisline, fenilocetno kislino, kumarine, pod flavonoide pa sodijo antociani, flavoni, flavonoli, dihidroflavonoli, katehini ter drugi (Abram in Simčič, 1997).

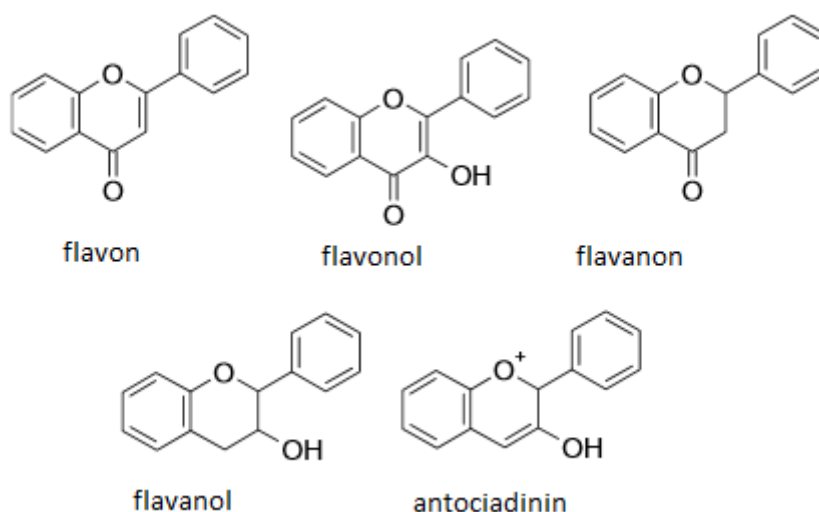
Tanini so rastlinski polifenoli, ki so sposobni izločati proteine iz vodnih raztopin. Imajo relativno veliko molekulsko maso. Glede na njihovo strukturo jih razdelimo na hidrolizabilne, kondenzirane in kompleksne (Abram in Simčič, 1997).

Fenolne kisline sestavljata dve podskupini: derivati benzojske in cimetne kisline ter jih najdemo skoraj povsod v rastlinah (Abram in Simčič, 1997). Najdemo jih tako v sadju, zelenjavi, kot tudi žitaricah, čaju, vinu, začimbah in zdravilnih rastlinah. Odgovorne so za senzorične, kakovostne in antioksidativne lastnosti živil (Bravo, 1998).

AOP fenolnih kislin je odvisen od mesta in števila hidroksilnih skupin in od prisotnosti karboksilne funkcionalne skupine ter od njihovega števila. AOP narašča z naraščajočo stopnjo hidroksilacije (Rice-Evans in sod., 1996).

Flavonoidi veljajo za zelo razširjeno skupino vodotopnih fenolnih spojin. So snovi, ki jih živali in ljudje ne morejo sintetizirati. Ločijo se po oksidacijski stopnji heterocikličnega C₃ - obroča, pa tudi po različnih substituentah na obročih A, B in C. Osnovno spojino sestavljajo strukture, ki jih označimo s C₆-C₃-C₆. V naravi so pogosto v obliki glikozidov, katere sestavljajo do trije monosaharidi. Najpogostejše so to glukoza, galaktoza, manosa, ksiloza, glukoronska in galakturonska kislina. Zaradi možnosti absorpcije UV svetlobe delujejo kot zaščita rastlin pred UV žarki (Abram in Simčič, 1997; Abram, 2000).

Struktura flavonov, flavonolov, flavanonov, flavanolov in antociadininov je prikazana na sliki 11.



Slika 11: Struktura glavnih skupin flavonoidov (Balasundram in sod., 2006)

Figure 11: Generic structure of major classes of flavonoids (Balasundram et al., 2006)

Flavonoidi lahko peroksidacijo lipidov preprečijo na več načinov. Odločilen vpliv na AOP imajo tudi pri teh snoveh - OH skupine. Pri flavonoidih z nasičenim C-obročem več - OH skupin predstavlja večji AOP (Abram, 2000).

2.6.2 Vloga fenolov v sadju in zelenjavi

Fenolnim spojinam je pripisanih več funkcij. V naravi služijo rastlinam za zaščito pred rastlinojedci, delujejo kot kemične signalne spojine pri cvetenju, oplojevanju in rastlinski simbiozi. Na ta način prispevajo k odpornosti rastlin na mehanski stres, katerega povzročijo mehanske poškodbe, infekcije ali insekti (Abram in Simčič, 1997).

Poleg že omenjene antioksidativne funkcije fenolom pripisujejo tudi protimikrobno delovanje. Način protimikrobnega delovanja je odvisen od njihove koncentracije, pa tudi od prisotnosti lipidov, soli, pH in temperature. Neposredno lahko delujejo zaviralno oziroma destruktivno na določene mikroorganizme. Lahko delujejo tudi sinergistično z ostalimi konzervansi (Davidson, 1993).

Njihova pglavitna vloga pri sadju in zelenjavi je, da jim dajejo okus in barvo. V zrelem sadju se nahaja več fenolnih snovi. Če primerjamo različne načine pridelovanja sadja in zelenjave (ekološko in konvencionalno ali integrirano), je večje količine fenolnih spojin v ekološko pridelanem sadju in zelenjavi potrdilo že več raziskovalcev (Carbonaro in sod., 2002; Toor in sod., 2006; Mitchell in sod., 2007; Perez-Lopez in sod., 2007; Lamperi in sod., 2008; Luthria in sod., 2010). To lahko pripišemo temu, da se v ekološkem kmetovanju uporablja manj zaščitnih sredstev in rastlina zato razvije več obrambnih mehanizmov (Koleva in sod., 2002; Borguini in sod., 2013).

Za opis fizioloških mehanizmov, odgovornih za večjo vsebnost sekundarnih metabolitov v rastlinskih pridelkih, sta bili predstavljeni dve različni teoriji. Teorija C/N pravi, da kadar je dušik na voljo v prebitku, bo rastlina v prvi vrsti tvorila spojine z večjo vsebnostjo dušika. Če je dušik prisoten v omejenih količinah, pa bo rastlina prešla na sintezo spojin, ki vsebujejo ogljik (likopen, β -karoten) (Coley in sod., 1985). Teorija GDBH (angl. Growth - Differentiation Balance Hypothesis) govori o tem, da rastlina oceni razpoložljive vire in optimizira svoje naložbe v rast (Herms in Mattson, 1992). Glede na opisani teoriji lahko predvidevamo, da ima hrana, pridelana na ekološki način z manjšo uporabo mineralnih z dušikom bogatih gnojil, večjo vsebnost fenolnih snovi od tiste, ki je pridelana na konvencionalni način (Carbonaro in sod., 2002; Perez-Lopez in sod., 2007; Rembialkowska, 2007; Lamperi in sod., 2008; Faller in Fialho, 2009; Mikulic-Petkovsek in sod., 2010). To pripisujemo temu, da se pri ekoloških rastlinah zaradi neuporabe pesticidov aktivira več obrambnih mehanizmov (Gravel in sod., 2010).

2.6.3 Metode za določanje fenolnih spojin

Ker imajo fenolne skupine različno kemijsko strukturo, je analitika precej zahtevna, prav tako je zahtevno merjenje njihove AOP. V uporabi so različne metode, in večina jih je prilagojena za analizo posameznih skupin fenolnih spojin. Največkrat za določitev AOP uporabimo primerjalne analize. Standardnemu substratu dodamo antioksidant in ga izpostavimo oksidaciji. Enako storimo s testnim vzorcem, le da ne dodamo antioksidanta. Rezultat je primerjava obeh vzorcev (Vidrih in Kač, 2000).

Analitični postopki so navadno sestavljeni iz treh korakov: ekstrakcija iz vzorca, ločevanje in kvantitativno določanje (Gomez-Caravaca in sod., 2006).

Za detekcijo fenolnih snovi se uporablja tudi visokotlačna tekočinska kromatografija (HPLC). To je kromografska metoda, ki jo odlikuje večja občutljivost, hitrost in dokaj preprosta uporaba. Med kromatografske metode sodita tudi papirna kromatografija (PC) in tankoplastna kromatografija (TLC). Ker velja TLC za učinkovito in poceni tehniko, se jo uporablja predvsem pri določevanju antocijaninov. V zadnjem času je pri analitiki fenolnih spojin v uporabi tudi nuklearna magnetna resonanca (NMR), ki v povezavi z masno spektrometrijo omogoči popolno analizo fenolnih spojin (Lee, 1992) in je ena izmed najbolj uporabnih metod za pridobivanje informacij o različnih spojinah z visoko analitično natančnostjo. Z njeno uporabo lahko določamo kakovost pridelkov, teksturo, sorto, čas zorenja in tudi potvorbe (Capitani in sod., 2014).

Za določanje fenolnih spojin v rastlinskem materialu so v uporabi spektrofotometrične metode, ki temeljijo na kondenzaciji določenih fenolnih spojin z izbranim reagentom. Najpogostejše je v uporabi metoda z reagentom Folin-Ciocalteu (F.C.). To je ena najstarejših metod za določanje skupnih fenolnih spojin (Singleton in Rossi, 1965).

Fenolne spojine oksidirajo z reagentom Folin-Ciocalteu, ki je vodna raztopina natrijevega volframata, natrijevega molibdata in litijevega sulfata. Volframat in molibdat oksidirata fenolne spojine v vzorcu, litij pa prepreči, da bi se reagent obarval. Reagent se po oksidaciji fenolov reducira v mešanico modrih oksidov volframa in molibdena. Raztopina nereducirane oblike je rumene barve, po redukciji kovinskega oksida se obarva modro. Absorpcijo modrega obarvanja se določa spektrometrično pri 765 nm. Izmerjena absorbanca je premosorazmerna s koncentracijo fenolnih spojin v reakcijski zmesi. Kot standardna referenčna spojina se uporablja galna kislina. Masno koncentracijo skupnih

fenolnih snovi se odčita iz umeritvene krivulje. Rezultat je izražen v mg galne kisline na liter (Košmerl in Kač, 2007).

2.7 IZOTOPI DUŠIKA IN OGLJIKA V OKOLJU

2.7.1 Kroženje dušika

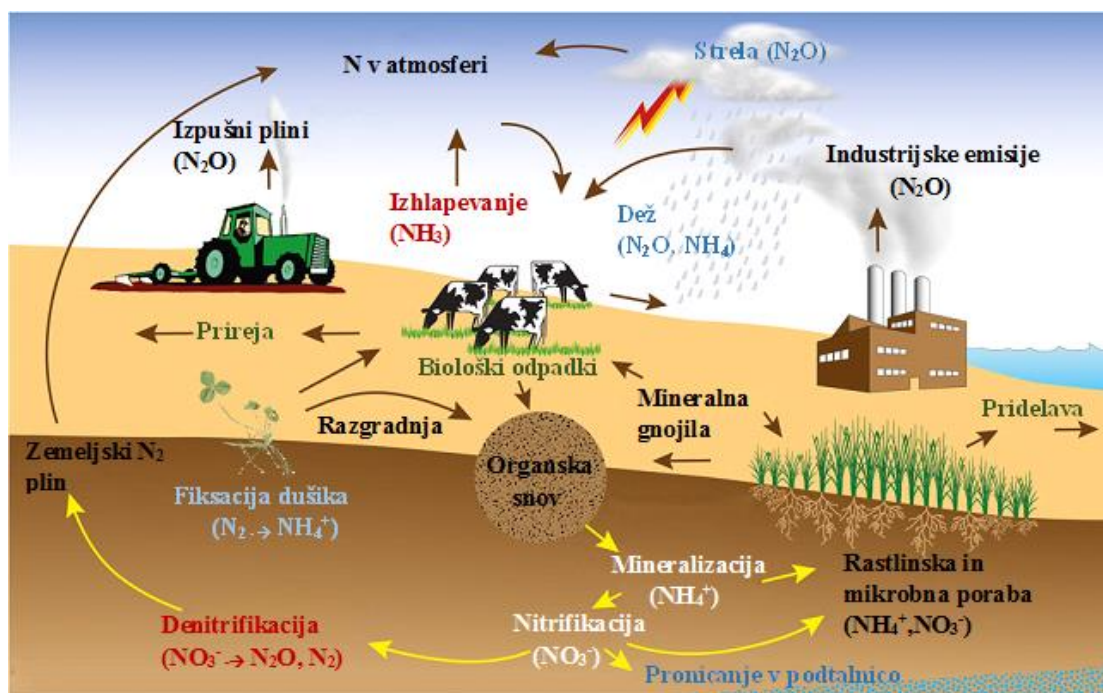
Dušik (N) je sestavina življenjsko pomembnih beljakovin in nukleinskih kislin v vseh organizmih. V naravi večinoma najdemo dušik v molekularni obliki kot N_2 . Razen nekaterih bakterij, ki lahko vežejo dušik iz zraka, živi organizmi uporabljajo organsko vezan dušik. Največji rezervoar dušika je atmosfera. Tu znaša vsebnost dušika 78 %, v kopenski biomasi in organski snovi v prsti pa zasledimo manjše količine dušika.

Rastline iz zemlje črpajo anorgansko vezan dušik (nitrati, amonijeve spojine), medtem ko živali in ljudje uporabljamo organsko vezan dušik (Schröter in sod., 1993).

Na globalno kroženje dušika so najbolj vplivali kmetijstvo, izgorevanje fosilnih goriv in druge človeške aktivnosti, zaradi česar se je dostopnost in mobilnost dušika na mnogih območjih povečala (Galloway in sod., 1995).

Značilnost organskih gnojil je počasna razgradnja dušikovih spojin. Da bi ohranili visoke hektarske donose, je včasih potrebna uporaba dušikovih gnojil. Znano je, da so mikroorganizmi tisti, ki so odgovorni za transformacijo dušika v ekosistemu. Skozi proces nitrifikacije se giblјivost dušika znatno poveča. Nitrat nato s pronicanjem in preko tekočih voda preide v podzemne vode. Raziskave so tudi pokazale, da dodajanje nekaterih organskih gnojil povzroči imobilizacijo dušika v zemlji (Murwira in Kirchman, 1993, cit. po Chao W.L. in Chao C.C., 1997).

Kroženje dušika (slika 12) predstavlja eno izmed pomembnejših kroženj hranil v ekosistemu in poteka v več fazah: fiksacija dušika, mineralizacija ali amonifikacija dušika, nitrifikacija ter denitrifikacija (Zupan in sod., 2002).



Slika 12: Kroženje dušika (Oulton, 2014)

Figure 12: Global nitrogen cycle (Oulton, 2014)

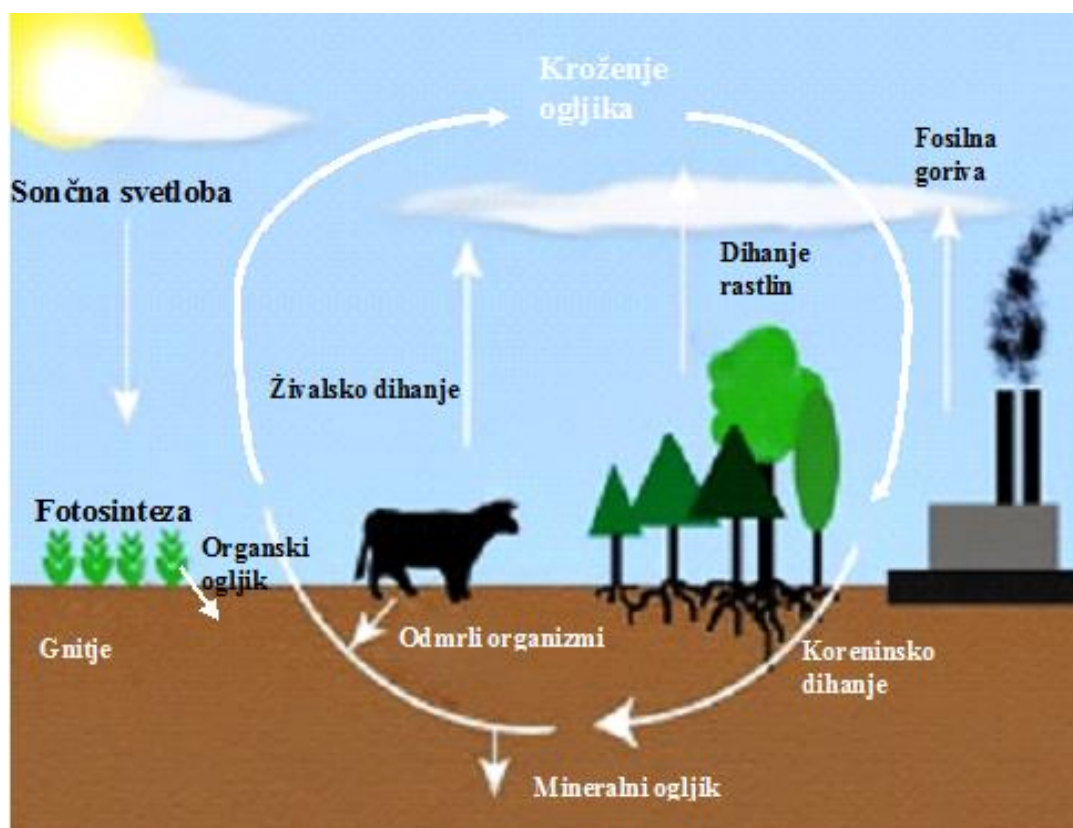
2.7.2 Kroženje ogljika

Ogljikovi atomi imajo lastnost, da se v nasprotju z drugimi elementi lahko praktično neomejeno povezujejo v verige in obročje. Ta element je nereaktiven, raztaplja se le v raztaljenih kovinah. V vseh oblikah je brez vonja in okusa. Ima pomembno vlogo pri gorenju, saj z zadostno količino kisika zgori v ogljikov dioksid (CO_2), ob pomanjkanju le-tega pa tudi v ogljikov monoksid (CO). Razpršen v zraku lahko eksplozivno zgori (Schröter in sod., 1993).

Primarni izvor ogljika je CO_2 iz atmosfere. Kot glavni gradnik se od tu vgrajuje v organske spojine in vezan predstavlja večinski del energijskega materiala. Travnate površine imajo večji potencial za vezavo ogljika od njiv, saj se z obdelavo tal pospešuje mineralizacija organske snovi (Lobnik, 2001). Izmenjava med organsko in anorgansko vezanim C poteka ves čas. Anorganski se nahaja predvsem v vodnem okolju, medtem ko organskega najdemo v organizmih, tako živih kot odmrlih (Faganeli, 1999).

Poglavitni del kroženja ogljika predstavlja razgradnja organske snovi tal. Ogljik v tleh prehaja z biokemijsko reakcijo v CO_2 in prehaja v atmosfero. Ta se nato ponovno vrača in

krogotok je sklenjen (slika 13). Vse organske snovi vsebujejo ogljik ter kopenskem in tudi v vodnem ekosistemu predstavljajo tako vir kot ponor tega elementa (Vidrih, 2006).



Slika 13: Kroženje ogljika (NACD, 2014)

Figure 13: Global carbon cycle (NACD, 2014)

2.7.3 Povezava med ogljikom in dušikom

Ogljik in dušik se povezujeta pri procesih razgradnje. Njuna tesna povezava je vidna med razmerjem C:N v organskem substratu, v bakterijskih celicah in učinkovitosti vgrajevanja ogljika v celice (Faganeli, 1999).

Tesna povezanost med C in N nam pomaga pri potrjevanju ali zavračanju hipotez, kadar gre za iskanje izvora organske snovi ter za identifikacijo raziskovalnega procesa. Ko rastlinam zmanjka dušika, kar se pogosteje zgodi v ekološki pridelavi, pričnejo tvoriti C-vsebujoče spojine, kamor sodijo sekundarni metaboliti (Brandt in Molgaard, 2001). Glavne

frakcionacije se namreč ravno zaradi povezanosti dogajajo pri podobnih ali istih procesih (Owens, 1987).

2.7.4 Stabilni izotopi

Izotopi so atomi kemijskega elementa, ki imajo enako vrstno število (število protonov), vendar različno masno število. Oblikujejo jih enake kemijske lastnosti, različno število nevtronov v jedru in s tem tudi različna atomska masa. V naravi je najpogostejši najlažji stabilni izotop. Izotope lahko razdelimo na stabilne, ki ohranjajo nespremenjeno obliko za nedoločeno dolgo časa, in nestabilne izotope (radioaktivni izotopi), ki so podvrženi radioaktivnemu razpadu (Lawrence, 2005; Lazarini in Brenčič, 1992).

Izotopsko sestavo izražamo kot δ -vrednost v promilih (‰) in predstavlja relativno razliko izotopske sestave raziskovanega vzorca (vz) glede na izbrani standard (st):

$$\delta X = \frac{R_{vz} - R_{st}}{R_{st}} \times 1000 \quad \dots (1)$$

Spremenljivka X v enačbi predstavlja težji izotop elementa (^{13}C , ^{15}N), R pa razmerje med težjim in lažjim izotopom v vzorcu (vz) in standardu (st) ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). Mednarodne standarde sta določila Mednarodna agencija za atomsko energijo na Dunaju (IAEA) in Nacionalni inštitut za standarde in tehnologijo iz ZDA (NIST) (Pezdič, 1999). Ti standardi so točno določene homogenizirane naravne spojine (Craig, 1957). Njihova izotopska razmerja so čim bolj podobna povprečni razširjenosti določenega izotopa v naravi (Engel in Macko, 1993). Delta (δ) vrednost vsakega standarda je definirana z vrednostjo 0 ‰. Pozitivne vrednosti pomenijo, da vsebuje vzorec več težkega izotopa kot standard, negativne pa, da ga je manj. Za prikazovanje ogljika je privzet standard V-PDB (Vienna Pee Dee Belemnite – kalcijev karbonat iz fosilnih lupin organizma Belemnitella Americana) z vrednostjo $R_{st}=0,0112372$ (Craig, 1957). Za dušik je privzet standard atmosferski zrak (AIR) in ima vrednost $R_{st}=0,0036765$ (Ghidini in sod., 2006).

Zaradi različnih fizikalnih in kemijskih lastnosti posameznih elementov, prihaja v nekaterih procesih do frakcionacij. To povzroči, da pride so določenih nihanj v vrednosti posameznih razmerij, sicer je vsebnost naravnih stabilnih izotopov konstantna. Razlike

med dvema izotopoma lahko pridejo do izraza v različnih pogojih. Razlog so lahko razlike v masah različnih izotopov, ki so posledica različne strukture jeder. Frakcionacijski efekt, ki nastane zaradi različnih mas, je bolj izražen pri izotopih, ki imajo manjše atomsko število (Kendall, 1998).

2.7.5 Frakcionacija

V vsaki kemijski, fizikalni, fiziološki in biokemijski transformaciji prihaja do izotopske frakcionacije. Za primere ravnotežnih reakcij, s faktorjem izotopske frakcionacije (α), se prikazuje razliko med izotopsko sestavo dveh snovi. Sam proces, ki vodi do frakcionacije, imenujemo izotopski efekt. Faktor izotopske frakcije predstavlja razmerje med fazo reaktantov in produktov oz. pove, kakšna je stopnja frakcionacije med reakcijo. Faza reaktantov predstavlja razmerje med vsebnostma težjega in lažjega izotopa oz. spremembo izotopske sestave reaktanta, enako velja za fazo produktov (Pezdič, 1999).

Poznamo dve vrsti izotopskega efekta: kemijski (tudi kinetični) in fizikalni (ali termodinamski) izotopski efekt. Kemijska frakcionacija pride do izraza pri kemijskih reakcijah, kjer prihaja do cepitve vezi, saj so relativne energije vezi z različnimi izotopi različne. Kemijska vez, ki vključuje težji izotop, ima nižjo vibracijsko frekvenco in je vez močnejša od ekvivalentne pri lažjem izotopu.

Do fizikalne frakcionacije pride, ker se lažji izotop premika hitreje od težjega. Predstavlja ravnovesje med kemijskima efektoma ravnotežja. Vpliva predvsem na fizikalne lastnosti, kot so vrelišče, tališče, parni tlak. Najbolj pogosto to zasledimo med difuzijo, izparevanjem, kristalizacijo, ipd (Košir in sod., 2001).

2.7.6 Stabilni izotopi dušika

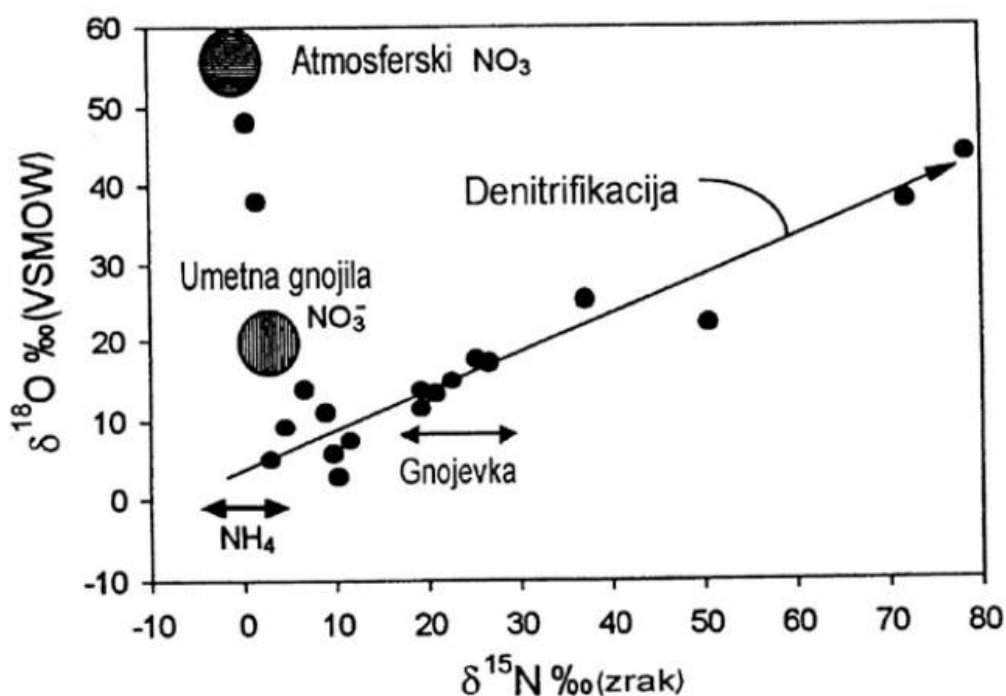
Uporaba mineralnih gnojil je v mnogih državah popolnoma zamenjana s prej uporabljenimi organskimi gnojili. Kljub vedenju, da dušikova gnojila znatno povečajo pridelek, je potrebno upoštevati tudi drugo plat. Mineralna gnojila povzročijo povečano erozijo tla, kar privede do manjše produktivnosti, zmanjšanja hranil in osiromašene kemijske sestave (Chao in Chao, 1997).

Stabilni izotopi se lahko uporabljajo kot pokazatelji onesnaženosti okolja z mineralnimi gnojili. Prav tako je njihova uporaba znana pri ocenah procesov frakcionacije, v katerih so vpletena dušikova gnojila (Vitoria in sod., 2004). Dušik, ki se v največji meri nahaja v

atmosferi, vsebuje en težji stabilni izotop (^{15}N) in 273 lažjih (^{14}N) izotopov. V naravi nastopata v sledečih deležih: $^{14}\text{N} = 99,64 \%$ in $^{15}\text{N} = 0,36 \%$ (Pezdič, 1999).

Vse dušikove spojine vsebujejo oba izotopa, vendar sta zaradi frakcionacije v različnih razmerjih. Ko se dušikove spojine prenašajo v prehranjevalni verigi, se lažji izotopi izločijo v urin, težji pa se zadržijo. Med prvo fazo (fiksacija atmosferskega dušika) izrazite frakcionacije še niso opazne, v večini primerov pa do nje prihaja v vseh nadaljnjih fazah pretvorb dušika (Ghidini in sod., 2006).

Ko opazujemo vpliv bioloških procesov na vrednosti $\delta^{15}\text{N}$, vidimo, da največjo frakcionacijo povzroča denitrifikacija (slika 14).



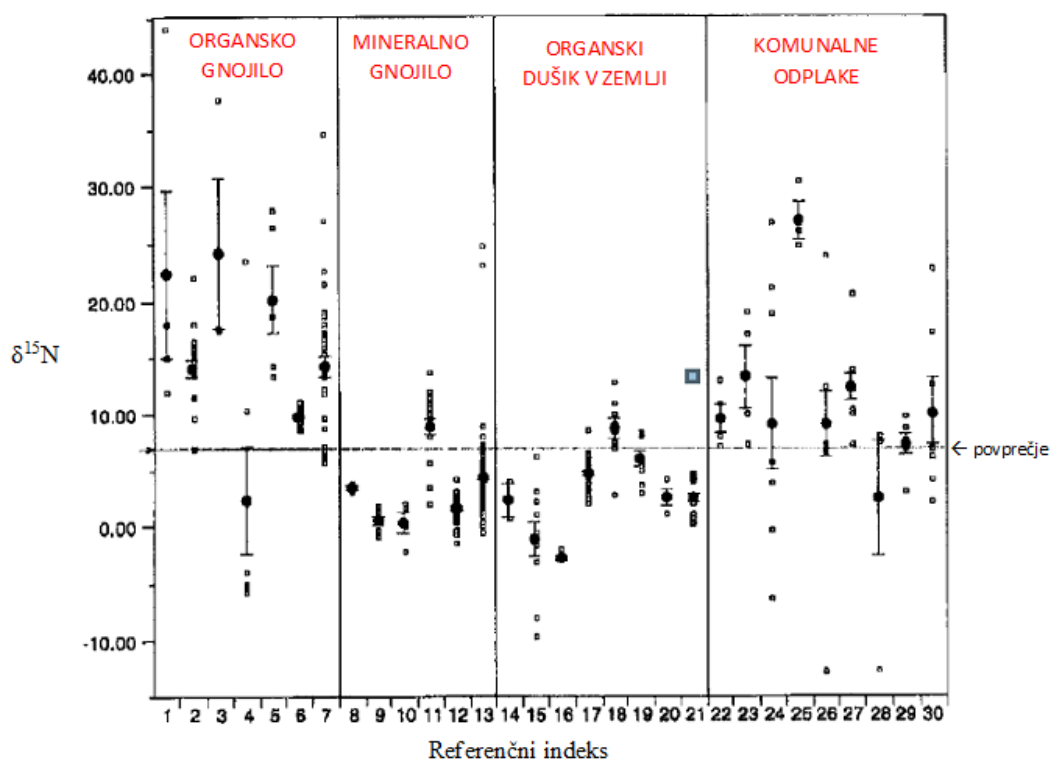
Slika 14: Vrednosti izotopske sestave dušika in kisika v različnih okoljih (Pezdič, 1999)

Figure 14: Values of the isotopic compositions of nitrogen and oxygen in a variety of environments (Pezdič, 1999)

Vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v organski snovi v tleh so večinoma med 0 in 4 ‰, njihovo povprečje se bistveno ne razlikuje od $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti za mineralna gnojila (Fogg in sod., 1998). Glede na to, da so vrednosti v zemlji večinoma pozitivne, lahko sklepamo, da je v zemlji več težjega izotopa dušika, kot ga je v zraku. Da je v zemlji več izotopa ^{15}N lahko potrdimo tudi na podlagi analiz rastlin. Rastline brez sposobnosti za vezavo atmosferskega dušika imajo

namreč večinoma pozitivne vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ (Virginia in Delwiche, 1982), njihova vrednost $\delta^{15}\text{N}$ se giba v območju od - 5 do 2 ‰ (Kendall, 1998).

Vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ ob uporabi hlevskega gnoja ter pri komunalnih odplakah bolj variirajo. Njihove vrednosti se gibljejo med 8 in 20 ‰ za hlevski gnoj in med 2 in 12 ‰ za komunalne odplake. Zaradi prekrivanja območij je zato razlikovanje med naravnimi in mineralnimi gnojili lahko zelo težavno (slika 15) (Fogg in sod., 1998).



Slika 15: Razlike v vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v vodnih virih glede na način gnojenja (Fogg in sod., 1998)

Figure 15: Differences in $\delta^{15}\text{N}$ values in water sources with respect to fertilization methods (Fogg et al., 1998)

2.7.6.1 Uporaba meritev stabilnih izotopov dušika

V zadnjih letih se je uporaba stabilnih izotopov dušika v okoljskih in ekoloških študijah povečala. Glede na vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ lahko uporabimo za iskanje glavnega vira nitrata v različnih vodnih okoljih (Hebert in Wassenaar, 2001). Tu so zgolj meritve izotopske sestave organskega in anorganskega dušika sicer lahko zavajajoče. Suspendiran dušik, predvsem fitoplankton in alge, je lahko poleg s fotosintetskimi organizmi pomešan tudi z

dentriti. Poleg tega frakcionacija elementa poteka le v primeru, da je ta element v izobilju, dušikova hranila pa so pogosto limitirajoča (Engel in Macko, 1993).

Za zagotavljanje pristnosti ekoloških proizvodov so nekateri avtorji v svojih raziskavah dokazali, da se kot orodje za razlikovanje med ekološkim in konvencionalnim pridelkom lahko poslužujemo uporabe analiz stabilnega izotopa dušika ($\delta^{15}\text{N}$).

Opravljenе študije so pokazale, da je ta parameter odvisen od številnih dejavnikov. Nanj imajo vpliv primarni viri dušika, pa tudi podnebne in talne značilnosti. Uporaba organskih ali sintetičnih dušikovih gnojil se izraža v različnih vrednostih $\delta^{15}\text{N}$ dušikovih spojin, vključno z $\delta^{15}\text{N}$, prisotnim v proteinih, aminokislinah ali v obliki amonijevih oziroma nitratnih spojin. Princip analize $\delta^{15}\text{N}$ temelji na spoznanju, da se organska gnojila zaradi frakcionacije, kot posledice izpostavljenosti vremenskim vplivom, bogatijo na izotopu ^{15}N . Mineralna gnojila se izdelujejo iz zračnega dušika ($\delta^{15}\text{N}_{\text{atm}} = 0 \text{ ‰}$) z različnimi industrijskimi procesi (npr. z ekstrakcijo dušika iz zraka). Ker med procesom izdelave ne prihaja do večje frakcionacije, je njihova $\delta^{15}\text{N}$ vrednost blizu 0 ‰, po navadi med - 2 in 2 ‰. Vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v kompostih in ostalih organskih gnojilih so višje. V procesih nastajanja se tvori amonijak, ki vsebuje lažji ^{14}N , ki hitreje izhlapeva. Njihove vrednosti se gibljejo med 2 do 10 ‰ (Rogers, 2008). Različne raziskovalne skupine so dokazale, da se analiza izotopov dušika lahko uporablja kot orodje za odkrivanje razlik med ekološkimi in konvencionalnimi živil, kljub temu pa je priporočljivo na enem vzorcu opraviti tudi kontrolne analize (Choi in sod., 2003; Bateman in sod., 2005; Georgi in sod., 2005; Rapisarda in sod., 2005; Bateman in sod., 2007; Flores in sod., 2007; Rogers, 2008; Mihailova in sod., 2014). Poudariti je treba, da se v procesu nastajanja humusa lahko pojavijo patogeni mikroorganizmi, katere lahko odstranimo le z anorganskim dodatkom. Ti v nekem deležu ostanejo v pridelku. V tem primeru so končni rezultati merjenja izotopa dušika napačni (Flores in sod., 2007). Metoda uporabe izotopov dušika je zelo učinkovita pri hitro rastočih rastlinah (paradižnik, brokoli, itd.), ker hitro rastoča zelenjava zelo hitro asimilira izotopsko razliko dušika. Manj uporabna je za počasi rastoče rastline (krompir, koruza, itd.), saj mikrobi, ki so prisotni v zemlji in jih rastline lahko prevzemajo, izkoristijo več ^{15}N (Rogers, 2008).

Tudi tip prsti, predhodna uporaba zemlje, variabilnost v akumulaciji atmosferskega dušika in variacije v posameznih agrikulturnih postopkih, vplivajo na $\delta^{15}\text{N}$ v pridelku. Choi in sodelavci (2003) so ugotovili, da vlažnost zemlje pomembno vpliva na $\delta^{15}\text{N}$ v zemeljskih

nitratih, ki izvirajo iz različnih gnojil. Ugotovili so, da stopnja zrelosti ne vpliva na izotopsko sestavo dušika in ogljika. Na izotopsko sestavo dušika v rastlini pa vplivajo okoljski dejavniki (svetloba, temperatura in vlažnost).

Kljub vsemu učinek na rastlinski $\delta^{15}\text{N}$, ki bi kmetom razkril uporabo mineralnega gnojila, še vedno ni dobro raziskan.

2.7.7 Stabilni izotopi ogljika

Ogljik je med najbolj razširjenimi elementi. Najdemo ga predvsem v kamninah, kjer nastopa kot karbonat. Ima dva stabilna izotopa, ki sta v naravi zastopana v naslednjih deležih: $^{12}\text{C} = 98,98\%$ in $^{13}\text{C} = 1,11\%$ (Pezdič, 1999).

V Calvin Bensovem ciklu pride do fiksacije anorganskega ogljika. Encim rubiloza 1,5 - bifosfat karboksilaza/oksigenaza diskriminira težji izotop ^{13}C . Vrednosti izotopske frakcije so v primerjavi z izotopsko vrednostjo izvirnega ogljika 27 ‰ (Folkowski, 2005).

Ogljik v naravi najdemo kot HCO_3^- , ki se nahaja v hidrosferi, ter kot CO_2 , ki ga najdemo v atmosferi. Lastnost vseh rastlin je, da vežejo CO_2 in H_2O v organsko snov. Njihovo poglavitno razlikovanje je le v začetni fazi prevzema CO_2 iz zraka. Glede na različne tipe fotosinteze razdelimo kopenske rastline v tri skupine - na rastline C_3 , C_4 in CAM rastline (Dermastia, 2007).

C_3 -rastline so ime dobile po svojem prvem vmesnem produktu (3-glicerat), ki ima tri ogljikove atome. Za fiksacijo ene molekule CO_2 v ponovitvi Calvinovega ali C_3 cikla se porabijo tri molekule ATP in dve molekuli NADPH. V tej reakciji nastane vmesni produkt s šestimi C-atomi, ki hitro razpade v dve molekuli 3-fosfoglicerata. Zaradi treh C-atomov se ta pot imenuje C_3 cikel. V to skupino sodijo pšenica, soja, ... (Dermastia, 2007; Boyer, 2005). Pri teh rastlinah se vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ gibljejo med - 34 in - 23 ‰, v povprečju okoli 27 ‰.

C_4 -rastline imajo posebno CO_2 črpalko, ki generira povišano koncentracijo CO_2 poleg encima rubisco. Ta cikel, ki je posebna oblika fotosinteze, se imenuje C_4 cikel ali Hatch-Slackov cikel. Poteka v listih nekaterih tropskih rastlin (sladkorni trs) in je značilen tudi za družino amarantovk, mlečkovk in toličkovk (Dermastia, 2007). Njihova izotopska sestava ogljika se giblje med - 16 in - 9 ‰ (Ehleringer in Epstein, 2001).

CAM rastline so najmlajša skupina rastlin, ki so ime dobile po CAM (angl. Crassulacean Acid Metabolism) poti. Te rastline imajo listne reže odprte le ponoči zaradi preprečevanja izgube vode iz rastline. Ko so reže odprte, skozi njih vstopa CO₂ in se veže v organske kisline, ki jih rastlina shrani v listih. Podnevi, ko so reže odprte, se iz organskih kislin sprošča CO₂, ki se vključi v Calvinov cikel. V to skupino uvrščamo rastline suhih območij: kaktuse, ananas ... (Dermastia, 2007; Rogers, 2008). Te rastline imajo široko območje $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v razponu od - 33 do - 11 ‰, kar kaže na aktivnost obeh karboksilacijskih procesov.

Tudi metoda določanja stabilnih izotopov ogljika lahko služi kot orodje za ločevanje med ekološko in konvencionalno pridelano rastlino. Ta ni vezana na način gnojenja, saj imajo mineralna in organska gnojila enake $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti. Ker je dostopnost dušika pri konvencionalni pridelavi večja, se to izraža tudi v višjih vrednostih $\delta^{13}\text{C}$ pri konvencionalnih pridelkih v primerjavi z ekološkimi. Večja vsebnost dušika poveča intenziteto fotosinteze. S pomočjo encima rubisco pride do diskriminacije izotopa ^{13}C in do zmanjšanja izločanja CO₂ z večjim deležem ^{13}C . Tako več ^{13}C ostane v rastlini in so zato vrednosti ob meritvah višje (Rapisarda in sod., 2005; Flores in sod., 2007; Camin in sod., 2011).

2.7.8 Metoda za določanje izotopskega razmerja (IRMS)

Za merjenje izotopske sestave elementov se uporablja masni spektrometer za analitiko stabilnih izotopov lahkih elementov (IRMS – angl. Isotope Ratio Mass Spectrometer). To je instrument, v katerem najprej ioniziramo delce (atome, molekule ali fragmente molekul), nato pa snop takih delcev v električnem polju pospešimo ter v magnetnem polju odklonimo. Odklon je odvisen od razmerja med maso delca in masnim številom izotopa. Vzorec nato primerjamo s standardom in tako povečamo natančnost meritve. V masni spektrometer uvajamo vzorce vedno v obliki plina, zato imamo za določanje razmerja $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ v trdnih in tekočih vzorcih različne preparacijske sisteme. V našem primeru v elementnem analizatorju, ki je povezan z masnim spektrometrom, vzorec sežgemo v toku čistega kisika. Nastalo plinsko mešanico ločimo na kromatografski koloni in čisti plin CO₂ ali N₂ uvajamo v masni spektrometer. Kadar z masnim spektrometrom določamo vrednosti stabilnih izotopov dušika, moramo produkte izgorovanja (NO, NO₂)

reducirati do N_2 , ker je to edina oblika, katero lahko uvajamo v ionski izvor (Kelly, 2003; Dunn, 2007).

Poznamo dva tipa IRMS – z dvojnimi uvajalnimi sistemom in s kontinuiranim pretokom nosilnega plina. V primeru spektrometra z dvojnimi uvajalnimi sistemom merimo vzorec relativno glede na standard, ki ga analiziramo simultano. V primeru spektrometra s kontinuiranim pretokom vzorec uvajamo v masni spektrometer s He. Prednost IRMS z dvojnimi uvajalnimi sistemom je njegova natančnost, medtem ko nam spektrometer s kontinuiranim pretokom plina omogoča analizo večjega števila vzorcev. Natančnost meritev znaša $\pm 0,2 \%$ za ogljik in $\pm 0,3 \%$ za dušik.

2.8 ELEMENTNA SESTAVA SADJA IN ZELENJAVE

Prisotnost elementov v prehrani je za zdravje človeka bistvenega pomena. Med pomembnejšimi so kalcij (Ca), magnezij (Mg), klor (K), železo (Fe), cink (Zn), baker (Cu), mangan (Mn), selen (Se) in jod (I). Fosfor (P) in natrij (Na) sta na splošno prisotna v zadostnih količinah (Lairon, 2010).

Elemente razdelimo na makroelemente, mikroelemente in elemente v sledovih. Po Mansonu (1990) med makroelemente sodijo: dušik, fosfor, kalij, magnezij, kalcij, žveplo, kisik, vodik, ogljik, pri čemer si rastline zadnje tri našteje elemente zagotovijo iz zraka in vode. Med mikroelemente pa sodijo: železo, bor, baker, cink, mangan, kobalt in molibden. Makroelementi so anorganska sestava prehrane, katerih esencialnost je pri človeku dokazana v količinah $50 > \text{mg/dan}$, vsebnost mikroelementov v tkivu pa znaša manj kot 50 mg/dan in njihova esencialnost pri človeku je dokazana v količinah $< 50 \text{ mg/dan}$. Poleg omenjenih skupin elemente razvrščamo še v skupino elementov v sledovih, kamor uvrščamo vse druge elemente, katerih esencialnost je bila eksperimentalno preverjena na več eksperimentih z različnimi pogoji. Glede na rezultate je potreba po teh elementih (aluminij, arzen, kadmij, litij,...) pokrita s hrano. Za elemente, ki so najpogostejše tarča primerjalnih analiz med ekološkimi in konvencionalnimi živili, so v preglednici 3 predstavljene priporočene dnevne vrednosti vnosa posameznega minerala (Referenčne ..., 2004).

Preglednica 3: Priporočene vrednosti vnosa elementov (Referenčne..., 2004)

Table 3: Recommended intake levels of elements (Referenčne..., 2004)

	P	Cl	K	Ca	Mg	I
	mg/dan	mg/dan	mg/dan	mg/dan	mg/dan	µg/dan
Dojenčki						
< 4 mesece	120	200	400	220	24	50
4 - < 12 mescev	300	270	650	400	60	50
Otroci						
1 - < 4 leta	500	450	1000	600	80	100
4 - < 7 let	600	620	1400	700	120	120
7 - < 10 let	800	690	1600	900	170	140
10 - < 13 let	1250	770	1700	1100	240	180
13 - < 15 let	1250*	830	1900	1200*	310	200
Mladostniki in odrasli	700	830	2000	1000	300-400	200

* ta vrednost velja tudi za mladostnike do 19 let;

Na elementno sestavo rastlin vplivajo geografske značilnosti posameznega območja. Rastline lahko nekatere elemente izločajo, druge kopičijo. Nekatere jih razporedijo po vseh tkivih, spet druge jih kopičijo le v posameznih delih rastlin. Elementi, ki se pojavljajo v krogotoku, so alkalijski (Li, Na, K, Rb, Cs) in zemljoalkalijski (Mg, Ca, Sr, Ba). Nekateri elementi v ekosistem prihajajo z onesnaženim zrakom (Cd, Ni, V, Mn, Cu in Zn). Alkalijske kovine imajo podobno fiziološko vedenje, kar pomeni, da se lahko podobni elementi do neke mere medsebojno nadomeščajo.

Elementi so najbolj koncentrirani v vrhnjih plasteh tal. Rastline ione z visokim nabojem težje črpajo iz tal, zato je teh več v zemlji kot v koreninah, medtem ko je pri ionih z nizkim nabojem razmerje obratno (Tyler, 2004a; Tyler, 2004b).

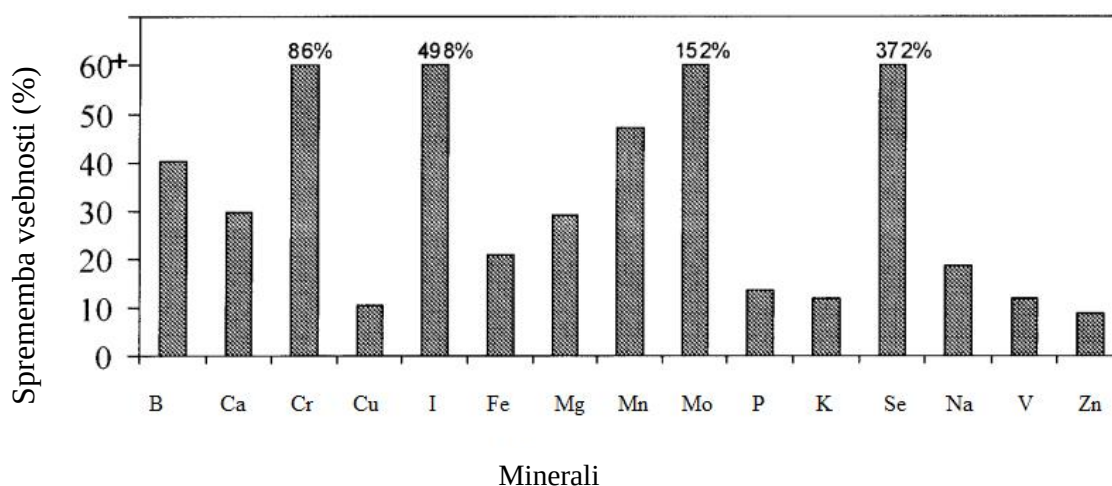
2.8.1 Razlike med vsebnostjo elementov glede na način kmetovanja

Za določanje kvalitativnih razlik med ekološkimi in konvencionalnimi živili je bilo opravljenih več študij (Woese in sod., 1997; Worthington, 2001; Rembialkowska, 2007; Dangour in sod., 2009; Gastol in Domagala-Swiatkiewicz, 2012; Kristl in sod., 2013).

Da pridelki iz ekološkega kmetovanja vsebujejo več mineralov v primerjavi s konvencionalnim, lahko pripišemo večji vsebnosti mikroorganizmov v zemlji ekološkega

kmetijstva. Mikroorganizmi pripomorejo k temu, da so elementi bolj dostopni koreninskemu sistemu rastlin in jih je posledično več tudi v sami rastlini. Ekološka živila zaradi večje vsebnosti suhe snovi, mineralov, sladkorjev in drugih bioaktivnih sestavin v času shranjevanja obdržijo boljšo kakovost (Rembialkowska, 2007).

V pregledu literature Worthingtonova (2001) navaja, da ekološka živila vsebujejo 21 % več železa in 29 % več magnezija glede na konvencionalna živila. V svoji raziskavi je Worthingtonova (2001) ugotovila, da v povprečju dosegajo pridelki iz ekološke pridelave večje vsebnosti bora, kalcija, kroma, bakra, magnezija, mangana, molibdena, fosforja, kalija, selena, natrija, vandija in cinka, kar je razvidno iz slike 16.



Slika 16: Povprečno povečanje vsebnosti elementov ekoloških pridelkov glede na konvencionalne (Worthington, 2001)

Figure 16: The mean increase in element content in organic versus conventional produce (Worthington, 2001)

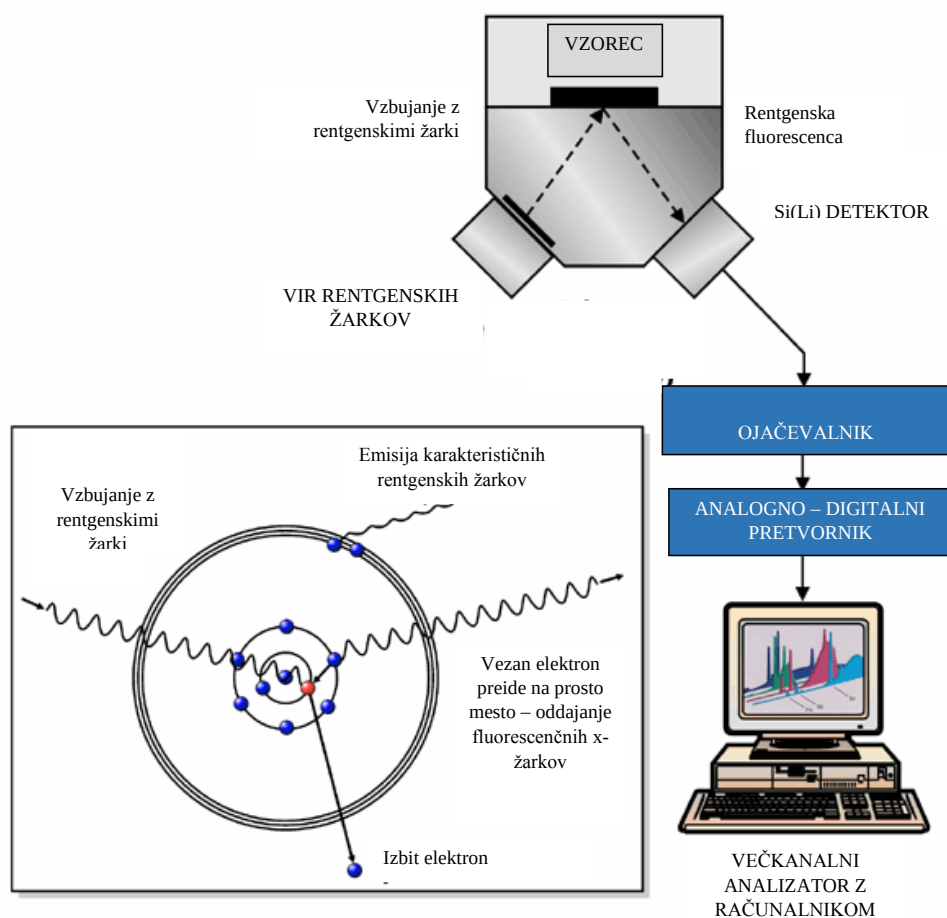
V nasprotju s prej omenjenimi študijami pa Woese in sod. (1997) ter Dangour in sod. (2009) v svojih raziskavah ugotavljajo, da razlik med elementno vsebnostjo glede na način kmetovanja ni. Ekološki jabolčni sok je imel manjše vsebnosti S, Na, Cu, B in Ni kot konvencionalni (Gastol in Domagala-Swiatkiewicz, 2012). V ekološkem hruškovem soku je bila določena manjša vsebnost magnezija kot v konvencionalnem soku (Gastol in Domagala-Swiatkiewicz, 2012). Manjše vsebnosti P, K, Mg, Fe in Mn so določili tudi v ekološko pridelanih jagodah v primerjavi z jagodami, pridelanimi na integriran način (Kristl in sod., 2013).

2.8.2 Metoda za določanje vsebnosti elementov - Energijsko disperzijska rentgenska fluorescenčna spektrometrija (EDXRF)

Energijsko disperzijska rentgenska fluorescenca temelji na vzbujanju atomov snovi z rentgenskim sevanjem. Vzbujen atom, predvsem močno vezani elektroni, pri prehodu v osnovno stanje oddajo odvečno energijo v obliki fluorescenčnega sevanja. Koncentracijo elementov nato lahko določimo na podlagi intenzitete emitiranega sevanja. Po tem principu lahko kvalitativno in kvantitativno določimo vsebnost elementov v snovi (Nečemer, 1995). Za EDXRF analizo potrebujemo rentgenski spektrometer, ki je sestavljen iz polprevodniškega Si(Li) detektorja in elektronskega sistema. Sem sodijo predojačevalnik, ojačevalnik, analogno-digitalni pretvornik in večkanalni analizator z računalnikom. Kot vzbujevalni vir se uporablja kadmijev (^{109}Cd), železov (^{55}Fe) ali americijev (^{241}Am) radioaktivni izvor. S postopkom vzbujanja vzorca merimo rentgenski fluorescenčni spekter, katerega oddaja vzorec (slika 17). Pri rezultatih koncentracij elementov v vzorcu lahko pride do napak, ki navadno znašajo od 5 do 10 % (Nečemer in sod., 2008).

Za analize elementov z nizkim atomskim številom ta metoda ni primerna. Zato meritve C, O, F, Na, Mg, Al in SI s to metodo ne dajo dobrih rezultatov. Na njihovo slabo občutljivost vpliva tudi močna absorpcija fluorescenčnih žarkov teh elementov v okencih energijsko disperzijskih detektorjev in v zraku med detektorjem in vzorcem (Kump, 2005).

Princip delovanja rentgenske fluorescenčne spektrometrije je prikazan na sliki 17.



Slika 17: Princip delovanja rentgenske fluorescenčne spektrometrije (Humphrey in sod., 2013)

Figure 17: The principle of operation of X-ray fluorescence spectrometry (Humphrey et al., 2013)

3 MATERIAL IN METODE

3.1 VZORCI

V analizo smo vključili sadje, zelenjavo in zelišča, pridelano po načelih ekološkega oziroma konvencionalnega kmetijstva. Kot dokazilo za ekološka živila nam je služil certifikat. Zbiranje vzorcev smo zaradi potrebnih primerjav in analiz vedno izvajali v paru (po en vzorec iste vrste sadja, zelišč in zelenjave, pridelanega na ekološki način in konvencionalni). Kjer nam ni uspelo dobiti para, smo vrsto sadja ali zelenjave na koncu izključili iz nadaljnjih analiz. Pri vzorčenju smo vzeli košček sadja oziroma zelenjave, kateremu smo prej odstranili primesi. Iz istega pridelka smo dobili vzorce za vse opravljene analize. Poglavitni pogoji pri izboru vzorca so bili:

- slovensko poreklo,
- enaka ali primerljiva sorta/vrsta,
- pravilen način pridelave (ekološko oziroma konvencionalno).

3.1.1 Zbiranje vzorcev

Vzorci zelenjave, ki smo jih zajeli v analize, so bili vzgojeni v poskusni gredici, locirani v občini Cerknica leta 2012. S poskusno gredico na isti lokaciji za oba načina pridelave ob enakih vremenskih razmerah smo želeli zmanjšati vpliv okolja in vrste tal na pridelke, kar lahko poglavitno vpliva na sestavo gojene zelenjave. V tem sklopu smo na površini 6×6 m pripravili dve poskusni gredici. Prva je bila namenjena za pridelavo po načelih ekološkega kmetovanja, druga po načelih konvencionalnega. Med gredicama je bilo 2 m razmika.

Večino sadik smo pridobili iz rastlinjaka Biotehniške fakultete v Ljubljani. Vse rastline so bile posejane v šoto, zato je bilo izhodišče za vse enako. Prst je bila za obe gredici v jesenskem času pognojena s hlevskim gnojem, kar je na tem območju tradicija že več desetletij. Mineralna gnojila se tu niso uporabljala več kot 30 let. Ključno pri izboru parcele je bilo, da se na širšem območju mineralnih gnojil še ni uporabljalo. Pri konvencionalnem načinu smo se omejili le na dodajanje vitaminsko-mineralnega gnojila in se izognili tretiranju zajedavcev in škropljenju proti boleznim. Konvencionalno gredico smo gnojili z gnojilom Plantela extra plus (Unichem), ki vsebuje visoko vsebnost dušika fosforja in kalija - NPK (15:15:15). Gnojilo vsebuje vodotopne kristale. Za pripravo 10 litrov hranilne raztopine smo po navodilih proizvajalca porabili 10 g gnojila. S pripravljen

mešanico smo gredico zalivali po priporočilih proizvajalca 14., 21., 28., 35. in 42. dan. Vmes smo, predvsem v času suše, gredico redno zalivali z vodo. Gredico, namenjeno gojenju ekološke zelenjave, smo ves čas poskusa zalivali le z vodo.

Posadili smo sledeče sadike: peteršilj, zeleno, baziliko, češnjev paradižnik, papriko, melancan in brokoli. Poleg omenjenih sadik smo posejali še rukolo, špinačo, korenček in kumaro. Zaradi neugodnih vremenskih razmer špinača ni uspela in smo jo zato izključili iz poizkusa. Prav tako smo bili zaradi naravnih ujem, ki so v letu poskusa (2012) pustošile po Sloveniji, primorani nekatere vzorce pridobiti naknadno. V letu 2013 smo pridobili vzorce korenja, kumare, rdeče pese in češnje. Pristnost ekoloških živil smo ocenili glede na veljaven certifikat ter poskusili najti enako sorto sadja oziroma zelenjave.

Ob zbiranju vzorcev (slika 18) smo ugotovili, da je težko dobiti vzorce različnega načina pridelav enake sorte oziroma vrste, saj se izbira le-teh z načinom kmetovanja spreminja. Ekološko osveščeni kmetje izbirajo med starimi in odpornimi sortami, medtem ko konvencionalni kmetje temu ne dajejo pomena in izbirajo med bolj sodobnimi sortami, oziroma vrstami semen, ki so odporne na posamezne bolezni.

Ta problem smo rešili z zbiranjem primernih parov na različnih konvencionalnih kmetijah. Večinoma so bile izbrane kmetije, poznane zbiratelju vzorcev.

Pridobili smo sledeče vrste sadja: češnja, malina, breskev, hruška, jabolko, grozdje in nektarina. Od navedenega nam ni uspelo pridobiti iste sorte ekološke breskve in nektarine ter konvencionalnega grozdja. Ti vzorci na koncu niso imeli primerljivega para in so bili iz nadaljnjih analiz izključeni.

3.2 METODE DELA

Da preverimo in potrdimo, katera metoda je najbolj primerna in zanesljiva za določanje pristnosti ekološko pridelanih živil, smo opravili več različnih analiz.

3.2.1 Priprava vzorcev

Vzorci za analizo smo pripravili na dva načina:

1. Za analizo AOP in določanje skupnih fenolov smo vzorce pripravili po naslednjem postopku: v centrifugirke smo zatehtali 10 g narezanega svežega vzorca ter ga prelili z enako količino 2 % raztopine metafosforne kisline. Vzorec smo nato

homogenizirali z Ultra Turraxom T 25 toliko časa, da je zmes postala homogena. Nato smo vzorce do analiz zamrznili.

2. Za analizo stabilnih izotopov in elementarne sestave sadja in zelenjave, smo pripravili vzorce po 20 g. V treh paralelkah smo jih vakuumsko zapakirali in zamrznili. Vzorec je predstavljal del sadja (vključno z lupino), zelenjave, oziroma začimbe. Večino vzorcev smo po zamrzovanju liofilizirali, 16 vzorcev smo brez predhodnega zamrzovanja sušili 24 ur na 80 °C, nato še 4 ure na 105 °C.

Liofilizirani vzorci: češnja (eko in konv), malina (eko, konv), hruška (eko in konv), jabolko (eko in konv), kumara (eko in konv), paradižnik (eko in konv), paprika (eko in konv), korenje (eko in konv) in rdeča pesa (eko in konv).

Posušeni vzorci: melancan (eko in konv), brokoli (eko in konv), bazilika (eko in konv), rukola (eko in konv), peteršilj (eko in konv), zelena (eko in konv) in češnjev paradižnik (eko in konv).



Slika 18: Zbiranje vzorcev

Figure 18: Sample collection

3.2.2 Določanje antioksidativne učinkovitosti

Princip:

Za določanje antioksidativne učinkovitosti (AOP) sadja in zelenjave smo v našem poskusu uporabili metodo prostih radikalov – metodo DPPH, po postopku, ki so ga opisali drugi raziskovalci (Brand-Williams in sod., 1995; Shyu in Hwang, 2002). Prosti radikal DPPH je temno vijolične barve in svetlobo najbolje absorbira pri valovni dolžini 517 nm. V reakciji z antioksidanti pride do razkroja, pri čemer se absorbanca pri 517 nm zniža proporcionalno z vsebnostjo antioksidantov v vzorcu. Rezultate naše študije smo izrazili v mili molih DPPH na 100 g svežega vzorca (mmol DPPH/100 g SV).



Slika 19: Priprava vzorcev za merjenje antioksidativne učinkovitosti

Figure 19: Sample preparation for antioxidant activity measuring

3.2.2.1 Meritev antioksidativne učinkovitosti frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov (AOPea)

Reagenti in naprave:

- DPPH[•] (Sigma, Nemčija)
- Etil acetat (Merck, Nemčija)
- UV-VIS spektrofotometer (Hewlett-Packard, model HP-8453 (ZDA))
- Ultra Turrax T 25
- analitska tehtnica
- mikrocentrifugirke
- centrifuga
- kvarčne kivete

Izvedba analize:

Na dan analize smo odmrznili pripravljene vzorce, jim dodali še 10 g raztopine metafosforne kisline in jih homogenizirali z Ultra Turraxom T 25 pri 1.800 obratih toliko časa, da je zmes postala homogena. Sledilo je centrifugiranje (5 minut pri 3.000 obratov/min). V mikrocentrifugirke smo skupaj zmešali 5 mL supernatanta in 5 mL etil acetata. Sledilo je pol-minutno stresanje na ročnem stresalniku. Vzorce smo nato centrifugirali 5 min pri 14.000 obratih na minuto.

Raztopino DPPH smo pripravili po predpisanem postopku. V 100 mL bučko smo zatehtali 4 mg DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazila) in do oznake dopolnili z etil acetatom. Po 15-minutnem stresanju smo bučko z raztopino postavili v ultrazvočno kopel. Etil acetat smo dodajali toliko časa, da je absorbanca približno 1.

Meritve smo izvajali v treh paralelkah. Vzorec za končno analizo (VZ) smo dobili tako, da smo iz vsake mikrocentrifugirke odpipetirali 0,5 mL filtrata in mu primešali 1,5 mL raztopine DPPH. Za kontrolo smo imeli slepi vzorec (SV) in referenčni vzorec (RF):

Za analizo smo pripravili v kvarčnih kivetah:

1. RF: 0,5 mL etil acetata + 1,5 mL raztopine DPPH
2. VZ: 0,5 mL vzorca + 1,5 mL raztopine DPPH
3. SV: 0,5 mL vzorca + 1,5 mL etil acetata

Pripravljenim vzorcem smo izmerili absorbanco po 30 in 90 minutah pri 517 nm.

Izračun:

$$\Delta A = A_{RF} - (A_{VZ} + A_{SV}) \quad \dots (2)$$

$$n(\text{mol}) = \frac{\Delta A}{\varepsilon} \times (V_{\text{iz}} * L)$$

$$AOP = c_{\text{DPPH}} \left(\frac{\text{mmol}}{\text{l}} \right) = n \times 1 \times 10^6 \times \frac{10^3}{V_{\text{vz}}} \times R$$

$$\varepsilon = 1,2 \times 10^4 \frac{\text{l} \times \text{cm}}{\text{mol}}$$

$$L = 1 \text{ cm}$$

V_{iz} - volumen reakcijske zmesi (V vzorca + V metanola/etil acetata); V_{vz} - volumen vzorca; R - razredčitev; ε - molarna absorptivnost DPPH; L - dolžina poti žarka (1 cm); A – absorbanca; AOP – antioksidativna učinkovitost, c_{DPPH} - množinska koncentracija DPPH.

3.2.2.2 Merjenje polarne AOP

Reagenti in naprave:

- DPPH (Sigma, Nemčija)
- Metanol (Merck, Nemčija)
- UV-VIS spektrofotometer (Hewlett-Packard, model HP-8453 (ZDA))
- Ultra Turrax T 25
- Analitska tehtnica
- Mikrocentrifugirke
- Centrifuga
- Kivete

Izvedba analize:

Na dan analize smo odmrznili pripravljene vzorce, jim dodali še 10 g raztopine metafosforne kisline in jih homogenizirali z Ultratouraxom T 25 pri 1.800 obratih toliko časa, da je zmes postala homogena. Sledilo je centrifugiranje (5 minut pri 3.000 obratov/min). Supernatant smo prelili v 3 mikrocentrifugirke in ga centrifugirali 5 min pri 14.000 obratih na minuto.

Raztopino DPPH smo pripravili po predpisanem postopku: v 100 mL bučko smo zatehtali 4 mg DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazila) in jo do oznake napolnili z metanolom. Po 15-minutnem stresanju smo bučko z raztopino postavili še v ultrazvočno kopel.

Metanol smo dodajali toliko časa, da je bila absorbanca približno 1. Zaradi slabe obstojnosti raztopine smo za vsak sklop analiz pripravili novo raztopino, da smo zmanjšali možnosti morebitnih napak.

Meritve smo izvajali v treh paralelkah. Za končno analizo smo iz vsake mikrocentrifugirke odpipetirali 60 ali 100 μ L filtrata (VZ) in mu primešali 1,5 mL raztopine DPPH. Pri ekološkem in konvencionalnem paradižniku, rdeči pesi, jabolku, češnji in ekološki malini smo za vzorčenje vzeli 60 μ L vzorca, pri vseh ostalih pa 100 μ L. S spremembo količine vzorca smo prilagodili tudi slepi vzorec (SV) in referenčni vzorec (RF):

1. RF: 60 ali 100 μ L metanola + 1,5 mL raztopine DPPH
2. VZ: 60 ali 100 μ L vzorca + 1,5 mL raztopine DPPH
3. SV: 60 ali 100 μ L vzorca + 1,5 mL metanola

S testnimi analizami se je izkazalo, da bodo za sadje in zelenjavo potrebne razredčitve v razmerjih, ki so prikazani v preglednici 4.

Preglednica 4: Razredčitve vzorcev

Table 4: Samples dilution

RAZREDČITEV	EKOLOŠKO	KONVENCIONALNO
1:2	Češnja, jabolko, češnjev paradižnik	Češnja, češnjev paradižnik
1:4	Paprika, malina	Paprika
1:5	Melancan, zelena, peteršilj, rukola, brokoli	Malina, melancan, zelena, peteršilj, bazilika, rukola, brokoli
1:10	Bazilika	
1:50	Rdeča pesa	Rdeča pesa

Po pripravi ustreznih razredčitev smo izmerili vrednost absorbance pri 517 nm, za vzorce po 30, 75 in 90 minutah. Za statistično obdelavo smo uporabili izmerjeno absorbanco po

30 in 75 minutah, saj se rezultati po 90 minutah niso statistično značilno razlikovali od rezultatov po 75 minutah, so pa bile vrednosti med ponovitvami za posamezne vzorce v povprečju bolj razpršene.

Za izračun polarne AOP smo uporabili enačbo (2).

3.2.3 Določanje skupnih fenolov (Folin-Ciocalteu metoda)

Princip:

Za določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin (SF) smo uporabili metodo z reagentom Folin-Ciocalteu (FC) in galno kislino (GK) po postopku, ki ga je opisal Gutfinger (1981). Raztopina nereducirane oblike je rumene barve, produkt redukcije kovinskega oksida je modro obarvan in absorbira svetlobo pri 765 nm. Izmerjena absorbanca je premosorazmerna s koncentracijo fenolnih snovi v vzorcu.

Reagenti in naprave:

- Folin-Ciocalteu (Merck, Nemčija) razredčen z deionizirano vodo v razmerju 1:2
- 20 % raztopina natrijevega karbonata (Na_2CO_3) (Sigma, Nemčija)
- galna kislina (Sigma, Nemčija)
- deionizirana voda
- UV-VIS spektrofotometer (Hewlett-Packard, model HP-8453 (ZDA))
- merilne bučke
- kvarčne kivete

Izvedba analize:

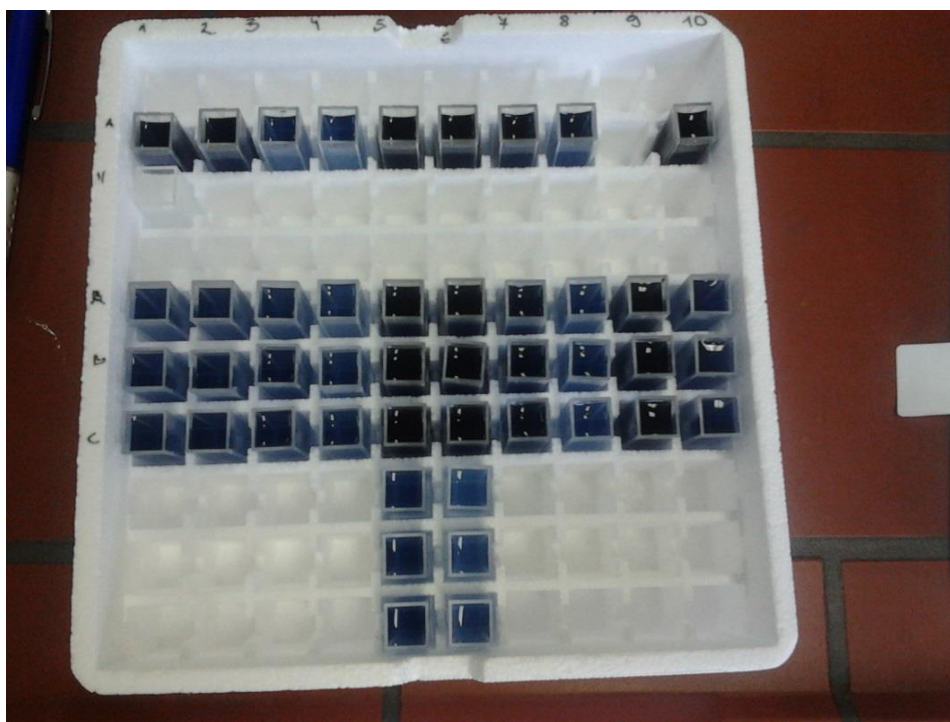
- Umeritvena krivulja

Izhodna raztopina je bila pripravljena tako, da smo v 100 mL bučko zatehtali 30 mg galne raztopine in do oznake dopolnili z deionizirano vodo. Iz osnovne raztopine galne kisline smo z ustreznim redčenjem pripravili različne koncentracije standardnih raztopin (3, 15, 30, 75 in 150 mg/L galne kisline).

V kivete (dolžina optične poti 10 mm) smo nato pripravili vzorčke v treh paralelkah, pri čemer je bil slepi vzorec deionizirana voda. Pripravili smo 5 kivet:

1. 200 μL raztopine s koncentracijo 3 mg/L GK + 2,54 mL FC + 420 μL Na_2CO_3
2. 200 μL raztopine s koncentracijo 15 mg/L GK + 2,54 mL FC + 420 μL Na_2CO_3
3. 200 μL raztopine s koncentracijo 30 mg/L GK + 2,54 mL FC + 420 μL Na_2CO_3
4. 200 μL raztopine s koncentracijo 75 mg/L GK + 2,54 mL FC + 420 μL Na_2CO_3
5. 200 μL raztopine s koncentracijo 150 mg/L GK + 2,54 mL FC + 420 μL Na_2CO_3

Pripravljene vzorce smo eno uro pustili na sobni temperaturi, nato v vsako kiveto dodali 910 μL dvakrat deionizirane vode in izmerili absorbanco pri 765 nm. Iz vrednosti smo narisali umeritveno krivuljo, to je izmerjeno absorbanco v odvisnosti od koncentracije pripravljenih raztopin. Parametre umeritvene krivulje smo uporabili pri izračunu skupnih fenolov.



Slika 20: Priprava vzorcev za določanje skupnih fenolov

Figure 20: Sample preparation for the determination of total phenols

➤ Analiza vzorcev

Barva posameznega vzorca mora ustrezati barvama, ki jih dobimo pri najnižji in najvišji koncentraciji umeritvene krivulje, zato je potrebo vzorce, ki ne padejo v ta barvni spekter, razredčiti. Najprej smo zato pripravili poskusne vzorce in ko smo dosegli prave razredčitve, smo pripravili ustrezno razredčene vzorce v treh ponovitvah. Ustrezne razredčitve so prikazane v preglednici 5.

Preglednica 5: Primerne razredčitve vzorcev za določanje skupnih fenolov

Table 5: Samples dilution for the determination of total phenols

	1:2	1:5	Brez razredčitve
Ekološko in konvencionalno	hruška, paradižnik, češnja, malina, melancan, peteršilj, brokoli	paprika, rdeča pesa, zelena, bazilika	korenje, kumara, češnjev paradižnik, rukola
Ekološko	jabolko, grozdje		
Konvencionalno	nektarina, breskev		jabolko

Za analizo skupnih fenolov smo uporabili vzorce, ki smo jih predhodno pripravili po postopku, opisanem v poglavju 3.2.1. Zamrznjene vzorce v 2 % metafosforni kislini smo na dan analiz odtajali in centrifugirali 5 minut pri 4.000 obratih/min. Nato smo supernatant previdno prelili v mikrocetrifugirke. Pazili smo, da se usedlina ne bi pomešala s supernatantom. Mikrocetrifugirke smo centrifugirali 5 minut pri 1.400 obratih/min. Iz centrifugirke smo analizirali supernatant v treh ponovitvah. Vzorce smo pripravili enako kot smo pripravili vzorce za umeritveno krivuljo: 200 μ L vzorca smo dodali 2,54 mL FC in 420 μ L Na_2CO_3 . Vzorce smo pustili eno uro pri sobni temperaturi smo in nato dodali še 910 μ L dvakrat deionizirane vode in izmerili absorbanco pri 765 nm.

3.2.4 Določanje deleža ogljikovih in dušikovih izotopov

Princip:

Za določanje $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v vzorcih sadja in zelenjave smo uporabili masni spektrometer za analitiko stabilnih izotopov lahkih elementov - IRMS. Metoda temelji na merjenju izotopskega razmerja med deležem težjega in lažjega izotopa. Izotopsko razmerje je podano v ‰ z vrednostjo δ in je definirano z enačbo (1).

Reagenti in naprave:

- referenčni standardi IAEA-NBS 22 (oil), IAEA-CH-6 in IAEA-CH-7
- laboratorijski standard: ureaC
- kositrove kapsule dimenzije 6×4 mm (SerCon, Velika Britanija)
- pinceta
- masni spektrometer Europa Scientific 20-20 s sistemom ANCA-SL za trde in tekoče vzorce

Analiza $\delta^{15}\text{N}$ in $\delta^{13}\text{C}$:

Za analizo smo pripravili kositrove kapsule (6×4 mm). Približno 1 mg posameznega liofiliziranega ali posušenega vzorca smo s pomočjo pincete prenesli v kapsulo, ga zatisnili in oblikovali v kroglico. Te smo polagali v nosilec za kapsule in nato vzorce namestili v avtomatski podajalnik masnega spektrometra. Sledil je sežig vzorcev in analiza na masnem spektrometru.

Pred merjenjem vzorcev smo pripravili ustrezne standarde. Za spremljanje kvalitete meritev za določitev izotopske sestave dušika smo uporabili naslednja referenčna standarda: standard IAEA-N-1, ki ima $\delta^{15}\text{N}$ vrednost $0,4 \pm 0,2$ ‰, in IAEA-N-2, katerega $\delta^{15}\text{N}$ vrednost znaša $20,3 \pm 0,2$ ‰. Za vsakodnevno preverjanje pravilnosti meritev se uporablja laboratorijski standard europaN, katerega $\delta^{15}\text{N}$ vrednost znaša $2,5 \pm 0,2$ ‰.

Za spremljanje pravilnosti poteka meritev za določitev izotopske sestave ogljika pa smo za referenčne standarde uporabili IAEA-NBS, IAEA-CH-7 in IAEA-CH-6, ki imajo $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti $-29,7 \pm 0,2$ ‰, $-31,8 \pm 0,2$ ‰ in $-10,4 \pm 0,2$ ‰. Za laboratorijski standard pa smo uporabili ureaC z vrednostjo $\delta^{13}\text{C} -30,6 \pm 0,2$ ‰.

Sestavo standarda je potrebno določiti na koncu in tudi na začetku meritev. Napaka meritev znaša $\pm 0,2$ ‰ za ogljik in $\pm 0,3$ ‰ za dušik.

3.2.5 Določanje vsebnosti mineralov s pomočjo EDXRF

Princip:

Koncentracije elementov v vzorcih smo določili s pomočjo energijsko disperzijske rentgenske fluorescenčne spektrometrije (EDXRF). Gre za nedestruktivno metodo, kjer predhodna kemična obdelava vzorcev ni potrebna. Princip te analize temelji na tem, da je za koncentracijo elementov v vzorcu potrebno določiti celotno matriko. Do tega pridemo z meritvijo absorpcije rentgenskih žarkov v vzorcu in določitvijo površinske mase tabletke (ρd (g/cm^2)).

Skupno smo v vzorcih sadja in zelenjave z omenjeno metodo določili pet elementov: P, S, Cl, K in Ca. Za grozdje, breskev in nektarino meritev nismo izvajali, saj nismo imeli zajetih obeh načinov kmetovanja, zato smo jih iz analiz izključili. Z izjemo vzorca hruške, smo ostalim vzorcem določili vsebnost vseh petih elementov. Pri vzorcu ekološke hruške nismo izmeriti prisotnosti žvepla in klora, pri vzorcu konvencionalne hruške pa nismo izmerili vsebnosti klora.

3.2.5.1 Priprava vzorcev

Za te analize smo uporabili zamrznjene in liofilizirane vzorce, katerih postopek priprave je opisan v poglavju 3.2.1.

Pripravljenim vzorcem je sledilo uprašenje s terilnico. Pri nekaj vzorcih (češnjev paradižnik, češnja, melancan) s terilnico nismo dobili želene strukture, zato smo tem dodali tekoči dušik in potem ponovno vzorec uprašili v terilnici.

3.2.5.2 Postopek

Med 0,5 in 1,0 g uprašenega vzorca smo s pomočjo kalupa in hidravlične stiskalnice stisnili v okrogle tablete premera 2,5 cm.

Vsako tabletko smo stehali in naredili meritve z energijsko disperzijskim rentgenskim fluorescenčnim spektrometrom (EDXRF), opremljenim z vakuumsko komoro. Kot primarni vir vzbujanja za fluorescenčno ekscitacijo sta bila uporabljena železov radioizotopski vir Fe-55 (20 mCi) in kadmijev Cd-109 (20 mCi). Analize smo izvedli na Odseku za fiziko nizkih in srednjih energij Instituta Jožef Stefan v Ljubljani. Merjenje spektra vzorcev je potekalo 4.000 sekund, pri čemer je bila energijska resolucija spektrometra 175 eV pri 5,9 keV. Izmerili smo koncentracije P, S, Cl, K in Ca.

Elementarno sestavo vzorca smo izračunali s programom QAES (angl. Quantitative Analysis of Environmental Samples), ki je bil razvit na Institutu Jožef Stefan.

Rezultati elementarne vsebnosti so izraženi kot mg na kg suhe snovi (mg/kg SS).

3.2.6 Statistična analiza podatkov

V prvem delu statistične analize smo izračunali osnovne statistične parametre in ocenili korelacijske koeficiente med posameznimi meritvami. Za to smo uporabili programski paket SAS Base (9.2). V drugem delu smo izvedli analizo variance in pri tem uporabili statistični paket SAS/STAT (9.2). Za analizo variance smo za meritve (y_{ijk}), ki so bile izvedene v treh ponovitvah, uporabili statistični model, ki opisuje sistemske vplive: način pridelave (N_i), vrsto pridelka (P_j) in interakcijo med njima (NP_{ij}) (statistični model (3)). Za meritve, ki so bile izvedene enkrat smo uporabili model brez interakcije (statistični model (4)).

$$y_{ijk} = \mu + N_i + P_j + NP_{ij} + e_{ijk} \quad \dots (3)$$

$$y_{ij} = \mu + N_i + P_j + e_{ij} \quad \dots (4)$$

4 REZULTATI

V eksperimentalnem delu doktorske disertacije smo z različnimi analizami za določanje AOP analizirani 96 vzorcev pridelkov, za določitev SF pa 94 vzorcev. V drugem delu (izotopi dušika in ogljika ter elementna sestava) smo analizirali 32 vzorcev. Vzorce smo za pregled osnovne statistike razdelili v tri skupine: sadje, zelišča in zelenjava, ter obravnavali ločeno ekološke in konvencionalne pridelke. Določili smo AOP, SF, $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti ter elementno sestavo. V nadaljevanju prikazujemo rezultate statistične analize proučevanih parametrov, določenih na vzorcih v poskus zajetih pridelkov. V treh podpoglavjih predstavljamo osnovno statistiko, korelacije in analizo variance.

4.1 OSNOVNA STATISTIKA

V tem podpoglavju prikazujemo osnovne statistične parametre za proučevane lastnosti po načinu pridelave, skupini pridelkov in skupaj.

4.1.1 Antioksidativna učinkovitost

AOP vzorcev smo določili z metodo DPPH. Opravili smo analize za polarne antioksidante in antioksidativno učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov (AOPea). Postopek analize je za razliko topila zelo podoben. Za določanje polarne AOP smo vzorce ekstrahirali z metanolom, za določanje AOPea pa z etil acetatom. Pri polarnem AOP smo primerjali podatke analiz po 30 in 75 minutah. Za določanje AOPea smo v analize zajeli meritve po 30 in 90 minutah.

4.1.1.1 Antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov

Največji AOPea ima skupina sadje, sledijo zelišča, najmanjše vrednosti smo v povprečju določili za zelenjavo (preglednica 6).

Skupno povprečje za ekološke pridelke se zelo malo razlikuje od povprečja za konvencionalne pridelke, vendar so rezultati po 30 minutah v vseh skupinah višji pri ekoloških pridelkih. Po 90 minutah so razlike manjše. Pri zeliščih in zelenjavi je AOPea enaka. Enako lahko zaključimo tudi pri primerjavi variabilnosti (preglednica 6).

Preglednica 6: Osnovni statistični parametri za antioksidativno učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov (AOPea) po skupinah pridelkov glede na način pridelave

Table 6: Descriptive statistics of antioxidant activity of fraction in ethyl acetate antioxidant soluble antioxidants (AOPea) by produce groups of products with regard to farming systems

Pridelava / Skupina pridelkov		AOPea 30 (mmol DPPH/100 g SV)					AOPea90 (mmol DPPH/100 g SV)				
		N	x	SD	Min	Max	N	x	SD	Min	Max
Ekološka	Sadje	11	0,28	0,074	0,11	0,35	12	0,38	0,074	0,22	0,46
	Zelišča	12	0,19	0,094	0,10	0,34	12	0,22	0,115	0,08	0,40
	Zelenjava	24	0,12	0,046	0,04	0,21	24	0,19	0,102	0,06	0,42
	Skupaj	47	0,18	0,092	0,04	0,35	48	0,25	0,125	0,06	0,46
Konvencionalna	Sadje	12	0,23	0,069	0,10	0,32	12	0,33	0,089	0,25	0,48
	Zelišča	12	0,18	0,123	0,04	0,37	12	0,22	0,183	0,03	0,49
	Zelenjava	23	0,11	0,059	0,02	0,24	24	0,19	0,102	0,04	0,38
	Skupaj	47	0,16	0,094	0,02	0,37	48	0,23	0,135	0,03	0,49
Skupaj		94	0,17	0,093	0,02	0,37	96	0,24	0,130	0,03	0,49

N - število vzorcev, x - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, Min - najmanjša vrednost, Max - največja vrednost; AOPea 30 - antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjena po 30 minutah, AOPea90 - antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjena po 90 minutah, SV – svež vzorec

4.1.1.2 Polarna antioksidativna učinkovitost

Največjo polarno AOP ima skupina zelišča, skupini pridelkov sadje in zelenjava pa imata manjše povprečne vrednosti (preglednica 7).

Preglednica 7: Osnovni statistični parametri za polarno AOP po skupinah pridelkov glede na način pridelave
Table 7: Descriptive statistics of polar antioxidant activity by produce groups with regard to farming systems

Pridelava / Skupina pridelkov		AOPmet30 (mmol DPPH/100 g SV)					AOPmet75 (mmol DPPH/100 g SV)				
		N	x	SD	Min	Max	N	x	SD	Min	Max
Ekološka	Sadje	12	0,46	0,224	0,22	0,81	12	0,65	0,327	0,33	1,17
	Zelišča	12	0,83	0,206	0,53	1,13	12	1,06	0,287	0,69	1,36
	Zelenjava	24	0,48	0,324	0,12	1,17	24	0,66	0,515	0,15	2,27
	Skupaj	48	0,56	0,314	0,12	1,17	48	0,76	0,453	0,15	2,27
Konvencionalna	Sadje	12	0,47	0,168	0,21	0,69	12	0,64	0,223	0,31	0,91
	Zelišča	12	0,84	0,521	0,43	1,73	12	1,11	0,778	0,50	2,42
	Zelenjava	24	0,46	0,538	0,07	2,70	24	0,61	0,568	0,09	2,37
	Skupaj	48	0,56	0,489	0,07	2,70	48	0,74	0,599	0,09	2,42
Skupaj		96	0,56	0,409	0,07	2,70	96	0,75	0,528	0,09	2,42

N - število vzorcev, x - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, Min - najmanjša vrednost, Max - največja vrednost, AOPmet30 - polarna antioksidativna učinkovitost, izmerjena po 30 minutah, AOPmet75 - polarna antioksidativna učinkovitost, izmerjena po 75 minutah, SV - svež vzorec

Skupno povprečje za ekološke pridelke se zelo malo razlikuje od povprečja za konvencionalne pridelke. V nasprotju z AO_{Pea} so povprečne vrednosti po 30 minutah za sadje in zelišča večje v vzorcih konvencionalnih pridelkov, medtem ko smo višjo polarno AOP določili v ekološko pridelani zelenjavi. Tudi po 75 minutah je slika identična. Konvencionalni vzorci so nekoliko bolj variabilni za to lastnost v primerjavi z ekološkimi vzorci. To je posledica večjega variacijskega razmika (manjši minimumi in večji

maksimumi) v primeru konvencionalnih pridelkov. Te razlike so izrazitejše za polarno AOP po 30 minutah, v primerjavi s to lastnostjo po 75 minutah (preglednica 6).

4.1.2 Vsebnost skupnih fenolov

Rezultati določanja vsebnosti skupnih fenolov (SF), določenih s Folin Ciocalteu (F.C.) metodo so podani za skupine sadja, zelišč in zelenjave. Skupno je v analizo zajetih 96 vzorcev, 48 za ekološke in 48 za konvencionalne pridelke.

Najvišjo vsebnost za SF ima skupina pridelkov zelišča in konvencionalne pridelave, sledi skupina pridelkov zelenjava iz ekološke pridelave in skupina pridelkov sadja iz ekološke pridelave. Najmanjše vsebnosti za SF imata skupini pridelkov sadje in zelenjava iz konvencionalne pridelave (preglednica 8). Povprečne vsebnosti za sadje in zelenjavo so višje pri ekoloških pridelkih, pri zeliščih pa so višje povprečne vrednosti dosegli konvencionalni pridelki. Najbolj variabilne so vrednosti za skupino pridelkov zelenjave iz ekološke pridelave in zelišč iz konvencionalne pridelave. Najmanjšo variabilnost kažejo vzorci sadja iz obeh načinov pridelave.

Preglednica 8: Osnovni statistični parametri za vsebnost skupnih fenolov (SF) po skupinah pridelkov glede na način pridelave

Table 8: Descriptive statistics of total phenols by produce groups with regard to farming system

Pridelava / Skupina pridelkov		SF (mg/100 g SV)				
		N	x	SD	Min	Max
Ekološka	Sadje	12	6,11	1,290	3,86	7,95
	Zelišča	12	9,54	4,556	3,94	14,84
	Zelenjava	24	7,44	6,873	1,49	23,82
	Skupaj	48	7,63	5,469	1,49	23,82
Konvencionalna	Sadje	12	5,28	0,945	3,93	6,57
	Zelišča	12	9,99	6,448	3,55	16,87
	Zelenjava	24	5,26	3,682	0,84	15,24
	Skupaj	48	6,44	4,566	0,84	16,87
Skupaj		96	7,04	5,046	0,84	23,82

N - število vzorcev, x - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, Min - najmanjša vrednost, Max - največja vrednost

4.1.3 Vrednosti izotopske sestave ogljika in dušika

Vrednosti izotopov ogljika $\delta^{13}\text{C}$ in dušika $\delta^{15}\text{N}$ smo določali v 32 vzorcih. Polovica vzorcev je bilo ekoloških, druga polovica konvencionalnih. Razdelili smo jih v skupine sadje, zelišča in zelenjava.

Najvišjo povprečno vrednost $\delta^{13}\text{C}$ imata skupini pridelkov sadje in zelenjava iz ekološke pridelave, nekoliko nižje povprečne vrednosti imata ti dve skupini iz konvencionalne pridelave. Najnižjo povprečno vrednost $\delta^{13}\text{C}$ (29,7 ‰) imajo zelišča (preglednica 9). Nekoliko nižje povprečne vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ imata konvencionalno sadje in zelenjava v primerjavi z ekološkim. Nižje vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ v primerjavi s konvencionalnim kaže tudi skupina ekoloških zelišč.

Največjo variabilnost v vrednostih $\delta^{13}\text{C}$ kažejo vzorci sadja iz konvencionalne pridelave, sledijo vzorci zelenjave iz konvencionalne pridelave in vzorci zelišč iz ekološke pridelave. Najmanj variabilne vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ so v vzorcih zelišč iz konvencionalne pridelave, vzorcev

zelenjave ter sadja iz ekološke pridelave. Razlike med povprečji in variabilnostjo v vrednostih $\delta^{13}\text{C}$ so med vsemi vzorci iz ekološke in konvencionalne pridelave majhne.

Preglednica 9: Osnovni statistični parametri za vrednosti izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) in dušika ($\delta^{15}\text{N}$) po skupinah pridelkov glede na način pridelave

Table 9: Descriptive statistics of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotopes by produce groups with regard to farming systems

Pridelava / Skupina pridelkov		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)					$\delta^{15}\text{N}$ (‰)				
		N	x	SD	Min	Max	N	x	SD	Min	Max
Ekološka	Sadje	4	-26,4	1,01	-27,5	-25,4	4	6,1	6,55	1,3	15,8
	Zelišča	4	-29,7	1,23	-31,5	-28,7	4	4,4	1,60	2,5	5,8
	Zelenjava	8	-26,5	1,10	-28,4	-25,3	8	5,2	2,90	0,9	9,4
	Skupaj	16	-27,3	1,78	-31,5	-25,3	16	5,2	3,66	0,9	15,8
Konvencionalna	Sadje	4	-27,4	2,36	-30,6	-25,5	4	5,1	2,54	2,6	8,5
	Zelišča	4	-29,0	1,12	-30,6	-28,1	4	0,8	1,67	-0,7	2,9
	Zelenjava	8	-27,3	1,51	-29,5	-25,3	8	4,1	3,39	-1,0	8,1
	Skupaj	16	-27,7	1,73	-30,6	-25,3	16	3,5	3,17	-1,0	8,5
Skupaj		32	-27,5	1,74	-31,5	-25,3	32	4,4	3,48	-1,0	15,8

N - število vzorcev, x - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, Min - najmanjša vrednost, Max - največja vrednost

Najvišjo povprečno vrednost $\delta^{15}\text{N}$ ima skupina pridelkov sadje iz ekološke pridelave, nekoliko nižje povprečje imata skupini zelenjava iz ekološke in sadje iz konvencionalne pridelave, sledita skupini zelišča iz ekološke ter zelenjava iz konvencionalne pridelave, najnižjo povprečno vrednost $\delta^{15}\text{N}$ imajo zelišča iz konvencionalne pridelave (preglednica 9). Vse tri skupine pridelkov, tako sadje, zelišča, kot tudi zelenjava, imajo višje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ iz sklopa ekoloških pridelkov glede na konvencionalne pridelke.

Največjo variabilnost v vrednostih $\delta^{15}\text{N}$ kažejo vzorci sadja iz ekološke pridelave, sledijo vzorci zelenjave iz obeh načinov pridelave in vzorci sadja iz konvencionalne pridelave. Najmanj variabilni so rezultati vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ vzorcev zelišč iz obeh načinov pridelave.

Skupno povprečje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ vzorcev iz ekološke pridelave je višje za vzorce iz konvencionalne pridelave, podobno velja tudi za variabilnost.

4.1.4 Elementna sestava

Vsebnost petih elementov (P, S, Ca, K, Cl) smo določili v 32 vzorcih. Polovica vzorcev je bilo ekoloških, druga polovica konvencionalnih.

4.1.4.1 Vsebnost fosforja in žvepla

Največjo povprečno vsebnost fosforja imajo konvencionalna zelišča, sledi zelenjava in bistveno manjše vrednosti smo določili v sadju. V vseh primerih velja, da so vsebnosti za konvencionalne pridelke večje od ekoloških (preglednica 10). Največjo variabilnost za fosfor kažejo vzorci zelenjave, sledijo vzorci zelišč, medtem ko najmanjšo variabilnost kažejo vzorci sadja. Razlike v variabilnosti med vzorci iz konvencionalne in ekološke pridelave so znotraj skupin pridelkov majhne. Skupno povprečje za vsebnost fosforja v vzorcih iz ekološke pridelave je manjše od tega parametra za vzorce iz konvencionalne pridelave, podobno velja tudi za variabilnost.

Najvišjo povprečno vsebnost žvepla imajo konvencionalna zelišča, sledi zelenjava, bistveno nižje vsebnosti smo določili za sadje. V primerih sadja in zelenjave velja, da so vsebnosti za konvencionalne pridelke višje od tistih za ekološke pridelke, razen pri zeliščih, kjer je ravno obratno (preglednica 10). Največjo variabilnost za vsebnost žvepla kažejo vzorci zelišč iz ekološke in vzorci zelenjave iz konvencionalne pridelave, sledijo vzorci zelišč iz konvencionalne in vzorci zelenjave iz ekološke pridelave, medtem ko najmanjšo variabilnost kažejo vzorci sadja. Skupno povprečje za vsebnost žvepla, vzorcev iz ekološke pridelave je nekoliko višje od tega parametra za vzorce iz konvencionalne pridelave, podobno velja tudi za variabilnost.

Preglednica 10: Osnovni statistični parametri za vsebnost fosforja (P) in žvepla (S) po skupinah pridelkov glede na način pridelave

Table 10: Descriptive statistics of phosphorus and sulfur content by by produce groups with regard to farming systems

Pridelava / Skupina pridelkov		P (mg/kg)					S (mg/kg)				
		N	x	SD	Min	Max	N	x	SD	Min	Max
Ekološka	Sadje	4	766	400	355	1240	3	268	135	181	423
	Zelišča	4	2845	1314	1300	4410	4	7183	4338	2190	11200
	Zelenjava	8	2383	1733	573	6170	8	2187	3276	269	10200
	Skupaj	16	2094	1563	355	6170	15	3136	4044	181	11200
Konvencionalna	Sadje	4	1096	318	632	1340	4	358	88	280	481
	Zelišča	4	3738	1278	1840	4620	4	4510	3472	1920	9550
	Zelenjava	8	2973	1879	1030	7270	8	3033	4280	1130	13600
	Skupaj	16	2695	1734	632	7270	16	2733	3655	280	13600
Skupaj		32	2394	1652	355	7270	31	2928	3789	181	13600

N - število vzorcev, x - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, Min - najmanjša vrednost, Max - največja vrednost

4.1.4.2 Vsebnost kalcija in kalija

Največjo povprečno vsebnost kalcija imajo zelišča, sledi zelenjava in sadje, kjer smo določili bistveno manjše vsebnosti. V primerih sadja in zelenjave velja, da so vrednosti za konvencionalne pridelke večje od tistih za ekološke pridelke, pri zeliščih pa ravno obratno (preglednica 11). Največjo variabilnost za vsebnost kalcija kažejo vzorci zelišč, sledijo vzorci zelenjave in najmanjšo variabilnost kažejo vzorci sadja. Razlike v povprečnih vsebnostih in variabilnosti so med skupinami pridelkov zelo velike. Skupno povprečje za vsebnost kalcija v vzorcih iz ekološke in konvencionalne pridelave se ne razlikuje veliko. Drugače je z variabilnostjo, kjer se kaže večja variabilnost med vzorci iz ekološke pridelave v primerjavi z vzorci iz konvencionalne pridelave.

Največjo povprečno vsebnost kalija imajo zelišča, sledi zelenjava, nato sadje, kjer smo določili bistveno manjše vsebnosti. V primerih sadja in zelenjave velja, da so vsebnosti kalija v vzorcih iz konvencionalne pridelave večje od tistih za ekološke pridelke, pri

zeliščih pa ravno obratno (preglednica 11) . Največjo variabilnost za kalij kažejo vzorci zelišč, sledijo vzorci zelenjave, precej manj variabilne pa so vsebnosti kalija za vzorce sadja. Skupno povprečje za kalij vzorcev iz ekološke pridelave je nekoliko manjše od tega parametra za vzorce iz konvencionalne pridelave, variabilnost je v primeru ekološke pridelave večja.

Preglednica 11: Osnovni statistični parametri za vsebnost kalcija (Ca) in kalija (K) po skupinah pridelkov glede na način pridelave

Table 11: Descriptive statistics of calcium and potassium content by produce groups with regard to farming systems

Pridelava / Skupina pridelkov		Ca (mg/kg)					K (mg/kg)				
		N	x	SD	Min	Max	N	x	SD	Min	Max
Ekološka	Sadje	4	787	372	449	1210	4	8263	3812	5310	13800
	Zelišča	4	32900	12420	17300	46700	4	39575	8408	28800	48900
	Zelenjava	8	2547	2636	682	8770	8	25850	7727	14600	32800
	Skupaj	16	9695	15038	449	46700	16	24884	13290	5310	48900
Konvencionalna	Sadje	4	817	395	351	1290	4	12830	4896	6920	17100
	Zelišča	4	24470	14568	6080	39400	4	36300	8073	28500	47200
	Zelenjava	8	5859	9436	961	28900	8	33288	8004	25700	51300
	Skupaj	16	9251	13073	351	39400	16	28926	11894	6920	51300
Skupaj		32	9473	13862	351	46700	32	26905	12575	5310	51300

N - število vzorcev, x - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, Min – najmanjša vrednost, Max – največja vrednost

4.1.4.3 Vsebnost klora

Največjo povprečno vsebnost klora imajo zelišča iz ekološke pridelave, sledi zelenjava iz konvencionalne pridelave, zelišča iz konvencionalne pridelave, zelenjava iz ekološke pridelave in najmanjšo vsebnost smo določili v sadju (preglednica 12). Enake zakonitosti kot za povprečje veljajo tudi za variabilnost. Razlike v povprečnih vsebnostih in variabilnosti so med skupinami pridelkov zelo velike. Skupno povprečje vsebnosti klora za vzorcev iz ekološke in konvencionalne pridelave se ne razlikuje veliko. Drugače je z

variabilnostjo, kjer se kaže večja variabilnost med vzorci iz ekološke pridelave glede na vzorce iz konvencionalne pridelave.

Preglednica 12: Osnovni statistični parametri za vsebnost klora (Cl) po skupinah pridelkov glede na način pridelave

Table 12: Descriptive statistics of chlorine content by produce groups with regard to farming systems

Pridelava / Skupina pridelkov		Cl (mg/kg)				
		N	x	SD	Min	Max
Ekološka	Sadje	3	220	218	70	470
	Zelišča	4	7770	4965	1960	14100
	Zelenjava	8	2169	1606	228	4430
	Skupaj	15	3273	3879	70	14100
Konvencionalna	Sadje	3	452	588	86	1130
	Zelišča	4	2980	1920	1180	5380
	Zelenjava	8	4525	2993	1070	9310
	Skupaj	15	3298	2818	86	9310
Skupaj		30	3286	3332	70	14100

N - število vzorcev, x - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, Min - najmanjša vrednost, Max – največja vrednost

4.2 KORELACIJE

V tem poglavju predstavljamo povezave med proučevanimi parametri na dva načina, in sicer kot ocenjene korelacijske koeficiente in grafično. Grafično predstavljamo povezave le za tiste pare, ki imajo ocenjen korelacijski koeficient statistično značilen in absolutno večji od 0,5 za pare znotraj skupine meritev AOP in SF ter skupine meritev elementov in stabilnih izotopov ^{13}C in ^{15}N . Za primer parov med prvo in drugo skupino, so ocenjeni korelacijski koeficienti v povprečju manjši, zato prikazujemo tiste, ki so absolutno večji od 0,35 in so statistično značilni.

4.2.1 Korelacije med AOPea, polarnima AOP in skupnimi fenoli

Največji korelacijski koeficient je ocenjen med polarnima AOP po 30 in 75 minutah, nekoliko manjši med AOPea po 30 in 90 minutah. Visoki sta oceni korelacijskih koeficientov med skupnimi fenoli in obema polarnima AOP. Oceni korelacijskih koeficientov med skupnimi fenoli in obema AOPea, sta bistveno manjši (preglednica 13).

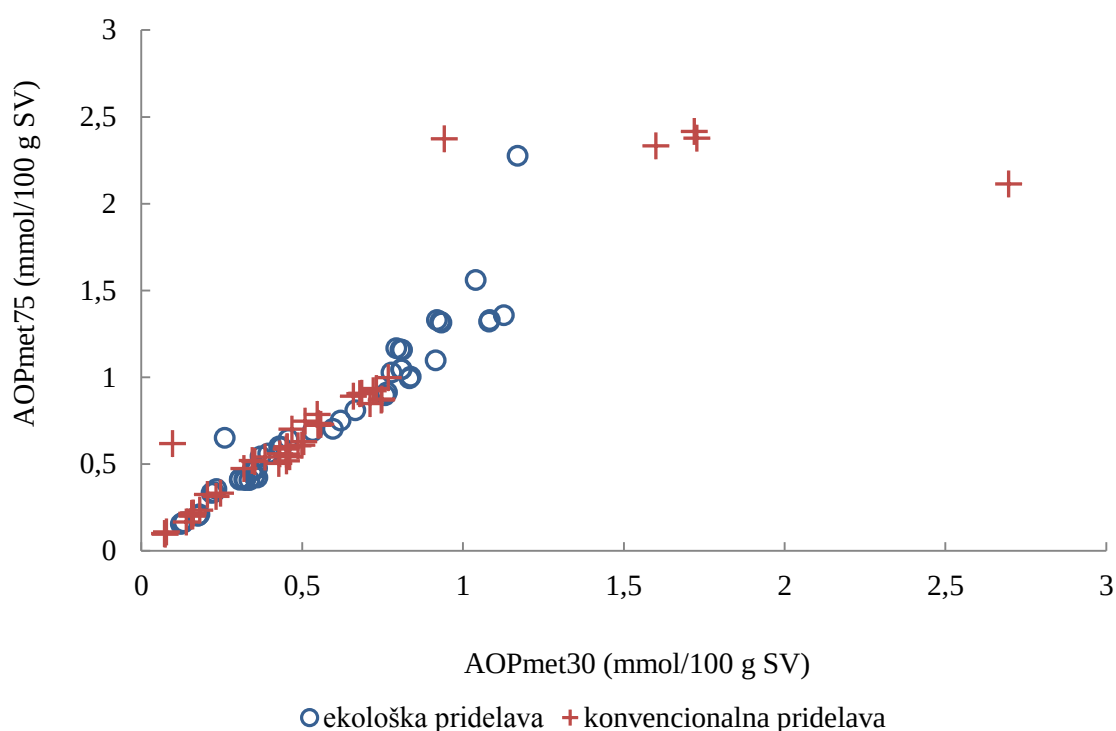
Preglednica 13: Ocenjeni korelacijski koeficienti med pari vrednosti za antioksidativno učinkovitost in vsebnost skupnih fenolov

Table 13: Correlation coefficient estimate between antioxidant activity and total phenols content pairs

	AOPmet75	AOPea30	AOPea90	SF
AOPmet30	0,915	0,339	0,186	0,582
	<,0001	0,0008	0,0699	<,0001
	96	94	96	96
AOPmet75		0,381	0,252	0,720
		0,0002	0,0131	<,0001
		94	96	96
AOPea30			0,800	0,256
			<,0001	0,0126
			94	94
AOPea90				0,269
				0,0081
				96

AOPmet30 - polarna antioksidativna učinkovitost, izmerjena po 30 minutah (mmol DPPH/ 100 g SV), AOPmet75 - polarna antioksidativna učinkovitost, izmerjena po 75 minutah (mmol DPPH/ 100 g SV), AOPea30 - antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjena po 30 minutah (mmol DPPH/100 g SV), AOPea90 - antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjena po 90 minutah (mmol DPPH/ 100 g SV); SF - vsebnost skupnih fenolov (mg/ 100 g SV); zgornja vrednost - ocena Pearsonovega korelacijskega koeficienta; srednja vrednost - tveganje za ocenjen korelacijski koeficient; spodnja vrednost - število parov, na katerih je ocenjen korelacijski koeficient

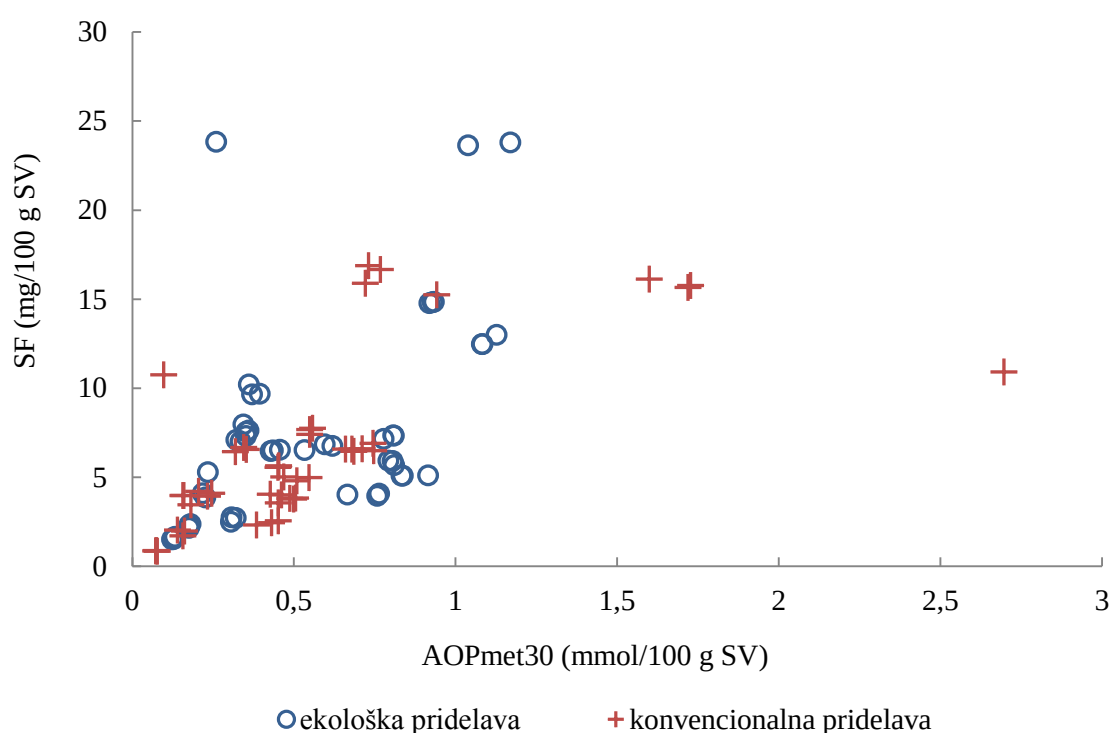
Korelacijski koeficient med polarnima AOP po 30 in 75 minutah je na 96 parih ocenjen na 0,91. S slike 21 vidimo, da od skupine, za katere velja močnejša povezanost, odstopa šest parov meritev. Za te primere meritev velja, da imajo zelo visoko vrednost za polarno AOP po 75 minutah. Od teh šestih parov so vrednosti petih pridelkov iz konvencionalne pridelave. Odstopata še dve meritvi, ki imata bistveno manjšo vrednost za polarno AOP po 30 minutah kot po 75 minutah. Pri ostalih parih meritev opazimo rahel trend, da je pri manjših vrednostih povezanost močnejša kot pri nekoliko višjih vrednostih polarne AOP.



Slika 21: Povezanost med polarnima antioksidativnima učinkovitostma, izmerjenima po 30 (AOPmet30) in 75 (AOPmet75) minutah

Figure 21: The correlation between polar antioxidant activities measured after 30 (AOPmet30) and 75 (AOPmet75) minutes

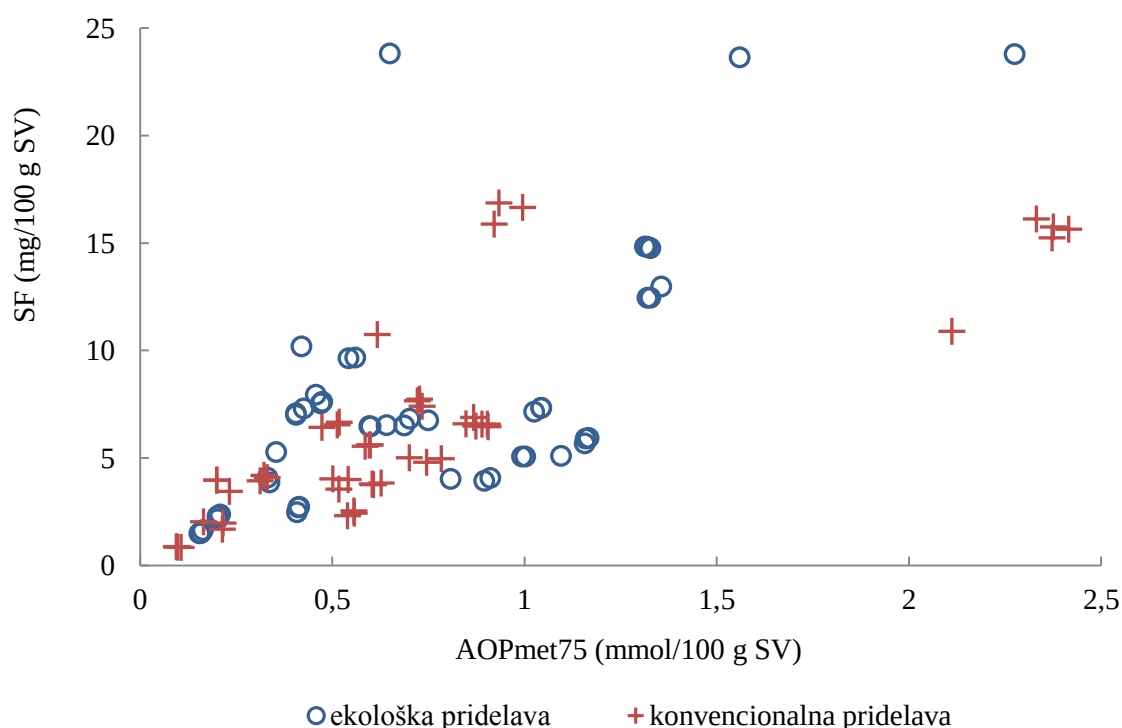
Ocenjen korelacijski koeficient med polarno antioksidativno učinkovitostjo, merjeno po 30 minutah, in vsebnostjo skupnih fenolov je na 96 parih meritev ocenjen na 0,58. Iz slike 22 vidimo, da je pri zelo nizkih vrednostih zelo močna povezanost med obravnavanima lastnostma. Posebej odstopa največja vrednost za polarno AOP po 30 minutah, pri kateri je vrednost skupnih fenolov povprečna. Pri najvišjih vrednostih za skupne fenole je vrednost za polarno AOP po 30 minutah nizka. Na splošno je povezanost manjša kot med polarnima AOP po 30 in 75 minutah (slika 21), kar je pričakovano.



Slika 22: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo skupnih fenolov

Figure 22: The correlation between polar antioxidant activities measured after 30 minutes (AOPmet30) and total phenols

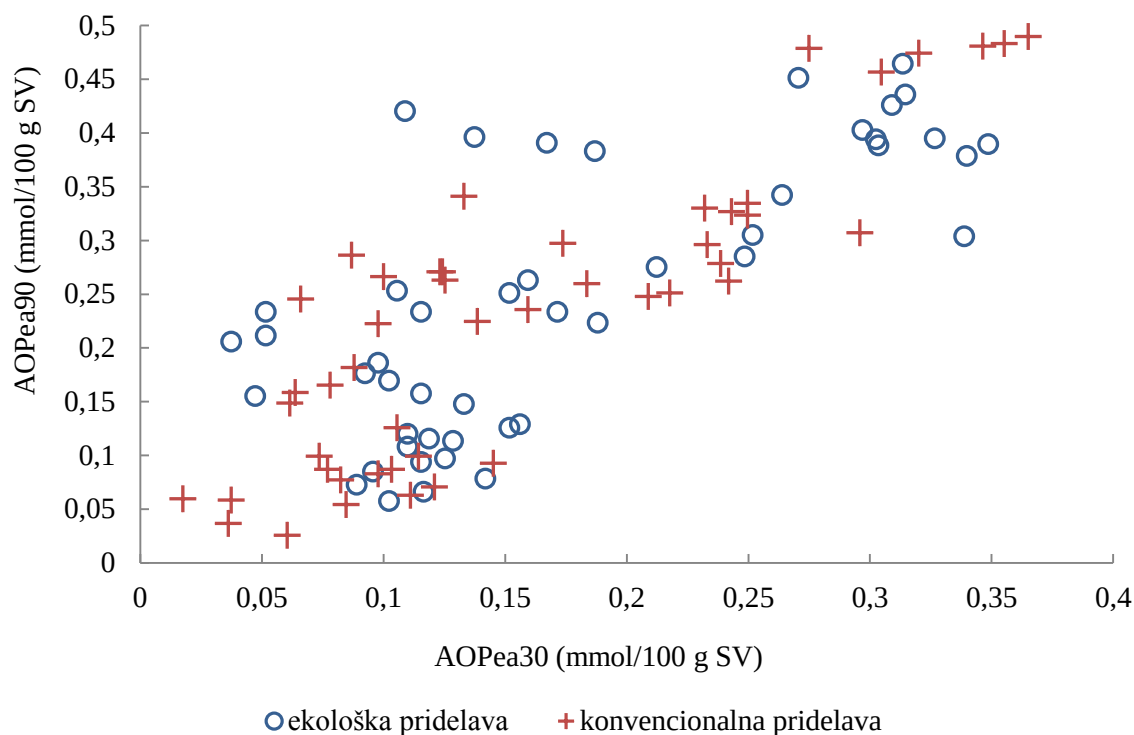
Korelacijski koeficient med polarno AOP po 75 minutah in SF je na 96 parih meritev ocenjen na 0,72. V primerjavi s prejšnjim primerom je ocenjen korelacijski koeficient precej višji. Na osnovi visoke ocene korelacijskega koeficienta med polarnima AOP po 30 in 75 minutah, smo pričakovali manjšo razliko. S slike 23 vidimo, da je podobno kot v prej opisanem primeru pri zelo nizkih vrednostih zelo močna povezanost med obravnavanima lastnostma. Posameznih parov, ki bi ekstremno odstopali od večine, ni. Tri najvišje vrednosti za skupne fenole, ki izhajajo iz ekološke pridelave, imajo v tem primeru višje vrednosti za polarno AOP kot v prej opisanem primeru.



Slika 23: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitost, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), in vsebnostjo skupnih fenolov

Figure 23: The correlation between polar antioxidant activity measured after 75 minutes (AOPmet75) and total phenols

Korelacijski koeficient med AO_{Pea} po 30 in 90 minutah je na 96 parih meritev ocenjen na 0,80. S slike 24 vidimo, da ni vrednosti, ki bi posebej odstopala, niti ni segmenta vrednosti, kjer bi bila povezava močnejša. Opazno je le, da so vrednosti za AO_{Pea} po 90 minutah v večini primerov višje od vrednosti za AO_{Pea} po 30 minutah.



Slika 24: Povezanost med antioksidativnima učinkovitostma frakcij v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjenima po 30 (AO_{Pea}30) in 90 (AO_{Pea}90) minutah

Figure 24: The correlation between antioxidant activity of fraction in ethyl acetate soluble antioxidants measured after 30 (AO_{Pea}30) and 90 (AO_{Pea}90) minutes

4.2.2 Korelacije med vrednostma $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter vsebnostjo elementov

Med vrednostma $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter vsebnostjo elementov so ocenjeni korelacijski koeficienti negativni (preglednica 14). Najvišji korelacijski koeficient je ocenjen med vsebnostjo kalcija in vsebnostjo žvepla, manjši korelacijski koeficient smo dobili med vsebnostjo fosforja in vsebnostjo žvepla ter vsebnostjo kalija in vsebnostjo klora. Med vrednostma $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ je ocenjen korelacijski koeficient pozitiven, a ni statistično značilen.

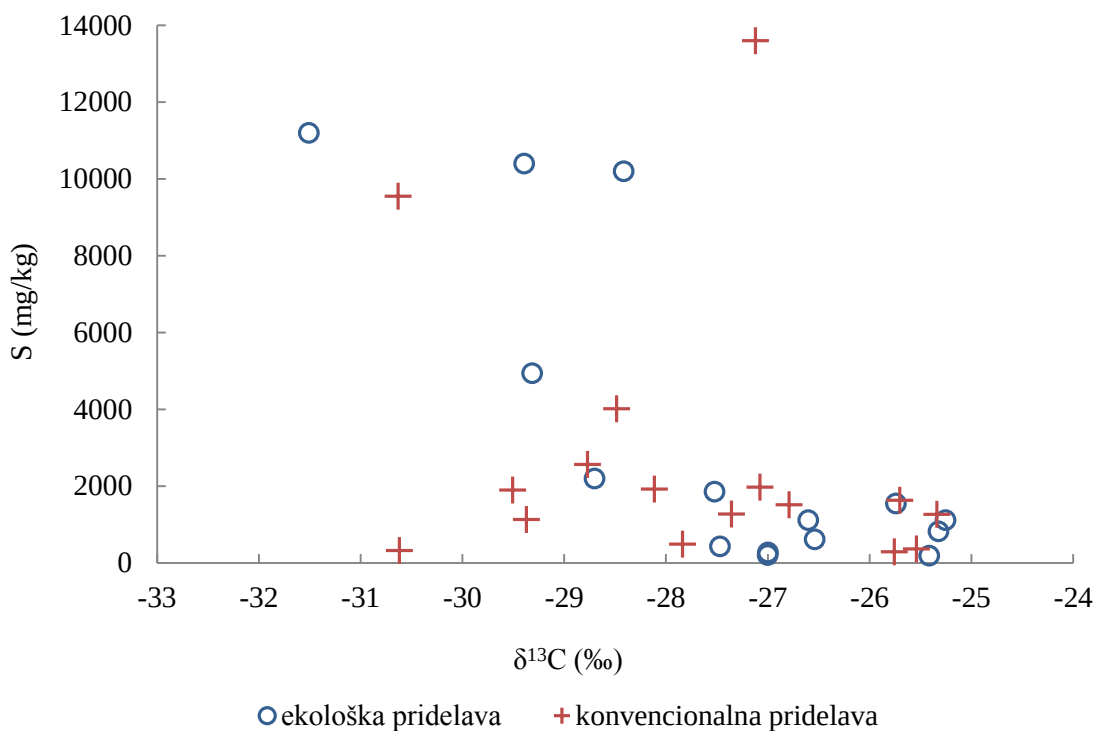
Preglednica 14: Ocenjeni korelacijski koeficienti med pari vrednosti izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$) in ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) ter elementne sestave

Table 14: Correlation coefficient estimate between nitrogen and carbon isotope and elemental composition pairs

	$\delta^{15}\text{N}$	P	S	Cl	Ca	K
$\delta^{13}\text{C}$	0,266	-0,296	-0,506	-0,386	-0,628	-0,385
	0,1415	0,1002	0,0037	0,0350	0,0001	0,0295
	32	32	31	30	32	32
$\delta^{15}\text{N}$		-0,514	-0,353	0,099	-0,258	-0,299
		0,0026	0,0517	0,6021	0,1534	0,0966
		32	31	30	32	32
P			0,697	0,218	0,456	0,445
			<,0001	0,2478	0,0088	0,0108
			31	30	32	32
S				0,427	0,750	0,279
				0,0186	<,0001	0,1284
				30	31	31
Cl					0,381	0,611
					0,0377	0,0003
					30	30
Ca						0,425
						0,0152
						32

Vrednosti izotopov dušika in ogljika (‰); minerali (mg/kg SV); zgornja vrednost - ocena Pearsonovega korelacijskega koeficienta; srednja vrednost - tveganje za ocenjen korelacijski koeficient; spodnja vrednost - število parov, na katerih je ocenjen korelacijski koeficient

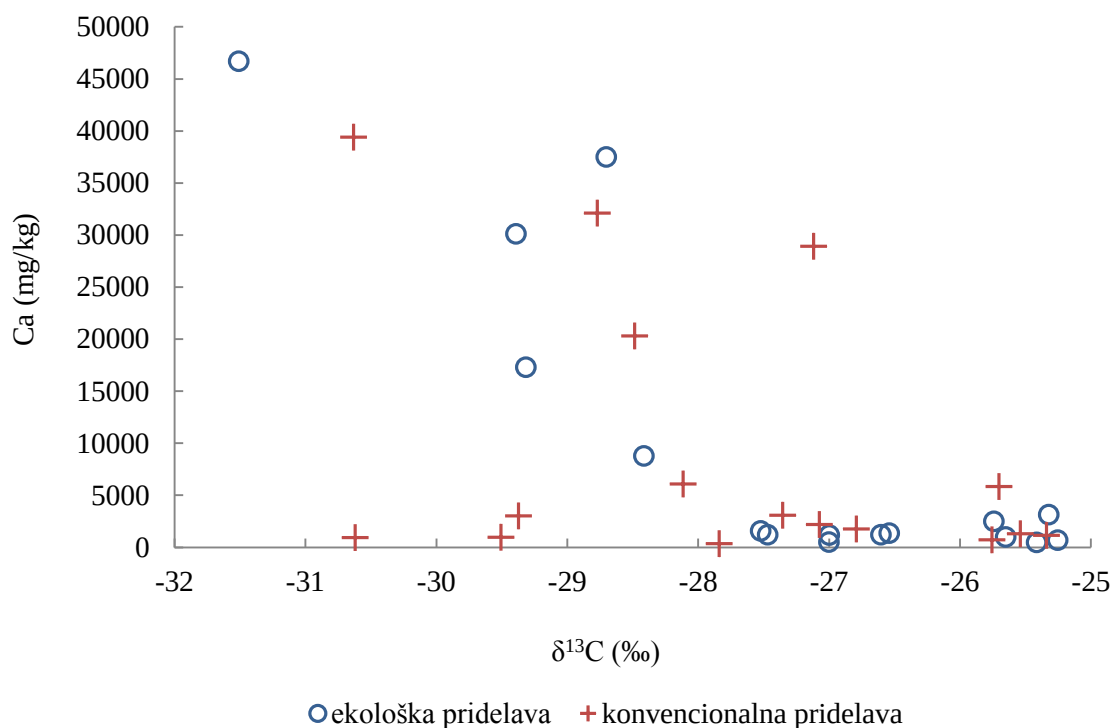
Ocenjen korelacijski koeficient med vrednostjo $\delta^{13}\text{C}$ in vsebnostjo žvepla je na 31 parih meritev ocenjen na -0,51. Iz slike 25 vidimo, da ima pet vzorcev bistveno višje vsebnosti žvepla kot ostali vzorci. Na osnovi slike ni mogoče sklepati na močno povezavo med vsebnostjo žvepla in vrednostjo $\delta^{13}\text{C}$.



Slika 25: Povezanost med vrednostjo izotopov ogljika $\delta^{13}\text{C}$ in vsebnostjo žvepla

Figure 25: The correlation between nitrogen isotope and sulphur content

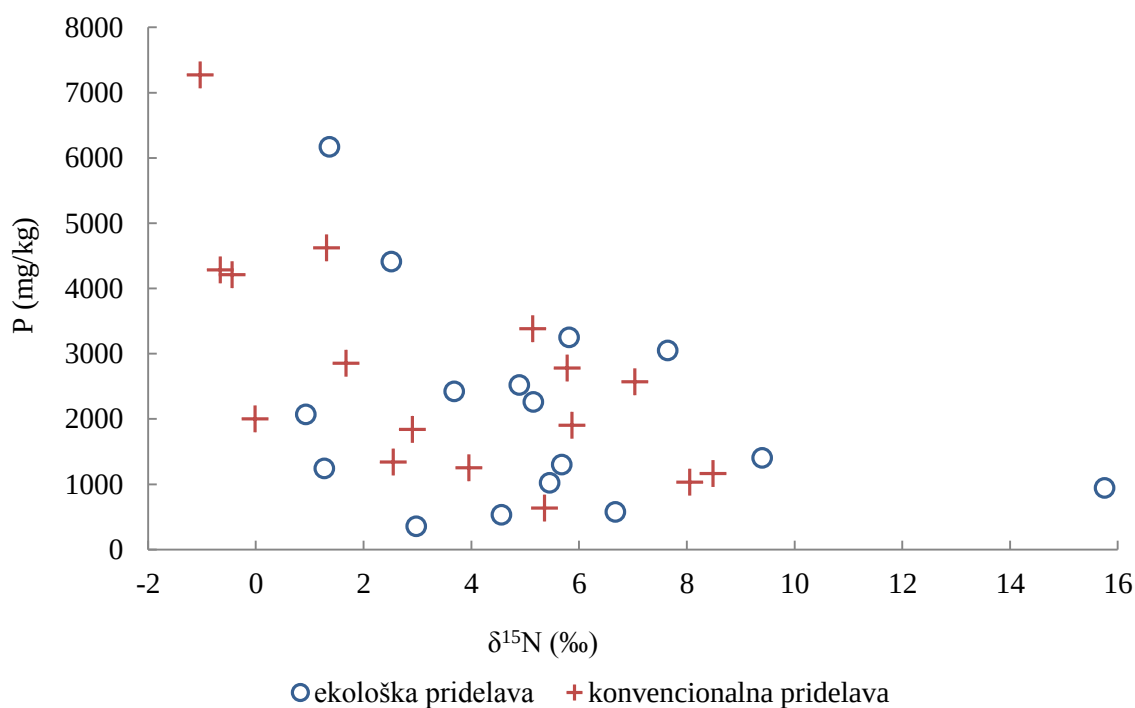
Zelo podobno kot za povezanost med vrednostjo $\delta^{13}\text{C}$ in vsebnostjo žvepla (slika 25) lahko ugotovimo za povezanost med vsebnostjo kalcija in vrednostjo $\delta^{13}\text{C}$ (slika 26). To je tudi v skladu z ocenjenim korelacijskim koeficientom med vsebnostjo žvepla in kalcija (preglednica 14). Ocenjen korelacijski koeficient je v slednjem absolutno višji in znaša - 0,63.



Slika 26: Povezanost med vrednostjo izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) in vsebnostjo kalcija

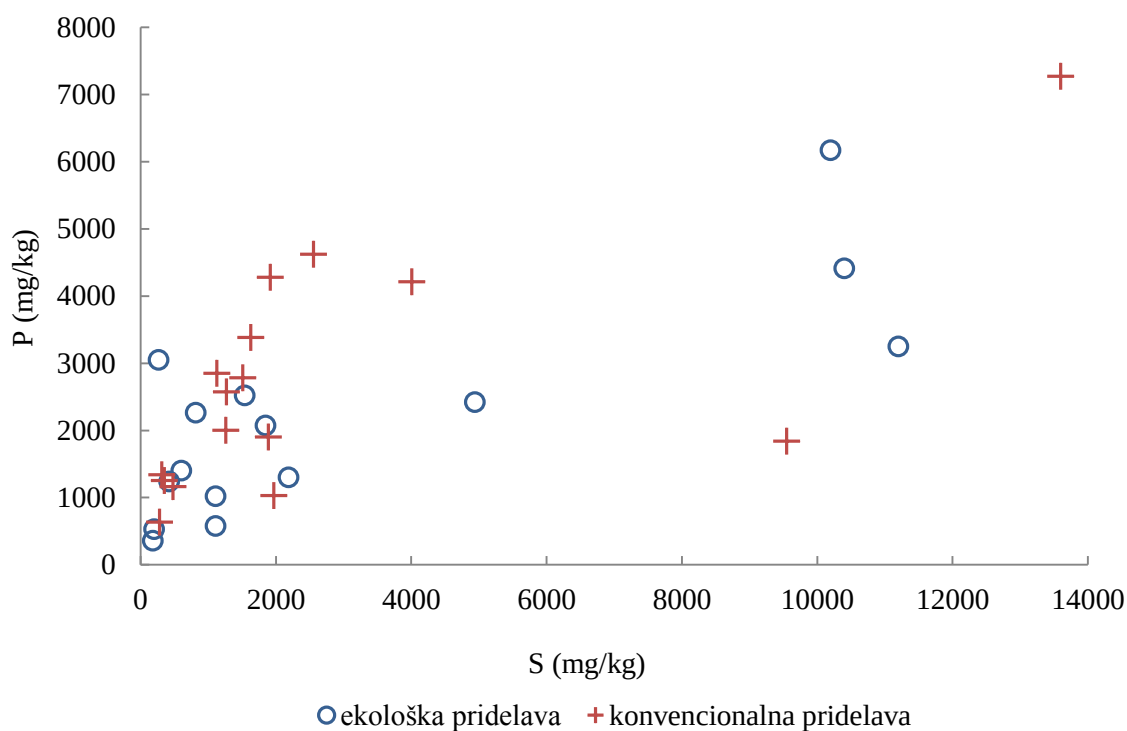
Figure 26: The correlation between nitrogen isotope ($\delta^{13}\text{C}$) and calcium content

Tudi med vrednostjo $\delta^{15}\text{N}$ in vsebnostjo fosforja obstaja negativna povezanost, ocenjen korelacijski koeficient na 32 parih meritev, znaša -0,51. Večjo razpršenost vidimo za pare z nižjimi vrednostmi. Najnižje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ so določene za vzorce iz ekološke pridelave, najvišje pa za vzorce iz konvencionalne pridelave (slika 27).



Slika 27: Povezanost med vrednostjo izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$) in vsebnostjo fosforja
Figure 27: The correlation between nitrogen isotope ($\delta^{15}\text{N}$) and phosphorus content

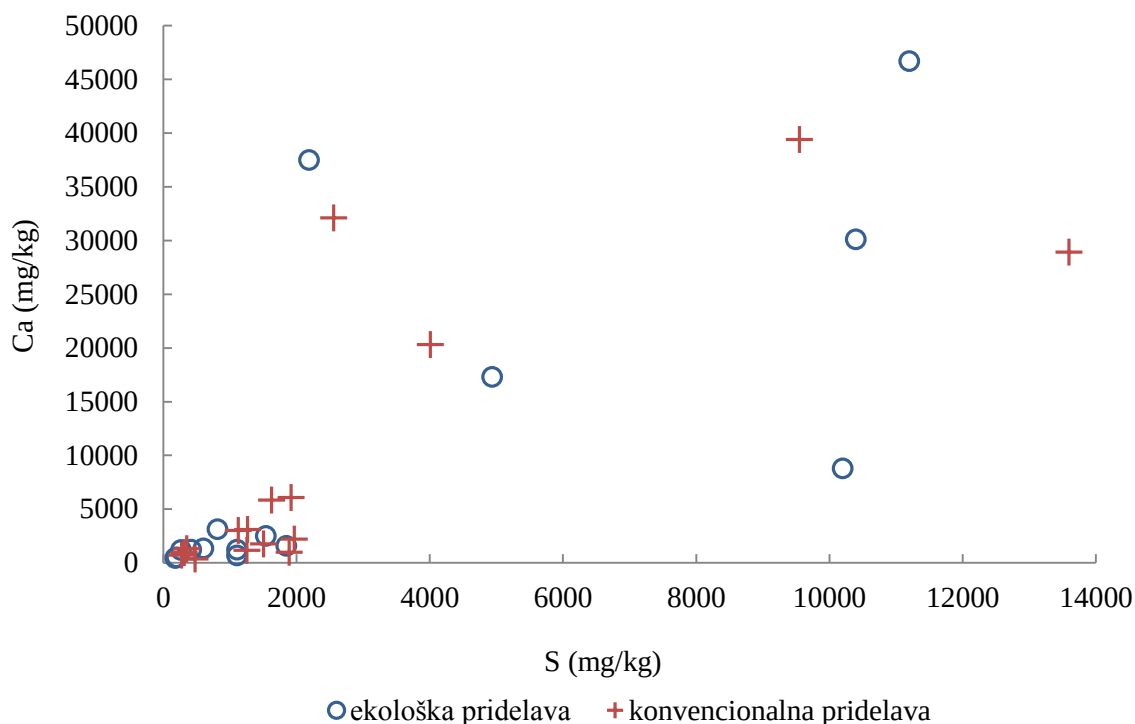
Visok korelacijski koeficient je ocenjen med vsebnostjo fosforja in žveplom. Ta je na 31 parih meritev ocenjen z 0,70 (preglednica 14). Slika 28 predstavlja to povezavo grafično. Vidimo, da je povezava boljša za manjše vsebnosti, posebej pa odstopajo pari meritev, pri katerih so določene velike vsebnosti žvepla.



Slika 28: Povezanost med vsebnostma žvepla in fosforja

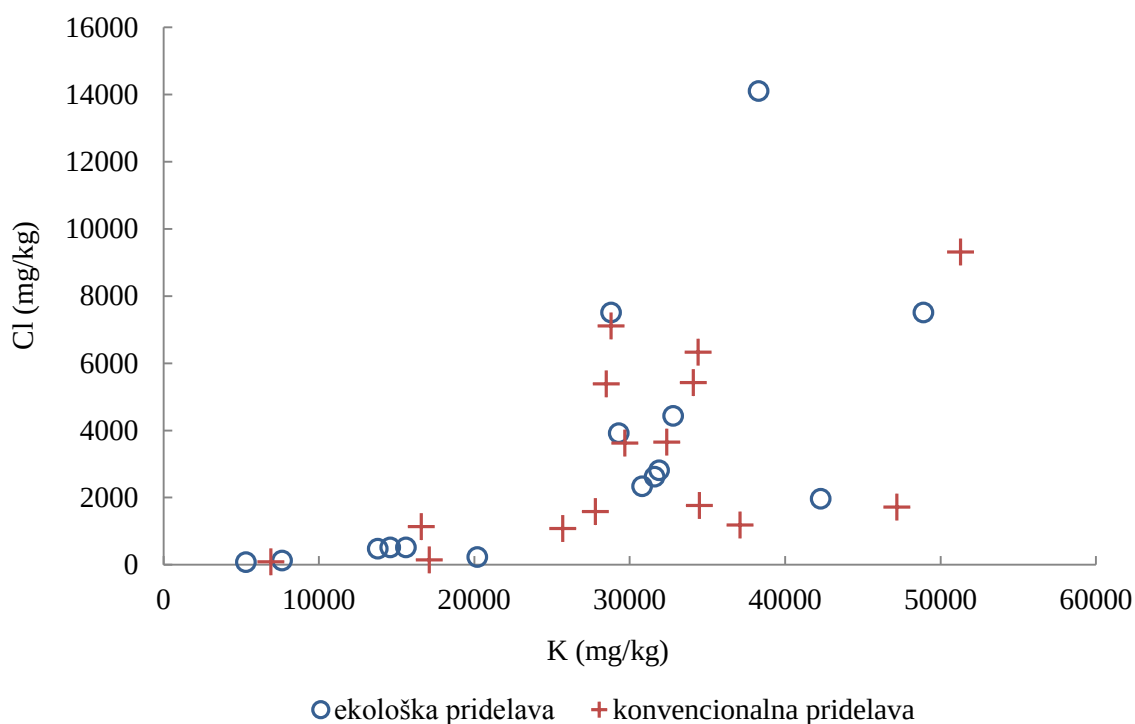
Figure 28: The correlation between sulfur and phosphorus content

Med vsemi preučevanimi povezavami v tem sklopu ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ in vsebnosti elementov) je najvišji korelacijski koeficient ocenjen med vsebnostjo kalcija in žvepla. Ta je ocenjen na 31 parih meritev in znaša 0,75 (preglednica 14). Slika 29 predstavlja to povezavo grafično. Vidimo, da je povezava močnejša za manjše vrednosti za obe meritvi.



Slika 29: Povezanost med vsebnostma žvepla in kalcija
Figure 29: The correlation between sulphur and calcium content

Tudi med vsebnostma klora in kalija smo dobili relativno visok korelacijski koeficient (0,61), in sicer na 30 parih meritev. Slika 30 prikazuje povezanost med tema dvema vsebnostma, kjer bi pričakovali večjo povezanost glede na oceno korelacijskega koeficienta.



Slika 30: Povezanost med vsebnostma kalija in klora

Figure 30: The correlation between potassium and chlorine content

4.2.2.1 Korelacije med meritvami AOP in skupnimi fenoli, vrednostmi $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter vsebnostmi elementov

Ocenjeni korelacijski koeficienti med sklopoma meritev AOP in SF ter vrednostmi $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ in vsebnostmi elementov so manjši kot v prej opisanih primerih in manj ocen korelacijskih koeficientov je statistično značilnih. Srednje velike in negativne so ocene korelacijskih koeficientov med AO_{Pea} po 90 minutah ter meritvami fosforja, žvepla in kalija (preglednica 15). Podobni korelacijski koeficienti so ocenjeni za pare meritev obeh stabilnih izotopov in obe polarni AOP. Pozitivni in podobno visoki korelacijski koeficienti

so ocenjeni med obema polarnima AOP in meritvami mineralov. Najvišji korelacijski koeficienti so ocenjeni med polarno AOP po 30 minutah in meritvama kalcija ter kalija.

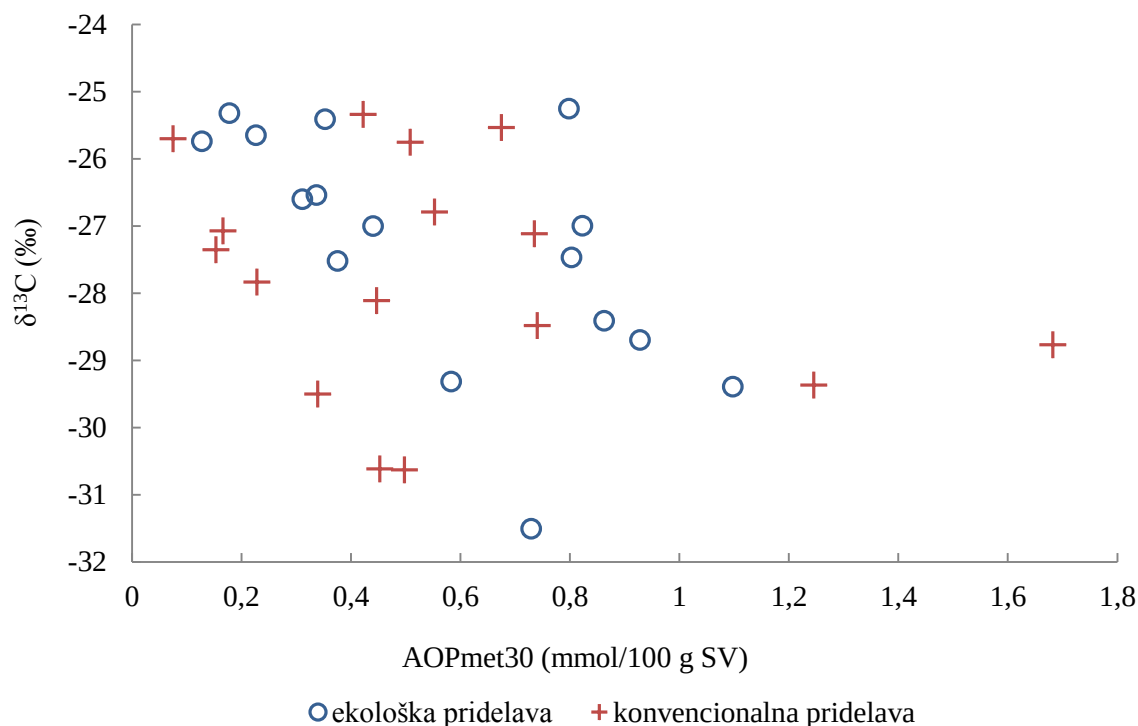
Preglednica 15: Ocenjeni korelacijski koeficienti med vrednostmi antioksidativne učinkovitosti in skupnih fenolov ter vsebnostjo elementov in vrednostma izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$) in ogljika ($\delta^{13}\text{C}$)

Table 15: Correlation coefficient estimates between antioxidant activity and phenol content as well as between elemental compositions and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) and carbon ($\delta^{13}\text{C}$) isotope compositions

	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	P	S	Cl	Ca	K
AOPmet30	-0,408	-0,408	0,417	0,303	0,194	0,499	0,461
	0,0206	0,0205	0,0176	0,0972	0,3038	0,0036	0,0079
	32	32	32	31	30	32	32
AOPmet75	-0,357	-0,336	0,344	0,185	0,111	0,426	0,405
	0,0452	0,0599	0,0536	0,3190	0,5603	0,0150	0,0216
	32	32	32	31	30	32	32
AOPea30	0,078	-0,144	-0,239	-0,220	-0,314	0,090	-0,251
	0,6722	0,4311	0,1880	0,2347	0,0912	0,6256	0,1660
	32	32	32	31	30	32	32
AOPea90	0,154	0,142	-0,369	-0,390	-0,326	-0,113	-0,440
	0,4013	0,4381	0,0376	0,0303	0,0783	0,5369	0,0118
	32	32	32	31	30	32	32
SF	-0,232	-0,139	0,213	-0,006	-0,017	0,249	0,214
	0,2019	0,4477	0,2421	0,9746	0,9309	0,1686	0,2397
	32	32	32	31	30	32	32

AOPmet30 - polarna antioksidativna učinkovitost, izmerjena po 30 minutah (mmol DPPH/ 100 g SV), AOPmet75 - polarna antioksidativna učinkovitost, izmerjena po 75 minutah (mmol DPPH/ 100 g SV), AOPea3 - antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjena po 30 minutah (mmol DPPH/ 100 g SV), AOPea90 - antioksidativna učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjena po 90 minutah (mmol DPPH/ 100 g SV); SF-vsebnost skupnih fenolov (mg/ 100 g SV); zgornja vrednost - ocena Pearsonovega korelacijskega koeficienta; srednja vrednost - tveganje za ocenjen korelacijski koeficient; spodnja vrednost - število parov na katerih je ocenjen korelacijski koeficient

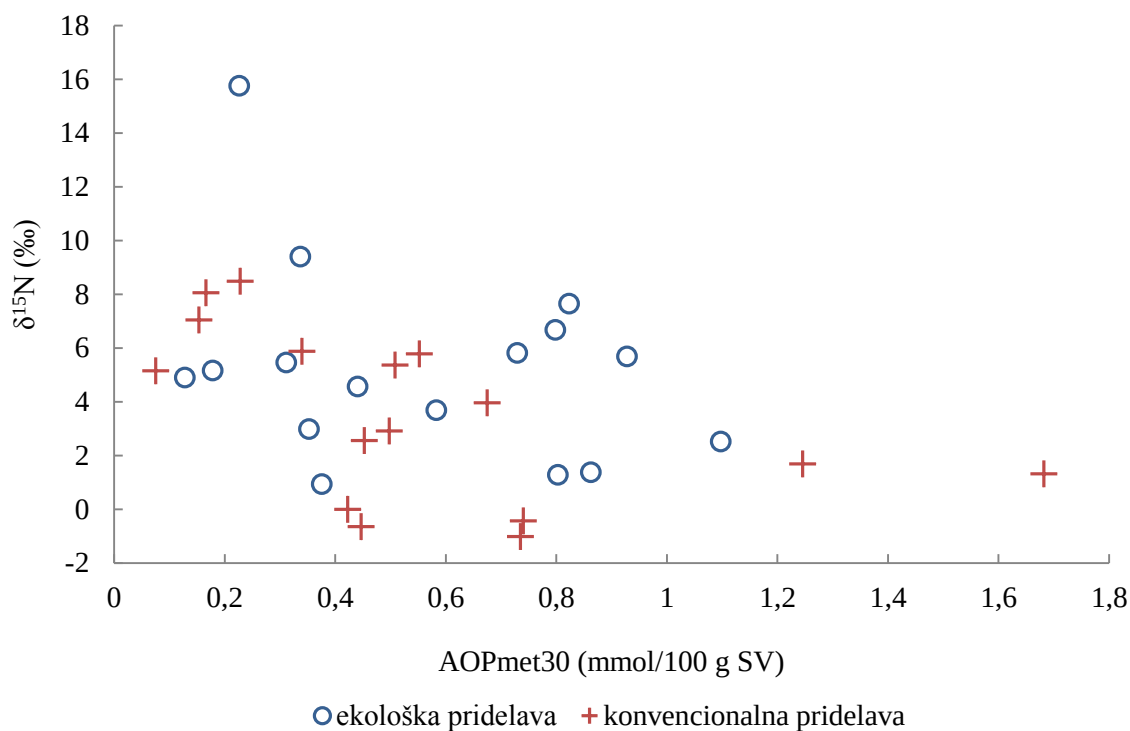
Slika 31 prikazuje povezanost med polarno AOP izmerjeno po 30 minutah in vrednostjo $\delta^{13}\text{C}$, ki je negativna in razpršena. Zelo odstopa en par meritev iz konvencionalne pridelave, ki ima visoko vrednost za polarno AOP. Na drugi strani prav tako prevladujejo meritve iz ekološke pridelave, to so tiste, ki imajo najnižje vrednosti za obe obravnavani lastnosti.



Slika 31: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vrednostjo izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$)

Figure 31: The correlation between polar antioxidant activity measured after 30 minutes and $\delta^{13}\text{C}$ value

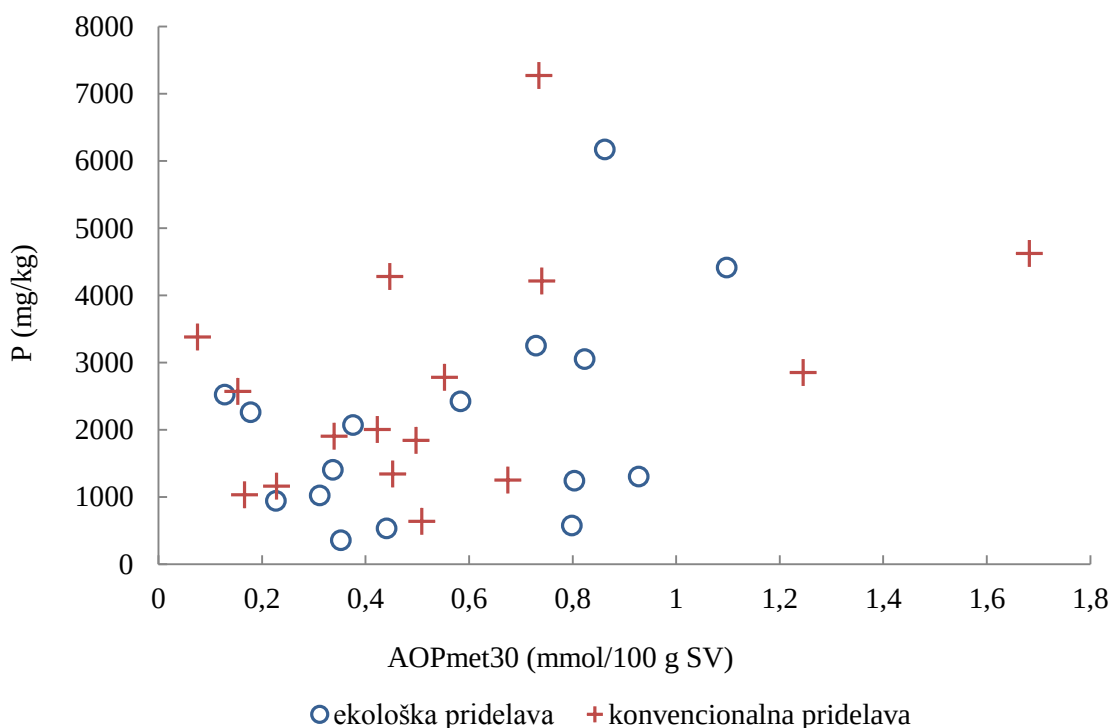
Zelo podobna ocena korelacijskega koeficienta, glede na prejšnji primer, je za primer prikazan na sliki 32. V tem primeru še posebej izstopata dva para meritev, in sicer eden iz ekološke pridelave, ki ima najvišjo vrednost $\delta^{15}\text{N}$, in drugi iz konvencionalne pridelave, ki ima najvišjo določeno vrednost za polarno AOP, izmerjeno po 30 minutah.



Slika 32: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$)

Figure 32: The correlation between polar antioxidant activity measured after 30 minutes and $\delta^{15}\text{N}$ value

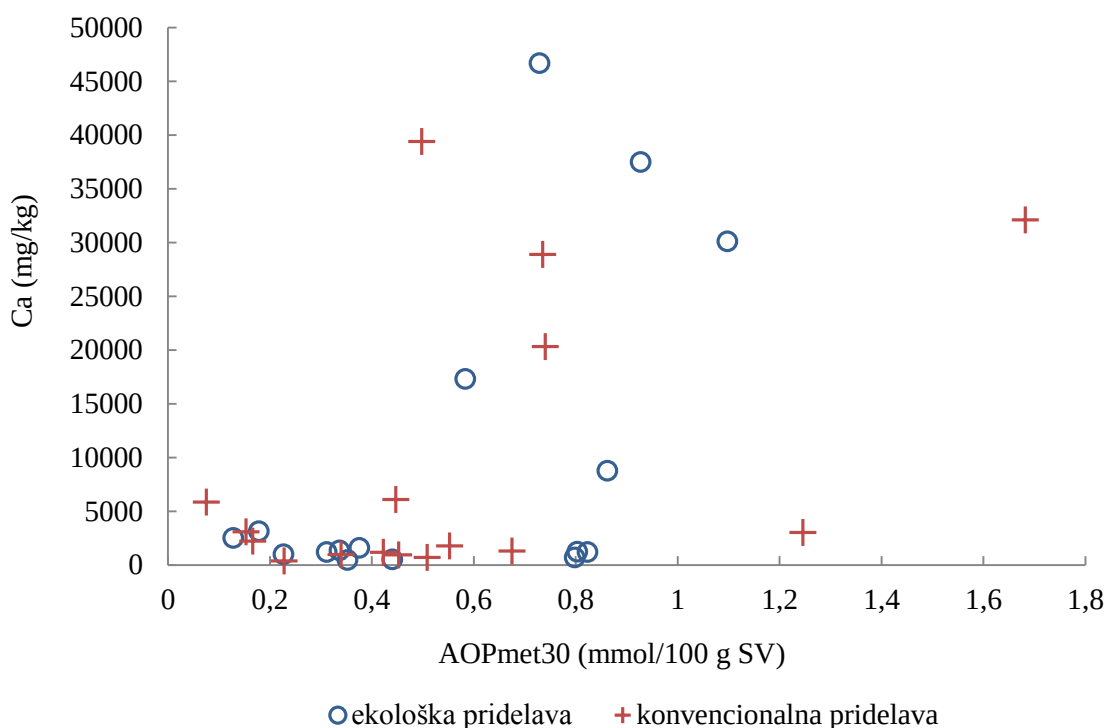
Povezave med naslednjima obravnavanima lastnostma (slika 33) je ocenjena s podobno visokim korelacijskim koeficientom kot za prejšnje dva primera, razlika je le v predznaku. V tem primeru gre za pozitivno oceno korelacijskega koeficienta. Razpršenost je primerna oceni korelacijskega koeficienta. Pari meritev za ekološko in konvencionalno pridelavo so relativno enakomerno pomešani med seboj.



Slika 33: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo fosforja

Figure 33: The correlation between polar antioxidant activity measured after 30 minutes and phosphorus content

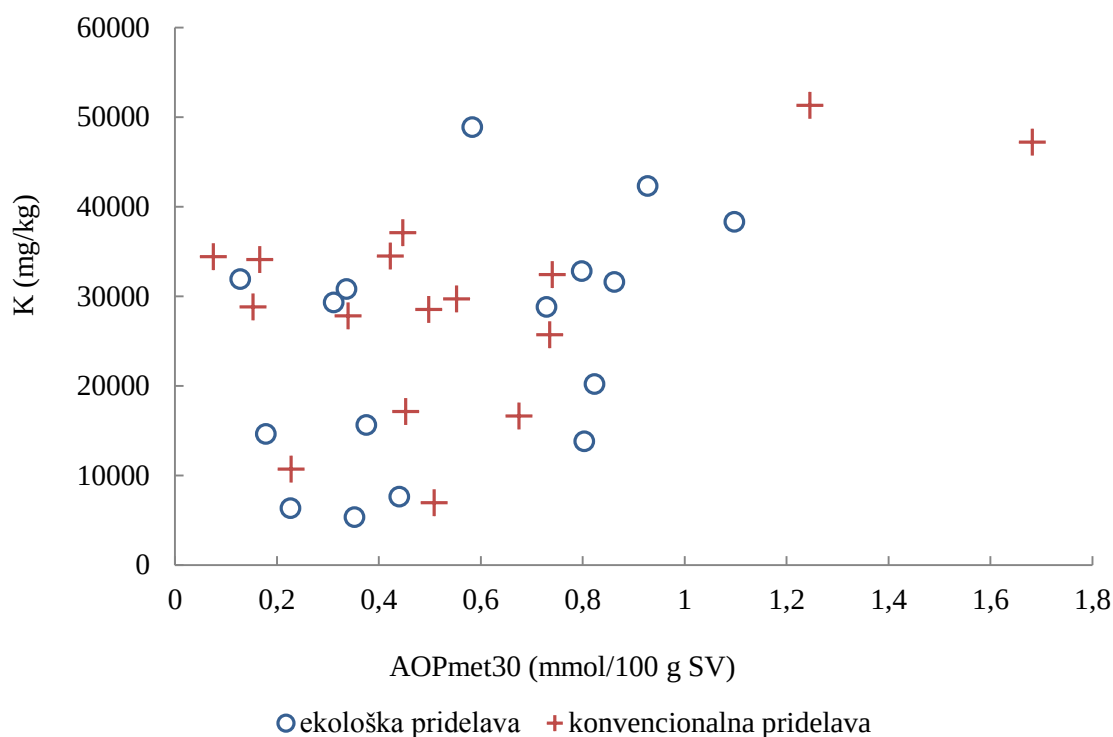
Povezanost med vsebnostjo kalcija in polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah, je ocenjena z najvišjim korelacijskim koeficientom (0,50) v tem sklopu. Ocena korelacijskega koeficienta je glede na sliko 34 relativno visoka. Izstopajo zlasti rezultati zelišč, ki imajo zelo visoke vsebnosti kalcija v primerjavi z ostalimi pridelki.



Slika 34: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo kalcija

Figure 34: The correlation between polar antioxidant activity measured after 30 minutes and calcium content

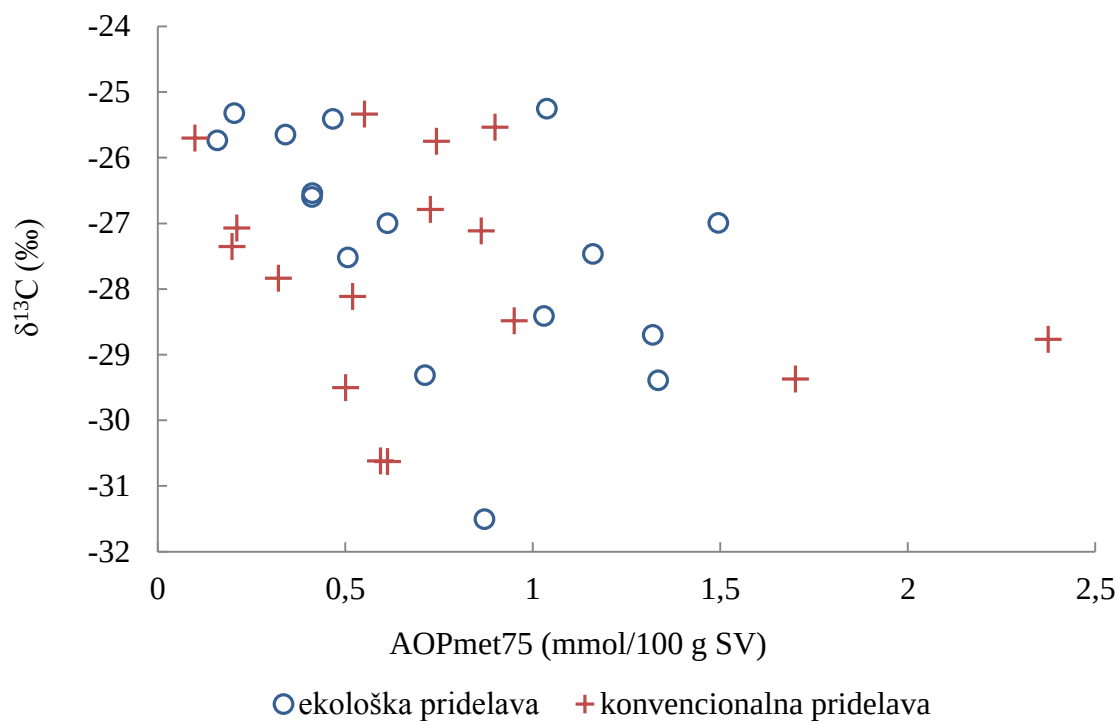
Podobno oceno korelacijskega koeficienta kot v zgornjem primeru ima polarna AOP po 30 minutah z vsebnostjo kalija (slika 35). Ocena korelacijskega koeficienta je manjša, če pa primerjamo sliko lahko ugotovimo, da gre za bolj jasno povezavo in bolj enakomerno porazdelitev obeh meritev prek celotne variacijske širine.



Slika 35: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), in vsebnostjo kalija

Figure 35: The correlation between polar antioxidant activity measured after 30 minutes and potassium content

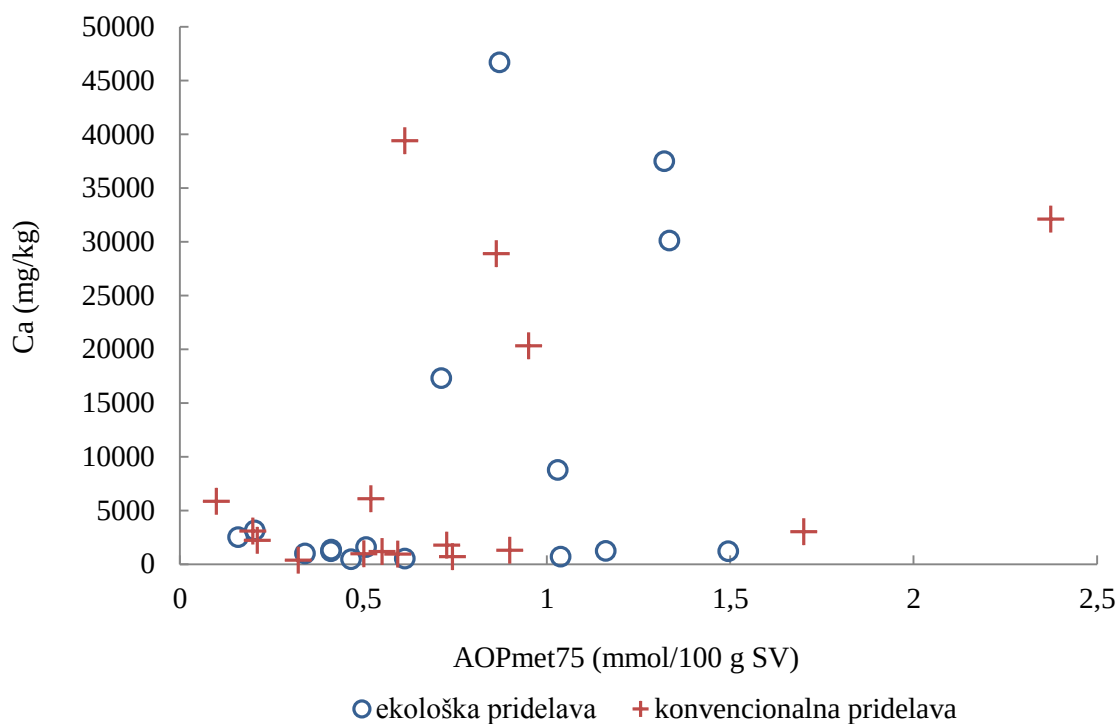
Ocena korelacijskega koeficienta med polarno AOP in vrednostmi $\delta^{13}\text{C}$ je negativna. Na sliki 36 je ta povezava jasno vidna.



Slika 36: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), in vrednostjo izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$)

Figure 36: The correlation between polar antioxidant activity measured after 75 minutes and $\delta^{13}\text{C}$ value

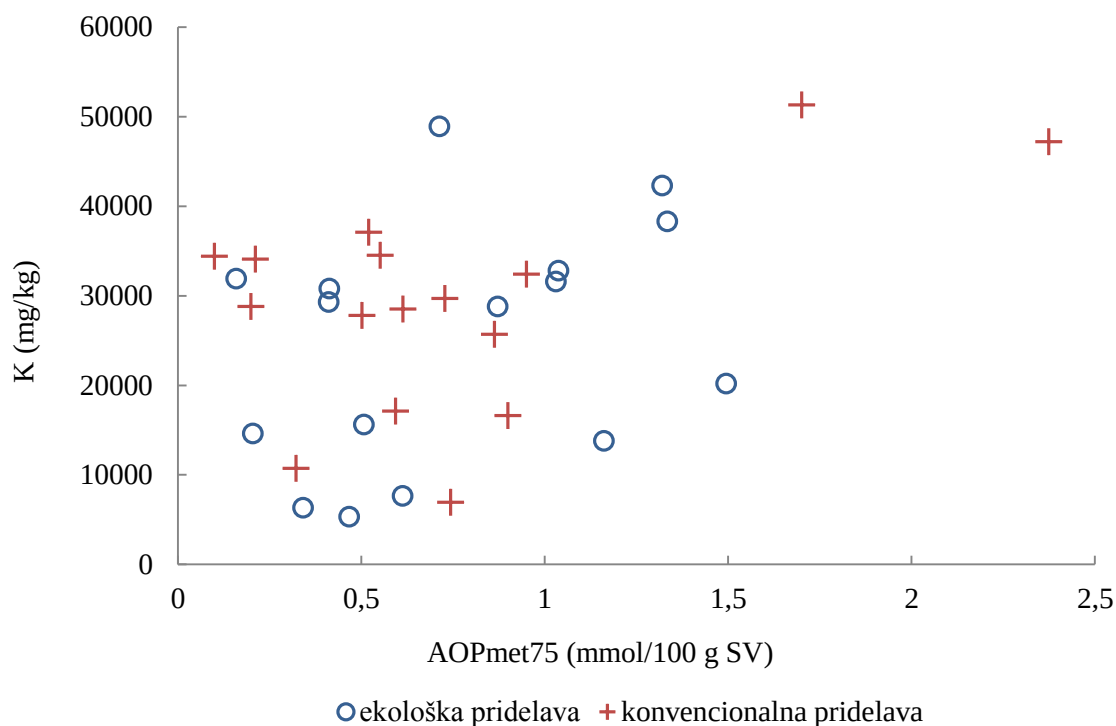
Podobna ocena korelacijskega koeficienta kot med polarno AOP po 30 minutah in vsebnostjo kalcija ter kalija (sliki 34 in 35), je ocenjena med polarno AOP po 75 in vsebnostjo kalcija in kalija. Podobni sta tudi grafični predstavitvi povezav (sliki 37 in 38). Oboje je pričakovano, saj je ocena korelacijskega koeficienta med navedenima polarnima AOP zelo visoka (preglednica 13).



Slika 37: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), in vsebnostjo kalcija

Figure 37: The correlation between polar antioxidant activity measured after 75 minutes and calcium content

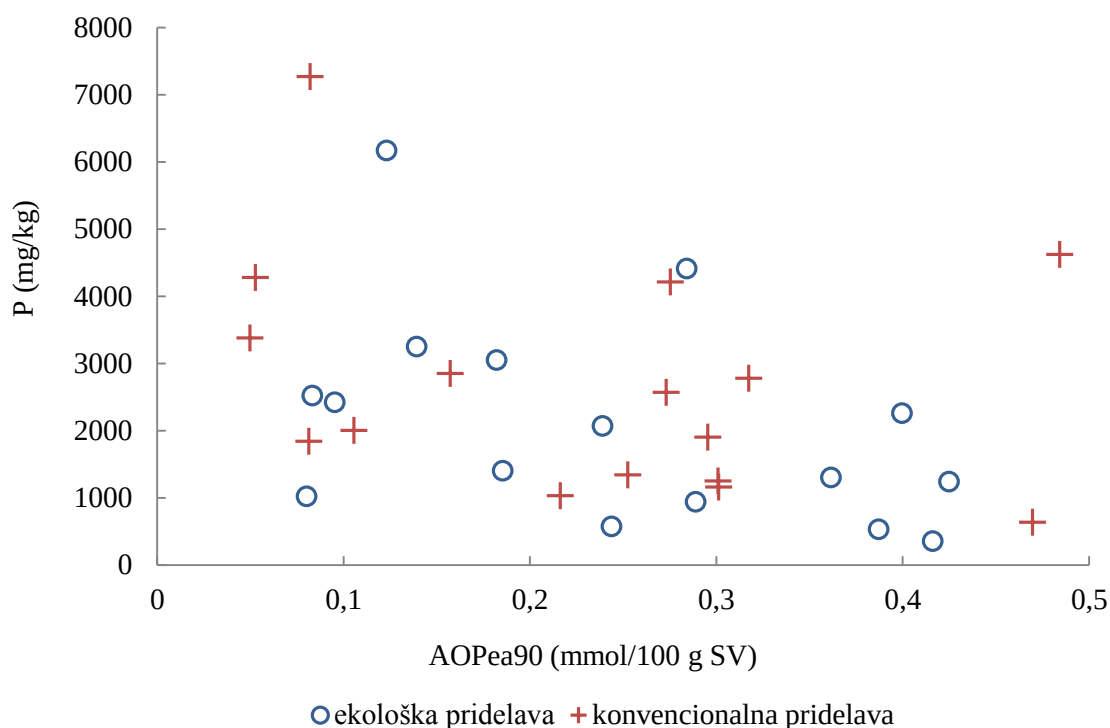
Velika ocena korelacijskega koeficienta med vsebnostjo kalija in polarnim AOP, izmerjenim po 75 minutah (preglednica 13), je grafično predstavljena na sliki 38.



Slika 38: Povezanost med polarno antioksidativno učinkovitostjo, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), in vsebnostjo kalija

Figure 38: The correlation between polar antioxidant activity measured after 75 minutes and potassium content

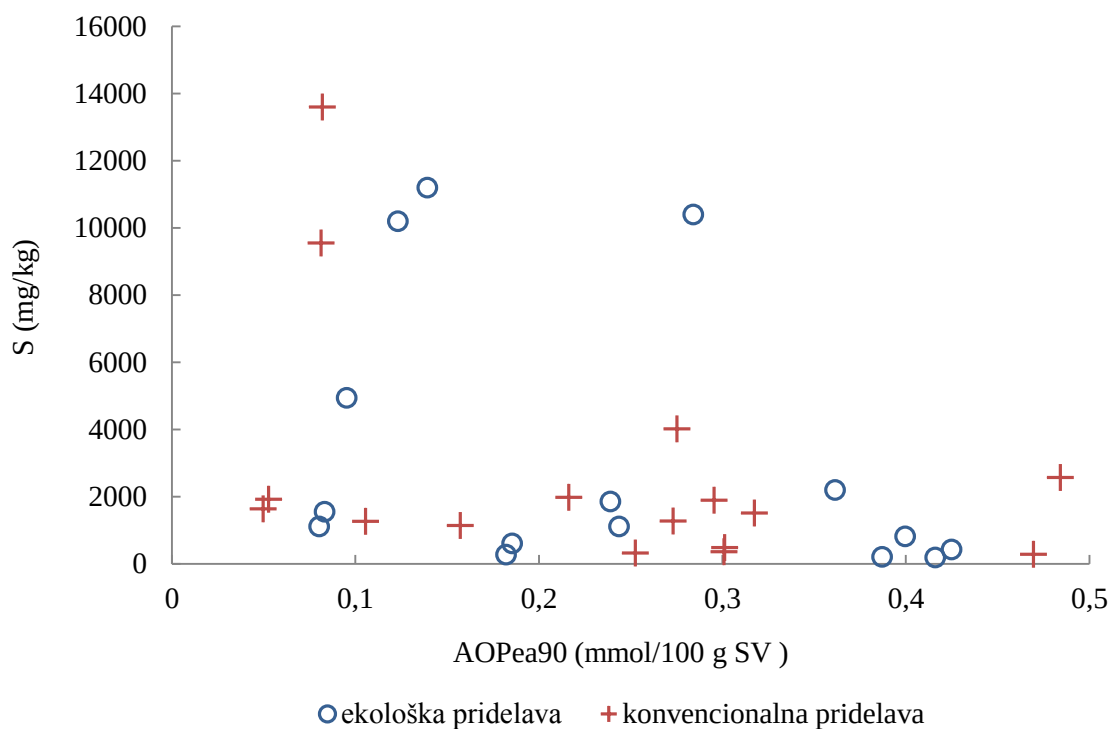
Med polarnima AOP in vsebnostjo merjenih elementov so ocene korelacijskih koeficientov negativne. Statistično značilna je ocena med polarno AOP in vsebnostjo fosforja (slika 39), kar kaže na zelo razpršeno povezavo. Še zlasti odstopa nekaj meritev z visokimi vrednostmi za AOP ali fosfor.



Slika 39: Povezanost med antioksidativno učinkovitostjo frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjeno po 90 minutah (AOPea90) in vsebnostjo fosforja

Figure 39: The correlation between antioxidant activity of fraction in ethyl acetate soluble antioxidants measured after 90 minutes (AOPea90) and phosphorus content

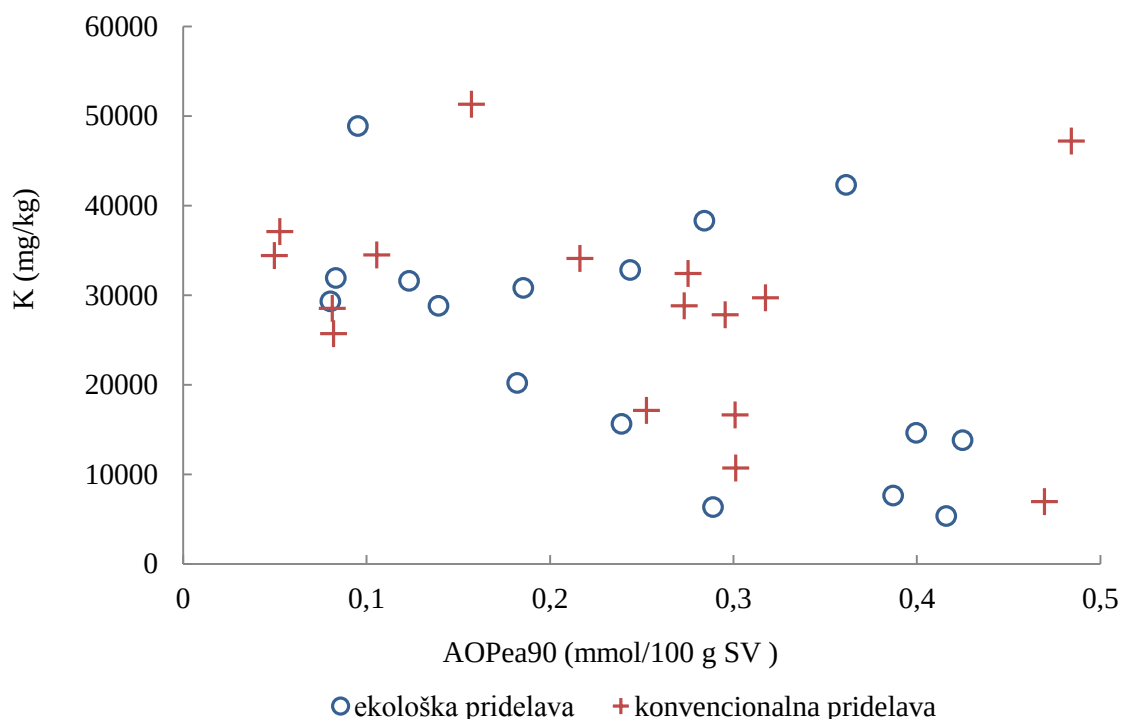
Podobna ocena korelacijskega koeficienta kot med AO_{Pea} po 90 minutah in vsebnostjo fosforja, je ocenjena med AO_{Pea} po 90 minutah in vsebnostjo žvepla. Podoben je tudi grafičen prikaz povezanosti (slika 40).



Slika 40: Povezanost med antioksidativno učinkovitostjo frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjeno po 90 minutah (AO_{Pea}90) in vsebnostjo žvepla

Figure 40: The correlation between antioxidant activity of fraction in ethyl acetate soluble antioxidants measured after 90 minutes (AO_{Pea}90) and sulfur content

Med vsemi ocenami korelacijskih koeficientov z negativnim predznakom je absolutno najvišji ocenjen med AO_{Pea} po 90 minutah in vsebnostjo kalija. Tudi grafični prikaz povezanosti (slika 41) med tema lastnostma kaže manj razpršenosti kot v primeru povezanosti med AO_{Pea} po 90 minutah in vsebnostjo fosforja (slika 39) oz. vsebnostjo žvepla (slika 40).



Slika 41: Povezanost med antioksidativno učinkovitostjo frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjeno po 90 minutah (AO_{Pea}90) in vsebnostjo kalija

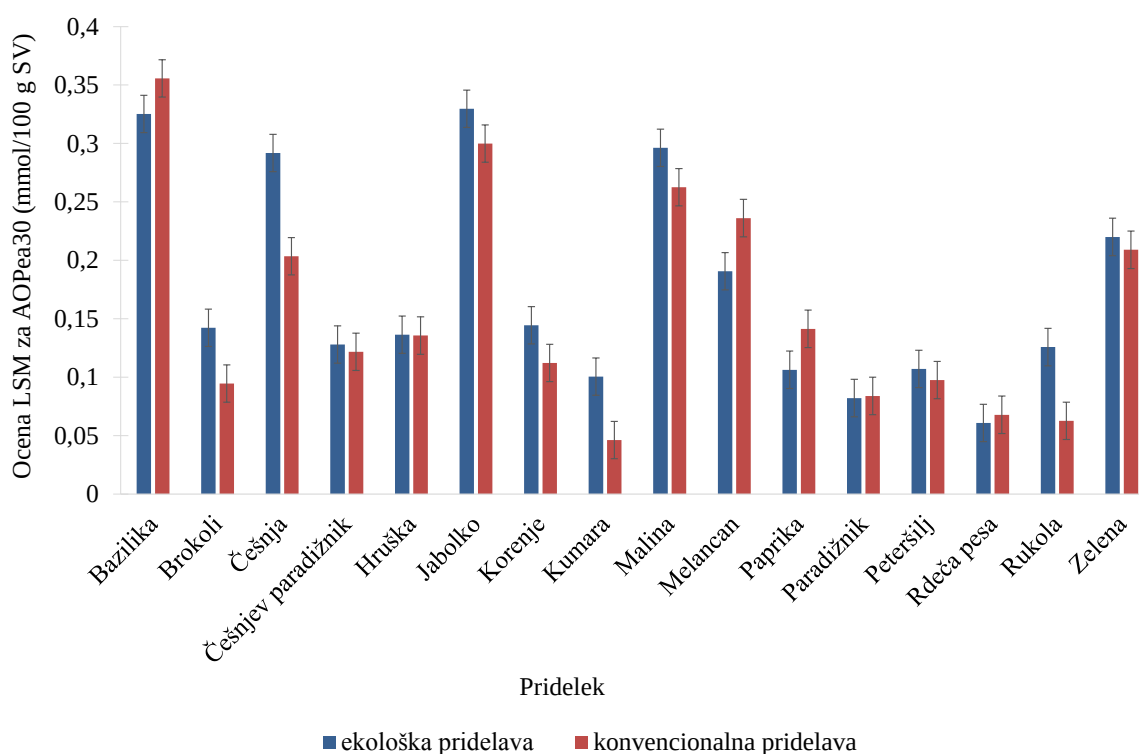
Figure 41: The correlation between antioxidant activity of fraction in ethyl acetate soluble antioxidants measured after 90 minutes (AO_{Pea}90) and potassium content

4.3 OCENA RAZLIK PO PRIDELKIH

Ocene razlik po pridelkih smo za obe polarni AOP in obe AO_{Pea} ter SF ocenili z analizo variance po statističnem modelu (3). Zato za teh pet parametrov prikazujemo ocene po metodi najmanjših kvadratov (LSM) s pripadajočimi standardnimi napakami ocene. Za analizo vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter vsebnost elementov ni bilo mogoče uporabiti navedenega statističnega modela, ker vzorcem ti parametri niso bili določeni v ponovitvah. Tako za te parametre navajamo kar izmerjene vrednosti.

4.3.1 Antioksidativna učinkovitost

Največjo oceno po metodi najmanjših kvadratov za AO_{Pea} po 30 minutah ima bazilika, nekoliko večja je ocena za konvencionalno pridelano v primerjavi s tisto za ekološko, vendar razlika ni statistično značilna. Podobno velja še za melancan, papriko in rdečo peso. Visoke ocene za AO_{Pea} po 30 minutah so še za jabolko, malino, češnjo in zeleno, pri teh so ocene višje za ekološke pridelke, v primerjavi s tistimi, ki so bili pridelani konvencionalno. Enako velja tudi za to skupino pridelkov. Razlike med ocenama po posameznem pridelku niso statistično značilne. Srednje visoke ocene za AO_{Pea} po 30 minutah so ocenjene za brokoli, kumaro, rukolo in češnjo. Za te pridelke pa velja, da so ocenjene vrednosti za ekološke pridelke višje v primerjavi s konvencionalnimi in razlike so statistično značilne (slika 42).

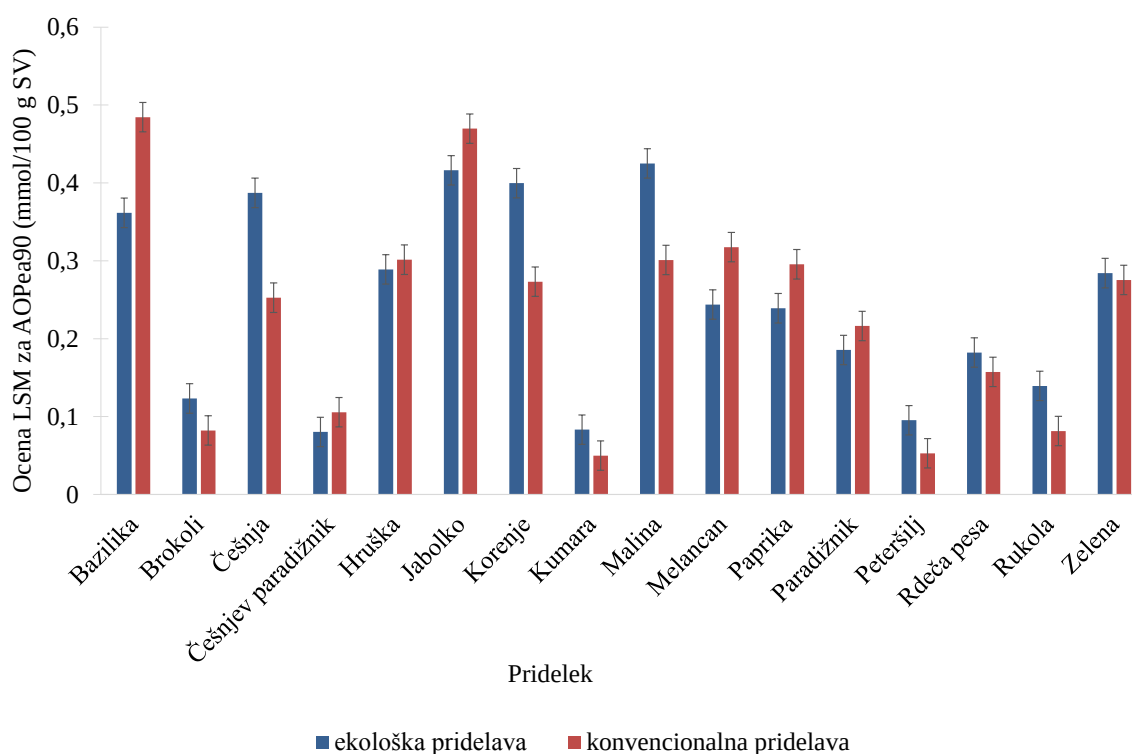


LSM – ocenjena vrednost izračunana po metodi najmanjših kvadratov, SV – svež vzorec

Slika 42: Ocene LSM za antioksidativno učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjene po 30 minutah (AO_{Pea}30), interakcije pridelka in načina pridelovanja

Figure 42: LSM estimates for antioxidant activity of fraction in ethyl acetate soluble antioxidants measured after 30 minutes (AO_{Pea}30), the interaction of crops and farming system

Najvišjo oceno po metodi najmanjših kvadratov za AO_{Pea} po 90 minutah ima podobno kot za ta parameter po 30 minutah bazilika, večja je ocena za konvencionalno pridelano v primerjavi z ekološko in razlika je statistično značilna. Podobno velja še za jabolko, melancan, papriko in paradižnik, le da v teh primerih razlike niso statistično značilne. Visoke ocene za AO_{Pea} po 90 minutah so še za malino, češnjo in korenje, pri teh so ocene večje za ekološko pridelane pridelke, v primerjavi s tistimi, ki so bili pridelani konvencionalno in razlike so statistično značilne. Razlike v korist ekološkim pridelkom smo ocenili še za rukolo, rdečo peso, peteršilj in kumaro, le da v teh primerih razlike niso statistično značilne (slika 43).



LSM – ocenjena vrednost izračunana po metodi najmanjših kvadratov, SV – svež vzorec

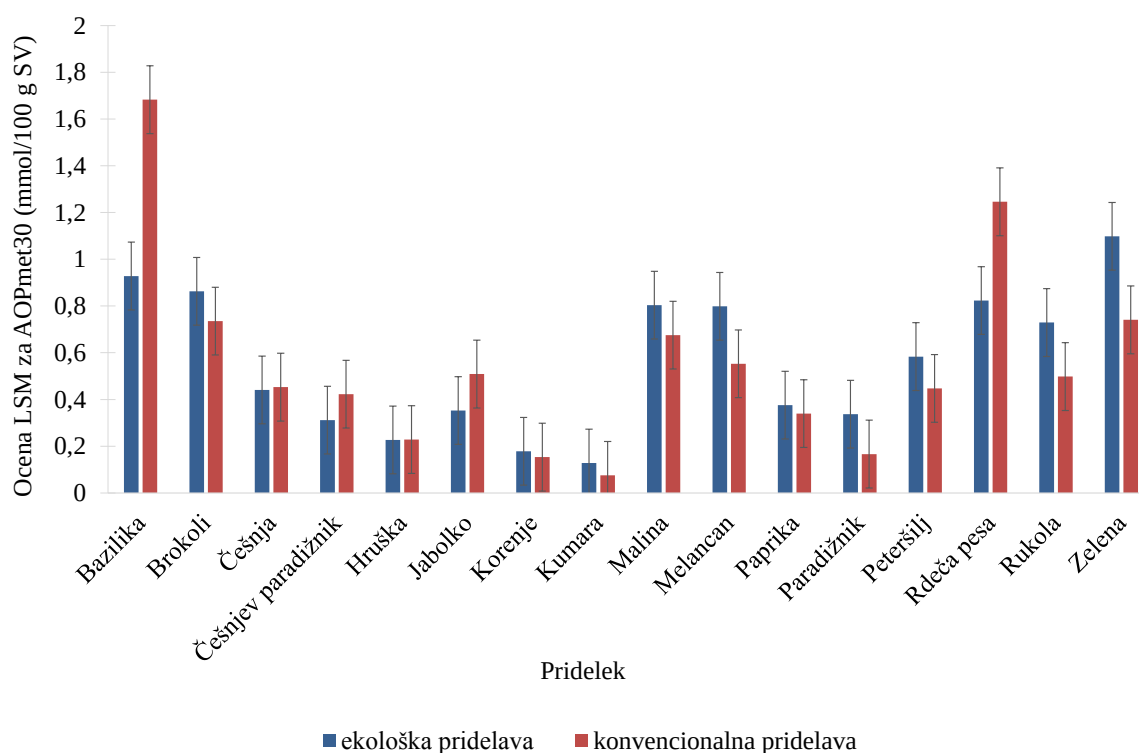
Slika 43: Ocene LSM za antioksidativno učinkovitost reakcije v etil acetatu topnih antioksidantov, izmerjene po 90 minutah (AO_{Pea}90), interakcije pridelka in načina pridelovanja

Figure 43: LSM estimates for antioxidant activity of fraction in ethyl acetate soluble antioxidants measured after 90 minutes (AO_{Pea}90), the interaction of crops and farming system

Najvišjo oceno po metodi najmanjših kvadratov za polarno AOP po 30 minutah ima bazilika. Ocena je večja za konvencionalno pridelano v primerjavi z ekološko, razlika je

statistično značilna. Enako velja še za rdečo peso. Tudi za jabolko in češnjev paradižnik so ocene v prid konvencionalni pridelavi, le razlike niso statistično značilne.

Za večino pridelkov so ocenjene razlike v prid ekološke pridelave. Razlike niso zelo izrazite in statistično niso značilne. Med njimi so največje razlike v prid ekološke pridelave za zeleno, malino, melancan in rukolo, manjše razlike pa so za peteršilj, paradižnik in brokoli (slika 44).



LSM – ocenjena vrednost izračunana po metodi najmanjših kvadratov, SV – svež vzorec

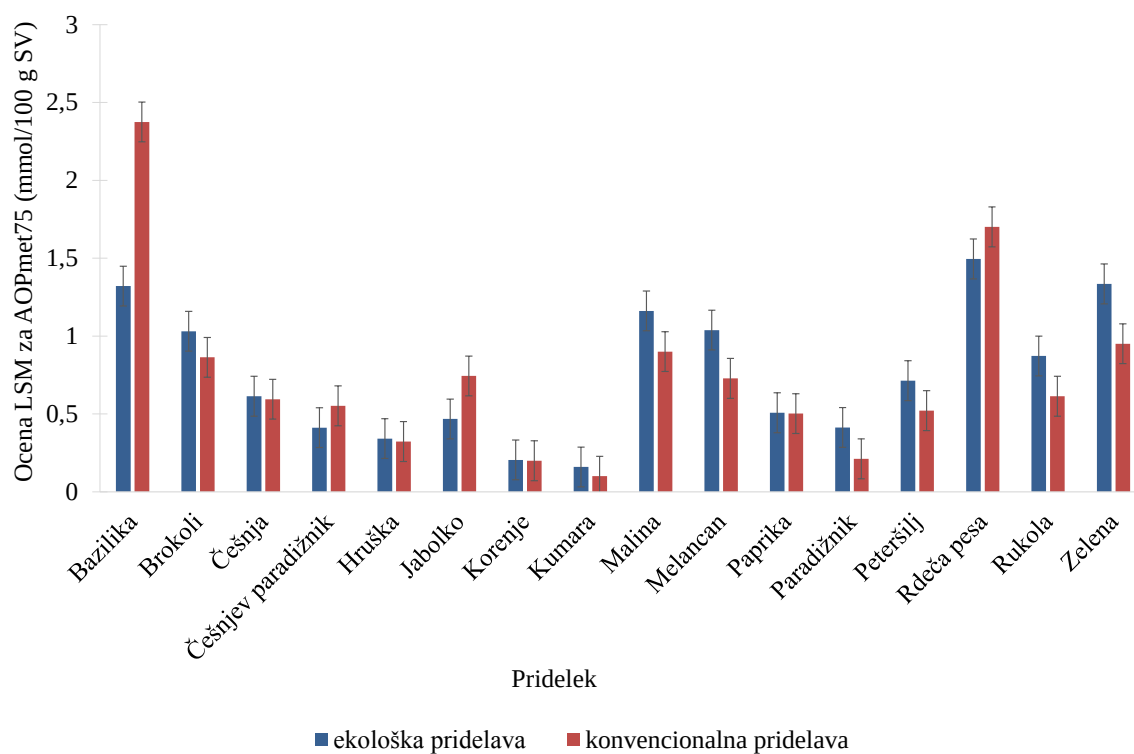
Slika 44: Ocene LSM za polarno antioksidativno učinkovitost, izmerjeno po 30 minutah (AOPmet30), interakcije pridelka in načina pridelovanja

Figure 44: LSM estimates for polar antioxidant activity measured after 30 minutes (AOPmet30), the interaction of crops and farming system

Najvišjo oceno po metodi najmanjših kvadratov za polarno AOP po 75 minutah ima tako kot v vseh primerih AOP bazilika. Ocena je večja za konvencionalno pridelano v primerjavi s tisto za ekološko, razlika je statistično značilna. Tudi za jabolko in rdečo peso so ocene v prid konvencionalni pridelavi, le razlike niso statistično značilne.

Za večino pridelkov so ocenjene razlike v prid ekološke pridelave. Statistično značilna je razlika za zeleno. Ostale razlike niso tako izrazite in statistično niso značilne. Med njimi so

največje razlike v prid ekološke pridelave za melancan, rukolo, peteršilj, paradižnik, malino in brokoli (slika 45).



LSM – ocenjena vrednost izračunana po metodi najmanjših kvadratov, SV – svež vzorec

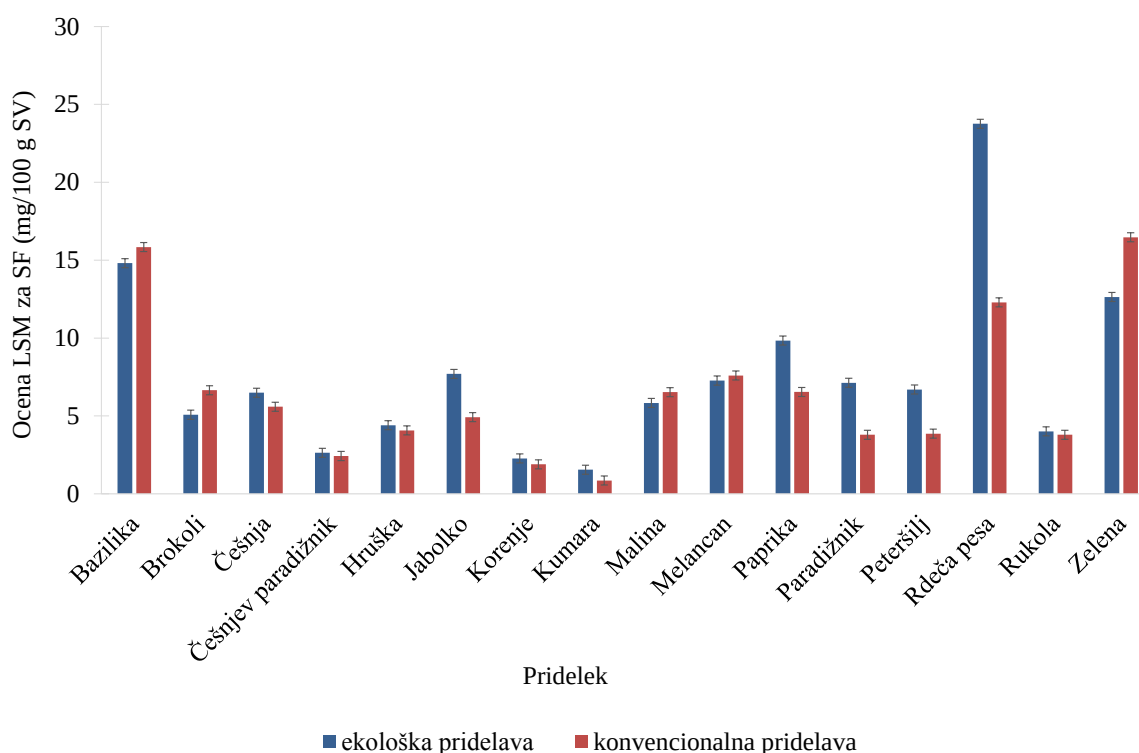
Slika 45: Ocene LSM za polarno antioksidativno učinkovitost, izmerjeno po 75 minutah (AOPmet75), interakcije pridelka in načina pridelovanja

Figure 45: LSM estimates for polar antioxidant activity measured after 75 minutes (AOPmet75), the interaction of crops and farming system

4.3.2 Skupni fenoli

Ocene po metodi najmanjših kvadratov za SF imajo relativno majhno standardno napako, zato je večina razlik statistično značilnih. Višje ocene SF za konvencionalno pridelavo v primerjavi z ekološko so ocenjene za zeleno, baziliko in brokoli.

Višje vrednosti za skupne fenole za ekološko v primerjavi s konvencionalno pridelavo so ocenjene za rdečo peso, papriko, paradižnik, peteršilj in jabolko (slika 46).



LSM – ocenjena vrednost izračunana po metodi najmanjših kvadratov, SV – svež vzorec

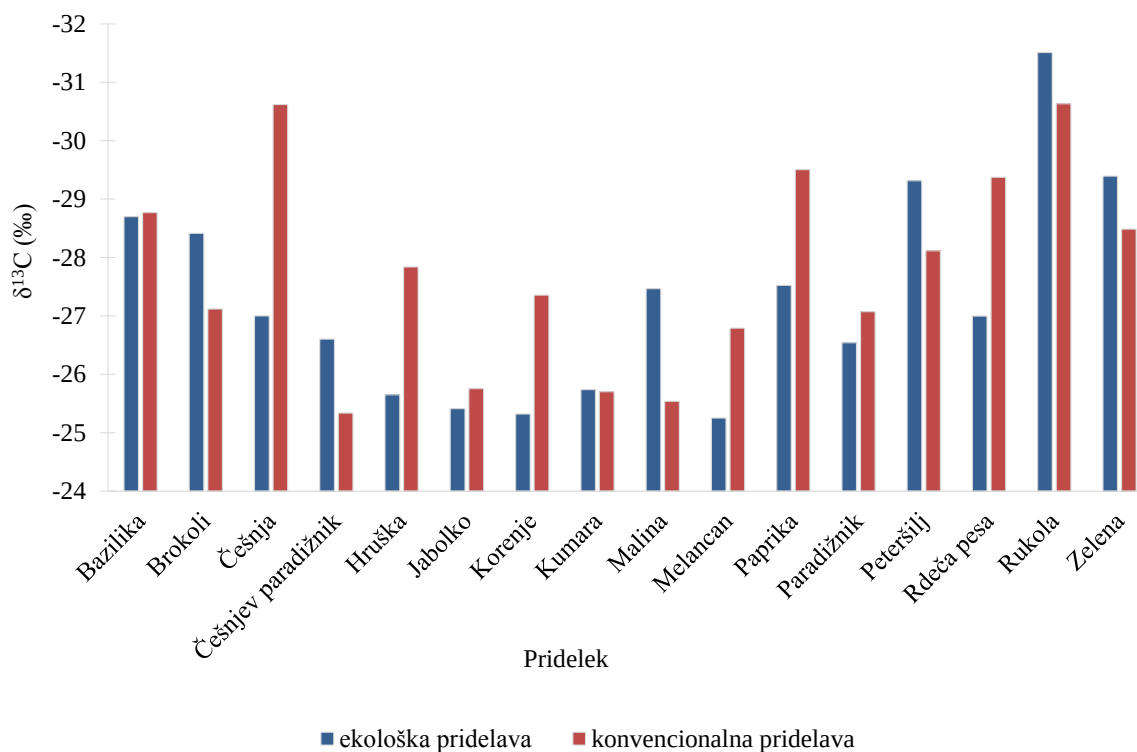
Slika 46: Ocene LSM za vsebnost skupnih fenolov (SF), interakcije pridelka in načina pridelovanja

Figure 46: LSM estimates for total phenols (SF), interactions of crops and farming system

4.3.3 Stabilni izotopi ogljika in dušika

Za vrednost $\delta^{13}\text{C}$ ima najnižjo določeno vrednost rukola, in sicer za ekološko pridelavo. Prav tako imajo nižjo izmerjeno vrednost za ekološko pridelavo v primerjavi s konvencionalno še brokoli, malina, peteršilj, zelena in češnjev paradižnik.

Vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ so nižje v primeru konvencionalne pridelave za češnjo, hruško, papriko, korenje in rdečo peso. Največja razlika v vrednostih $\delta^{13}\text{C}$ med konvencionalnimi in ekološkimi pridelki je bila izmerjena pri češnji (slika 47).

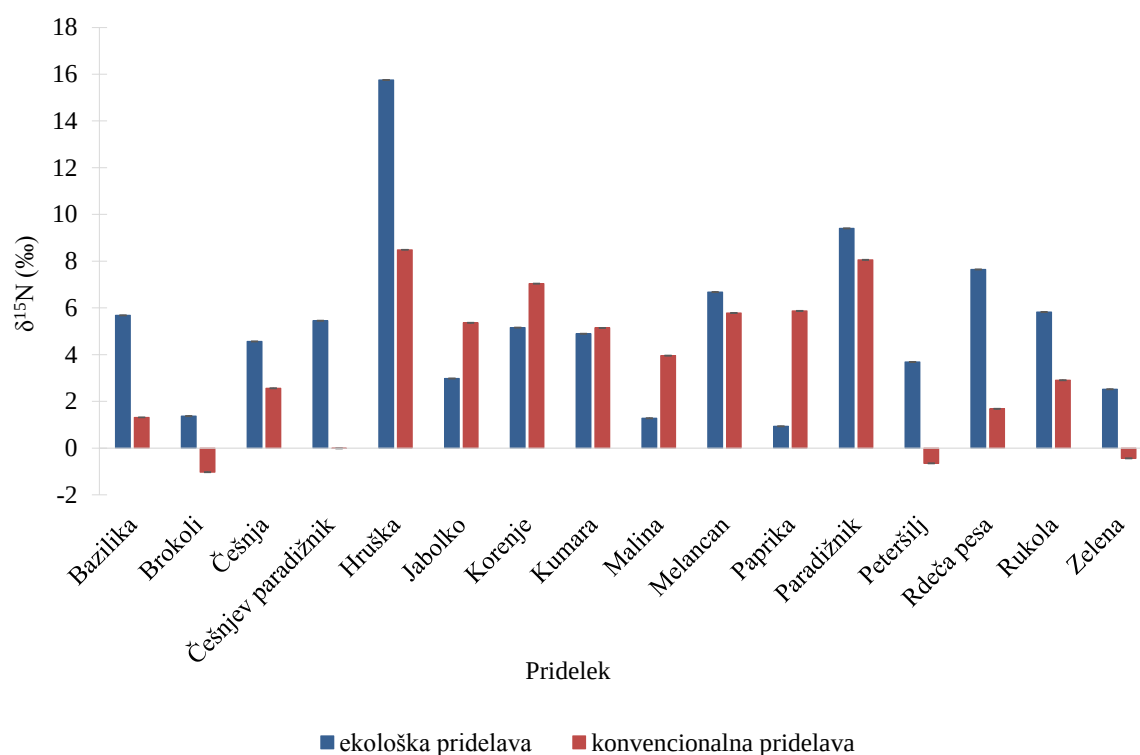


Slika 47: Primerjava vrednosti izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) po pridelkih in načinu pridelave

Figure 47: The comparison of carbon isotope values ($\delta^{13}\text{C}$) by crops and farming system

Največjo povprečno vrednost $\delta^{13}\text{C}$ smo dobili za ekološko sadje in zelenjavo, najnižjo povprečno vrednost $\delta^{13}\text{C}$ pa za ekološka zelišča. Najnižja vrednost med ekološkimi zelišči je bila izmerjena na rukoli (- 31,5 ‰). Najvišja izmerjena vrednost izotopov ogljika je znašala - 25,3 ‰ pri ekološkem melančanu. Enaka vrednost je bila izmerjena za ekološko korenje in konvencionalen češnjev paradižnik. Najnižjo vrednost $\delta^{13}\text{C}$ smo izmerili ekološki rukoli. Nižje izmerjene vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ za ekološko, v primerjavi s konvencionalno pridelavo, imajo še brokoli, malina, peteršilj, zelena in češnjev paradižnik.

Za vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ velja, da so v večini primerov vrednosti za ekološke pridelke bistveno višje kot tiste iz konvencionalne pridelave. Primeri velikih razlik so hruška, bazilika, rdeča pesa, češnjev paradižnik, zelena, rukola in peteršilj. Enako, vendar z manjšimi razlikami, velja za češnjo, melancan in paradižnik. Manjše razlike v korist konvencionalne pridelave so določene le za malino, korenje, papriko in jabolko (slika 48). Na splošno velja, da so razlike med meritvami $\delta^{15}\text{N}$ in vsebnostjo elementov velike.



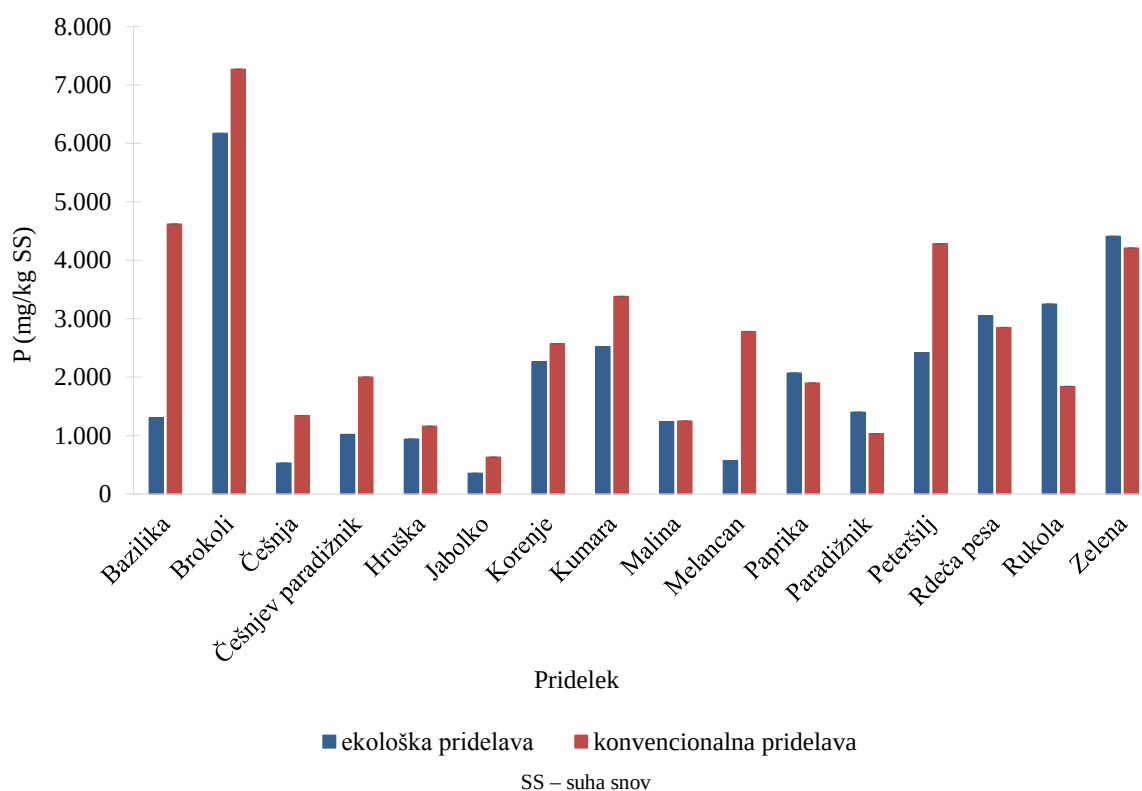
Slika 48: Primerjava vrednosti izotopov dušika ($\delta^{15}\text{N}$) po pridelkih in načinu pridelave

Figure 48: The comparison of nitrogen isotope ($\delta^{15}\text{N}$) by crops and farming system

Najvišjo povprečno vrednost $\delta^{15}\text{N}$ smo izmerili za skupino ekološko sadje. Znotraj te skupine je bila tudi najvišja izmerjena vrednost za $\delta^{15}\text{N}$, ki je znašala 15,8 ‰ in je bila izmerjena na ekološki hruški. Najnižjo povprečno vrednost je dosegla skupina konvencionalnih zelišč. Najmanjša izmerjena vrednost $\delta^{15}\text{N}$ med vsemi meritvami pa pripada konvencionalnem brokoliju in znaša - 1,0 ‰. Vse tri skupine pridelkov imajo višje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ iz ekološke pridelave v primerjavi s konvencionalno.

4.3.4 Vsebnost elementov

Največja vsebnost fosforja je bila določena za konvencionalno pridelan brokoli, manjša pa za ekološkega. Pri večini pridelkov zasledimo večjo vsebnost fosforja v primeru konvencionalne pridelave. Posebej velike razlike smo določili za melancan, peteršilj, brokoli, kumaro, češnjev paradižnik in češnjo. Izjema je rukola, kjer je vsebnost fosforja večja v primeru ekološke pridelave (slika 43).

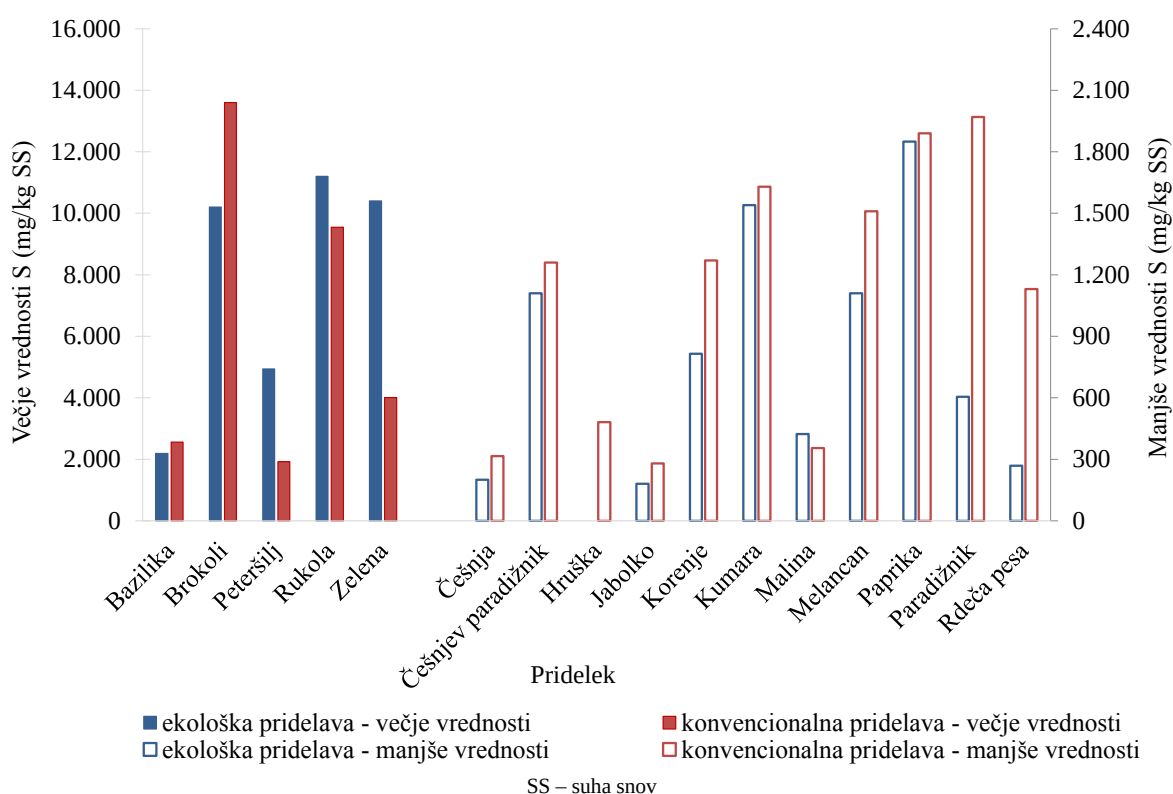


Slika 49: Primerjava vsebnosti fosforja (P) po pridelkih in načinu pridelave

Figure 49: The comparison of phosphorus content (P) by crops and farming system

Podobno kot za fosfor smo tudi za žveplo določili največjo vsebnost za konvencionalno pridelan brokoli, manjšo vrednost pa za ekološki brokoli. Po vsebnosti žvepla sledijo rukola, zelena in peteršilj, pri katerih so vsebnosti za ekološki način pridelave bistveno večje kot za konvencionalni način pridelave.

Pri ostalih pridelkih so vsebnosti žvepla manjše v ekološko pridelanih pridelkih ter se zelo malo razlikujejo med načinoma pridelave (slika 50).



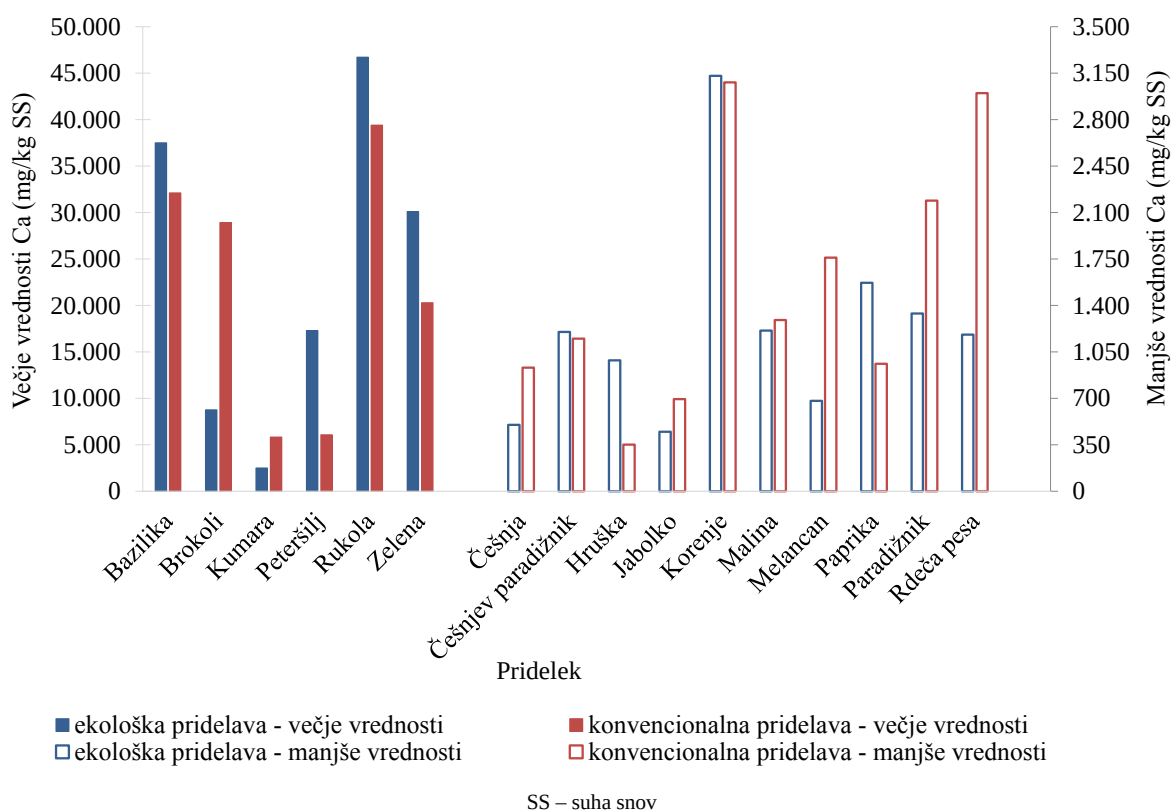
Slika 50: Primerjava vsebnosti žvepla (S) po pridelkih in načinu pridelave

Figure 50: Comparison of sulphur content (S) by crops and farming system

Za vsebnost kalcija veljajo drugačne zakonitosti kot za vsebnosti fosforja in žvepla. Večinoma je večja vsebnost kalcija določena za ekološke pridelke v primerjavi s konvencionalnimi.

Največjo vsebnost kalcija smo določili za ekološko pridelano rukolo, manjšo pa za konvencionalno. Po vsebnosti kalcija sledijo pridelki bazilike in zelene, kjer tudi velja, da ekološki različici vsebujeta več kalcija. Nasprotno velja za brokoli, ki ima v povprečju manj kalcija kot zelena. Manjše vsebnosti kalcija vsebuje peteršilj, kjer pa je ponovno določena večja vsebnost za ekološko različico pridelka.

Pri ostalih pridelkih so vsebnosti kalcija manjše in se v večini ne razlikujejo med načinoma pridelave (slika 51).

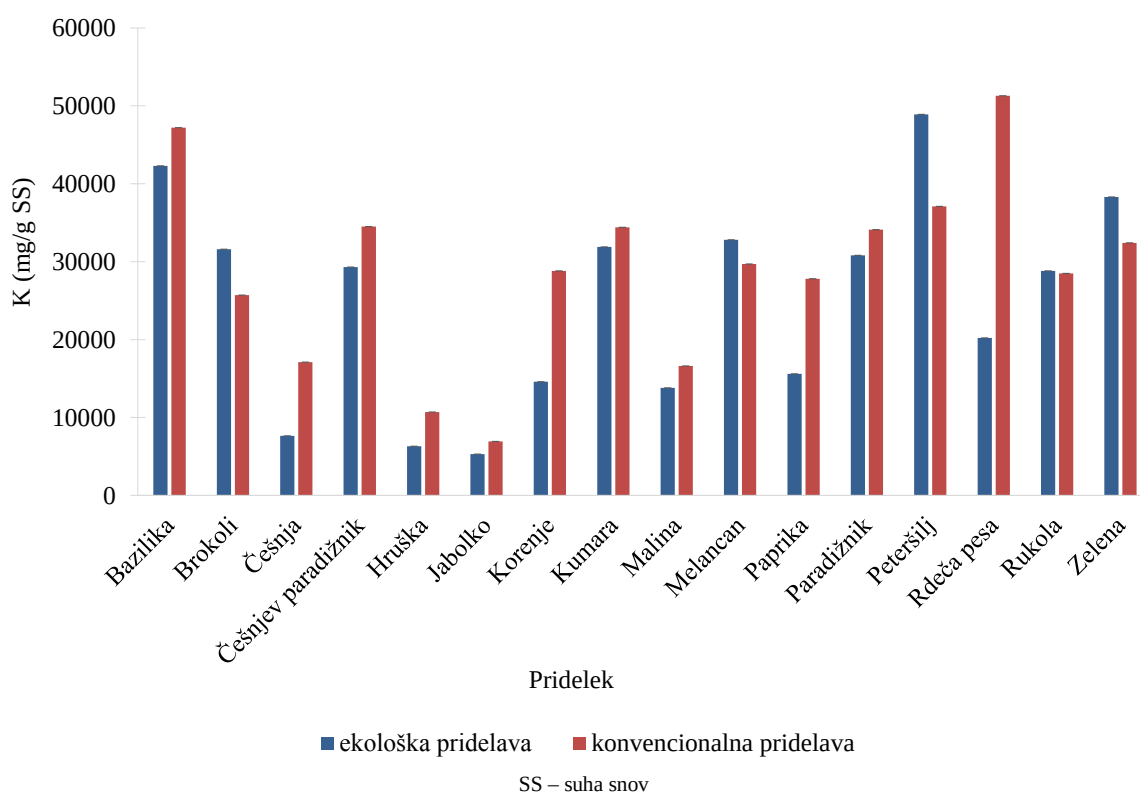


Slika 51: Primerjava vsebnosti kalcija (Ca) po pridelkih in načinu pridelave

Figure 51: The comparison of calcium content (Ca) by crops and farming system

Najmanjšo vsebnost kalija smo izmerili v skupini ekološkega sadja (jabolko, 5310 mg/kg), najvišjo vsebnost kalija pa na konvencionalni rdeči pesi (51300 mg/kg). Manjše vsebnosti kalija je v primerjavi s konvencionalno vsebovala ekološka rdeča pesa. Podobna zakonitost manjše vsebnosti kalija velja še za baziliko in korenje.

Pri večini pridelkov smo večje vsebnosti kalija določili za konvencionalni tip pridelave. Izjema so peteršilj, zelena, brokoli in melancan. Za te štiri pridelke velja, da imajo relativno veliko vsebnost kalija, pri čemer so vsebnosti večje v primeru ekološke pridelave in manjše pri konvencionalni pridelavi (slika 52).



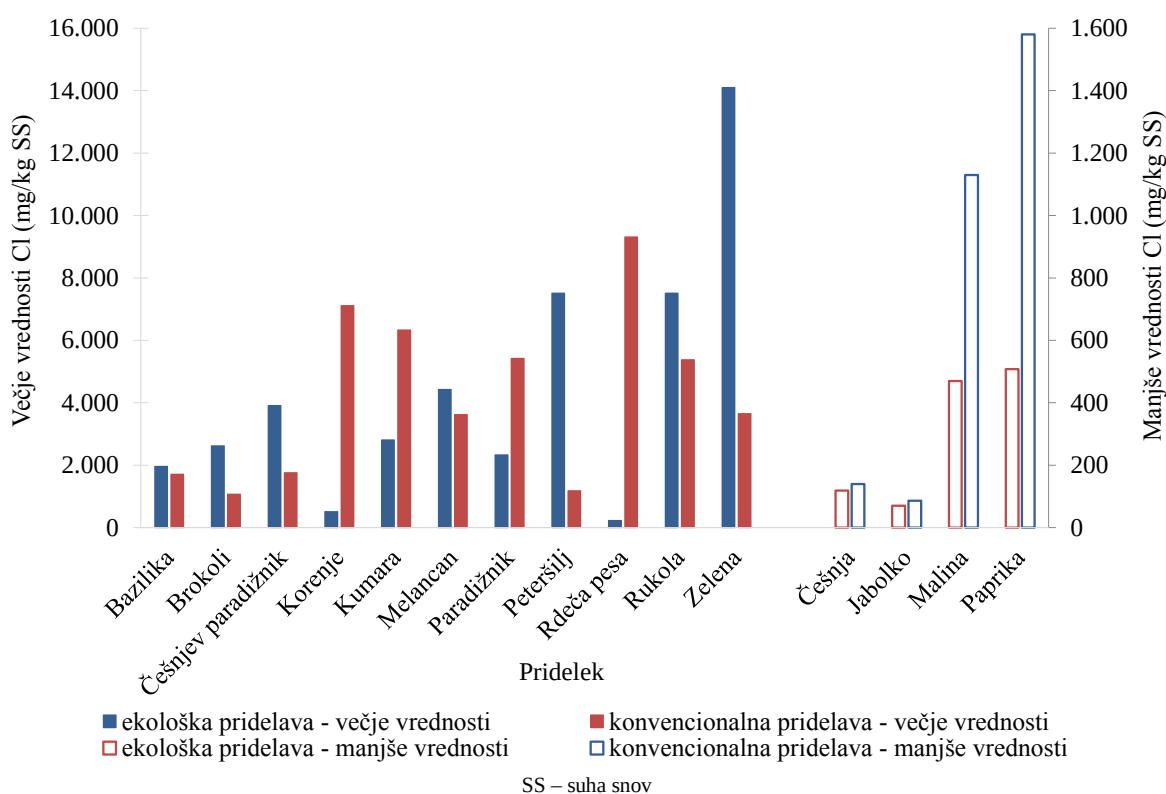
Slika 52: Primerjava vsebnosti kalija (K) po pridelkih in načinu pridelave

Figure 52: The comparison of potassium content (K) by crops and farming system

Vsebnost klora se med pridelki najbolj razlikuje, če jo primerjamo z vsebnostmi ostalih proučevanih elementov.

Največjo vsebnost klora smo določili za ekološko pridelano zeleno. Konvencionalna zelena ima manjšo vsebnost klora. Še bolj opazna razlika v vsebnosti klora se kaže pri rdeči pesi, kjer je velika vsebnost določena za konvencionalni pridelek. Podobna zakonitost velja še za kumaro, korenje in paradižnik.

Za peteršilj, rukolo, češnjev paradižnik in brokoli velja, da je vsebnost klora večja v primeru ekološke pridelave (slika 53).



Slika 53: Primerjava vsebnosti klora (Cl) po pridelkih in načinu pridelave
Figure 53: The comparison of chlorine content (Cl) by crops and farming system

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Ekološko kmetijstvo se šteje za alternativo konvencionalnemu, ko gre za proizvodnjo bolj kakovostnih izdelkov in trajnostno kmetijstvo (Saba in Messina, 2003; Bronick in Lal, 2005). Najpogostejša dejavnika, ki potrošnike prepričajo v nakup ekoloških izdelkov, sta njihova skrb za zdravje in to, da ekološko kmetovanje nima negativnih vplivov na okolje (Huang, 1996; Torjusen in sod., 2001). Mnenje potrošnikov o ekoloških živilih je, da so ta živila bolj zdrava, okusnejša in varnejša. Poleg tega odlikuje ekološko kmetijstvo okolju prijazna, tradicionalna in trajnostna obdelava (Woese in sod., 1997; Chang in Lusk, 2009). Ekološko kmetijstvo je namreč celovit proizvodnji sistem, ki spodbuja zdrav način življenja in trajnostni razvoj kmetijskih ekosistemov. Upošteva biotsko raznovrstnost in biološke cikle ter skrbi za obnovljive vire energije (Bavec in sod., 2010).

Znano je, da redno uživanje sadja in zelenjave pozitivno vpliva na zdravje ljudi. Ob dovolj pogostem uživanju sadja in zelenjave se pojav kroničnih bolezni zmanjša (Arts in Hollman, 2005; He in sod., 2007), saj se v njih nahajajo med drugim pomembne bioaktivne fenolne spojine, ki so najpomembnejši vir naravnih antioksidantov (Chandrasekara in Shahidi, 2011). Poudariti je potrebno, da so študije, ki se ukvarjajo s primerjavo hranilne vrednosti ekoloških in konvencionalnih živil, težje izvedljive in prav tako ni enostavna interpretacija rezultatov (Bourn in Prescott, 2002). Da ekološka živila vsebujejo več vitamina C, železa, magnezija, fosforja in spojin z antioksidativnim delovanjem ter da je v njih manjša vsebnost nitratov in pesticidov, potrjujejo številne raziskave (Worthington, 2001; Williams, 2002; Crinnion, 2010; Lairon, 2010).

Se ekološka živila res kvalitativno ločijo od konvencionalnih? Ali katere od rezultatov tujih raziskovalcev lahko preverimo in potrdimo tudi na vzorcih slovenskega sadja in zelenjave? Ali obstajajo zanesljive metode, s katerimi lahko ločimo med ekološkim in konvencionalnim živilom? V okviru doktorske disertacije smo poskušali odgovoriti na zastavljena vprašanja in jih podkrepiti z dokazi. Med raziskovalci so si mnenja in rezultati o razlikah med ekološkimi in konvencionalnimi živili namreč večkrat nasprotujoča. Za kvalitativno ovrednotenje ekoloških in konvencionalnih živil, smo se osredotočili na določanje antioksidativne učinkovitosti (AOP), skupnih fenolov (SF) in vsebnosti

nekaterih elementov (P, S, Cl, K in Ca). Za potrditev uporabe le organskih gnojil smo uporabili stabilne izotope ogljika in dušika, saj se ta metoda v zadnjem času pogosto uporablja za dokazovanje pristnosti ekoloških živil.

5.1.1 Antioksidativna učinkovitost sadja in zelenjave

Antioksidativno učinkovitost (AOP) vzorcev smo določili z metodo DPPH, ki je najpogostejše v uporabi za določanje AOP različnih živil, tudi za sadje in zelenjavo. Eden od razlogov za izbor omenjene metode je bil tudi ta, da z njo lahko določamo različne vrste antioksidantov. Predpostavljali smo, da bodo imela ekološka živila večje vsebnosti AOP kot konvencionalna. To pripisujemo dejstvu, da zaradi manjše uporabe zaščitnih sredstev v ekološkem kmetovanju rastlina razvije več obrambnih mehanizmov, med katerimi prevladujejo antioksidanti (Koleva in sod., 2002; Borguini in sod., 2013). Poleg tega se dušik iz organskih gnojil sprošča počasneje, kar se izraža v počasnejši vegetativni rasti. Tvori pa se večja količina sekundarnih metabolitov, med katerimi je veliko antioksidantov (Faller in Fialho, 2010). Večjo vsebnost antioksidantov v ekoloških pridelkih si lahko razlagamo s C:N ravnotežno teorijo. Kadar je dušik rastlinam dostopen v zadostnih količinah, le-te sintetizirajo N-vsebujoče spojine kot so proteini, aminokisline in alkaloidi. V primeru presežkov N se ta ne more več akumulirati v rastline, zato pride do kontaminacije okolja (npr. podtalnice). Ob pomanjkanju dušika, kar je pogost pojav pri ekološkem kmetijstvu, rastline spremenijo metabolizem. Namesto N-spojnin, pričnejo tvoriti C-spojine, kot so celuloza, škrob, antioksidanti in drugi sekundarni metaboliti. Ravnotežje C:N se v tem primeru poveča (Brandt in Molgaard, 2001).

Za določanje polarnih antioksidantov smo uporabili ekstrakcijo vzorca z metanolom, poleg tega smo določili antioksidativno učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov (AOPea). AOPea smo merili po 30 in 90 minutah, polarni AOP po 30 in 75 minutah. Največji Pearsonov korelacijski koeficient smo ocenili med polarnima AOP po 30 in 75 minutah ($r = 0,91$), kar kaže na dobro povezavo med obema meritvama. Med AOPea po 30 in 90 minutah je bil korelacijski koeficient ocenjen na 0,80, kar je manj od pričakovanega in kaže na relativno slabo povezavo med meritvama. Obe navedeni oceni korelacijskega koeficienta sta bili pričakovano statistično značilni ($p < 0,05$). Tudi ocene korelacijskih koeficientov med meritvami polarne AOP in AOPea so bile statistično značilne, z

izjemo ocene korelacijskega koeficienta med polarnim AOP po 30 minutah in AO_{Pea} po 90 minutah. Presoja ocen korelacijskih koeficientov kaže, da so v vzorcih prisotni antioksidanti, ki z radikalom DPPH reagirajo različno hitro, kar je vplivalo tudi na izbor časa detekcije.

Za pregled osnovne statistike smo vzorce razdelili v tri skupine: sadje, zelišča in zelenjava. Povprečja za AO_{Pea} po 30 minutah se glede na način kmetovanja niso bistveno razlikovala, vendar so bile vrednosti za ekološke pridelke v vseh treh skupinah višje kot pri konvencionalnih pridelkih. Največje povprečne vrednosti (0,28 mmol DPPH/100 g SV) je imelo ekološko sadje, najmanjše (0,11 mmol DPPH/100 g SV) pa konvencionalna zelenjava. Po 90 minutah sta bili povprečji za zelišča in sadje izenačeni, večja povprečna vrednost za ekološke pridelke je ostala le pri sadju. Spremembe bi lahko pripisali nestabilnosti antioksidantov, zato je tudi priporočen reakcijski čas metode 30 min (Locatelli in sod., 2009).

Pri pregledu rezultatov polarnega AOP težko govorimo o pravilu glede ločevanja ekoloških in konvencionalnih pridelkov. Po 30 minutah so vrednosti polarnega AOP večje za sadje in zelišča pri konvencionalnih pridelkih, medtem ko smo le pri ekološki zelenjavi zasledili večje polarne AOP vrednosti kot pri konvencionalni pridelavi. Večjo polarno AOP vrednost, izmerjeno po 75 minutah, so med ekološkimi pridelki imeli sadje in zelišča, zelenjava je višjo povprečno AOP vrednost dosegla pri konvencionalnih pridelkih. Na splošno so bile razlike povprečnih vrednosti zelo majhne, velika pa so bila nihanja znotraj posamezne skupine. Naše rezultate smo primerjali z rezultati drugih raziskovalcev, ki so praviloma analizirali le eno vrsto pridelkov. V študijah, kjer so primerjali večje število različnih vrst rastlin, je prihajalo do večjih razlik v izmerjeni AOP glede na način kmetovanja. V teh primerih niso določili splošnega trenda višjih vrednosti AOP za ekološke proizvode v primerjavi s konvencionalnimi. Nekatere opazovane rastline so imele večji AOP izmerjen na vzorcih iz ekološke pridelave, druge na konvencionalnih vzorcih. Predvsem je trend različen, če se med seboj primerja različne skupine pridelkov (npr. sadje, zelenjavo in zelišča), kar smo ugotovili tudi v naši raziskavi. Opazne pa so tudi razlike znotraj različnih sort iste vrste (Faller in Fialho, 2009; Faller in Fialho, 2010; Lopez in sod., 2014).

V naši raziskavi so večji AOP vzorci ekološke paprike dosegli le pri meritvi AO_{Pea} po 30 minutah, pri vseh ostalih so bile višje vrednosti v vzorcih konvencionalne pridelave. Prav

tako so Lopez in sod. (2014) višjo hidrofilno antioksidativno učinkovitost za ekološko papriko izmerili le pri eni sorti paprike, pa še ta ni bila statistično značilna. Lipofilni AOP je bil sicer pri obeh opazovanih sortah paprike večja pri vzorcih iz ekološke pridelave, vendar razlike niso bile statistično značilne.

Velika nihanja znotraj skupin in razlike glede na čas bi lahko pripisali tudi stabilnosti antioksidantov. Ta je odvisna predvsem od temperature, vsebnosti kisika (Miquel in sod., 2004) in svetlobe (Okogeri in Tasioula-Margari, 2002). Antioksidante stabilizira nizek pH (Osborn-Barnes in Akoh, 2003; Ajila in sod., 2011), zaradi česar smo vzorcem dodali metafosforno kislino.

Pri meritvah po 30 minutah pri določanju polarne AOP sta bili tako najmanjša kot največja vrednost izmerjeni v skupini konvencionalne zelenjave. Najmanjša vrednost je znašala 0,07 mmol DPPH/100 g SV in je bila izmerjena na kumari. Z metodo FRAP so tudi Halvorsen in sod. (2002) izmerili zelo nizko povprečno vrednost AOP na kumari (0,05 mmol/100 g). Prav tako so nizko vrednost AOP, podobno kot mi, izmerili tudi korenju. Tudi ostali pridelki iste vrste v obeh študijah so imeli podobne vrednosti. Izstopa edino malina, ki je v raziskavi Halvorsen in sod. (2002) pri meritvah polarne AOP imela skoraj petkrat višjo AOP v primerjavi z našimi meritvami.

Največja vrednost polarne AOP po 30 minutah je znašala 2,7 mmol DPPH/100 g SV in je pripadala konvencionalni rdeči pesi. Tudi minimalna in maksimalna vrednost po 75 minutah je bila, pričakovano, izmerjena na istih rastlinah (kumari in rdeči pesi) kot po 30 minutah.

V kolikor bi se osredotočili le na rezultate polarne AOP po 30 minutah, bi lahko zagovarjali trend večjega AOP pri ekoloških pridelkih v primerjavi s konvencionalnimi, kar so potrdili tudi številni drugi raziskovalci v nekaterih vrstah sadja (borovnice, jabolka in grozdje) (Wang in sod., 2008; Faller in Fialho, 2010; Vrčec in sod., 2011) in zelenjave (paradižnik in rdeča pesa) (Aldrich in sod., 2010; Bavec in sod., 2010; Borguini in sod., 2013).

V kolikor pogledamo ostale rezultate, trenda večjih vrednosti AOP za ekološke izdelke ne moremo potrditi. Da ni statistično značilnih razlik glede na način kmetovanja so navajali že nekateri drugi raziskovalci (Lamperi in sod., 2008; Cardoso in sod., 2011).

Z metodo najmanjših kvadratov smo ocenili razlike med pridelki v interakciji z načinom pridelave. Pri oceni AO_{Pea} po 30 minutah višje vrednosti v primerjavi s konvencionalnimi

dosegajo ekološki brokoli, češnja, jabolko, korenje, kumara, malina, peteršilj, rukola, zelena in češnjev paradižnik. Tudi Faller in Faiho (2010) sta večjo antioksidativno učinkovitost določila ekološkemu paradižniku. Med naštetimi smo statistično značilne razlike ocenili za brokoli, kumaro, rukolo in češnjo. Večje ocenjene vrednosti so za to meritev v primerjavi z ekološkimi dosegle konvencionalna bazilika, melancan, paprika in rdeča pesa. Ocenjene vrednosti za hruško in paradižnik so bile glede na način kmetovanja enake.

Za AO_{Pea} po 90 minutah je pri jabolku ocenjena razlika v prid konvencionalni pridelavi, kar je enako kot pri polarnem AOP tako po 30, kot tudi po 75 minutah. AO_{Pea} po 30 minutah pa je večje vrednosti dosegla pri ekološkem jabolku, kar je v skladu s Faller in Faiho (2010). Tudi za hruško je večja vrednost ocenjena v primeru konvencionalne pridelave. Razlike v prid ekološkim pridelkom smo ocenili za malino, češnjo in korenje. Te ocenjene razlike so statistično značilne. Enak trend razlik smo ocenili še za rukolo, rdečo peso, peteršilj in kumaro, le da ocenjene razlike niso statistično značilne. AOP ekološkega in konvencionalnega korenja sta merila tudi Faller in Faiho (2010), vendar prišla do večjih vsebnosti pri konvencionalnem korenčku v primerjavi z ekološkim. Bavec in sod. (2010) pa so večji AOP izmerili pri ekološki rdeči pesi, kar je skladno z našimi rezultati meritev AO_{Pea} po 90 minutah. Rezultati polarnega AOP po 30 in 75 minut in rezultati AO_{Pea} po 30 minutah kažejo ravno nasprotni trend – večje vrednosti v konvencionalni rdeči pesi.

Največjo oceno po metodi najmanjših kvadratov za polarni AOP ima konvencionalna bazilika. Razlika za ekološko baziliko je statistično značilna. Poleg bazilike večje ocenjene vrednosti dosega še konvencionalna rdeča pesa, jabolko in češnjev paradižnik. Za večino pridelkov so ocene tudi pri polarnem AOP v prid ekološki pridelavi, čeprav niso izrazite in niso statistično značilne. Ocenjene razlike za polarni AOP po 75 minutah so večje pri ekoloških pridelkih. Izjeme z višjimi ocenami so enake kot pri polarni AOP, izmerjeni po 30 minutah, le da so razlike še manjše.

Zaključimo lahko, da so v povprečju ekološki pridelki bolj bogati z antioksidanti, so pa velike razlike med posameznimi vrstami. Večje vsebnosti AOP za ekološke pridelke so v svojih raziskavah odkrili tudi drugimi raziskovalci (Cao in sod., 1996; Halvorsen in sod., 2002; Aldrich in sod., 2010; Bavec in sod., 2010), prav tako pa so bile nekatere raziskave AOP večje pri konvencionalnih pridelkih (Faller in Fialho, 2010).

5.1.2 Skupne fenolne spojine

Rastline povečajo koncentracijo fenolov, da se ščitijo pred napadi žuželk, kar vpliva tudi na senzorične lastnosti rastlin. Fenoli so tako odgovorni za notranje in zunanje kakovostne parametre pridelkov (Bravo, 1998).

Največjo povprečno vsebnost skupnih fenolnih snovi smo ugotovili v skupini konvencionalnih zelišč. Znašala je 9,99 mg/100 g SV. Najmanjšo povprečna vsebnost skupnih fenolnih snovi smo ugotovili pri skupini konvencionalne zelenjave in je znašala 5,26 mg/100 g SV. Znotraj te skupine je bila tudi vrsta zelenjave, kateri je bila izmerjena najmanjša vsebnost skupnih fenolov. Najmanjšo izmerjeno vsebnost skupnih fenolov ima konvencionalno pridelana kumara (0,84 mg/100 g SV). Za ta vzorec je bila ugotovljena tudi najmanjša vrednost AOP. Največja vsebnost skupnih fenolov med posameznimi vzorci je bila ugotovljena pri ekološki rdeči pesi in je znašala 23,82 mg/100 g SV. Tudi ocenjena razlika vsebnosti skupnih fenolov med načinoma pridelave je bila pri rdeči pesi največja in v korist ekološki pridelavi. Naše ugotovitve glede razlik v vsebnosti skupnih fenolov glede na način pridelave so v skladu z Bavec in sod. (2010). Ti avtorji navajajo skoraj trikrat večjo vsebnost skupnih fenolov za ekološko pridelano rdečo peso v primerjavi z našimi rezultati.

Korelacije med AOP in vsebnostjo skupnih fenolov kažejo, da sta lastnosti povezani. Ocene korelacijskih koeficientov med meritvami tako polarnih AOP kot AO_{Pea} v primerjavi z vsebnostjo skupnih fenolov so vse statistično značilne. Močno povezanost med AOP in vsebnostjo skupnih fenolov navajajo tudi številni drugi raziskovalci (Bahorun in sod., 2004; Stratil in sod., 2006; Surveswaran in sod., 2007; Bavec in sod., 2010). Najvišji korelacijski koeficient je ocenjen med polarno AOP po 75 minutah in vsebnostjo skupnih fenolov in znaša 0,72. Nekoliko manjši korelacijski koeficient (0,62) so Bavec in sod. (2010) ocenili pri analizi vzorcev rdeče pese iz različnih načinom kmetovanja.

Znotraj posameznih skupin pridelkov so bila najmanjša nihanja med meritvami ugotovljena pri sadju. Ko primerjamo povprečne koncentracije vsebnosti skupnih fenolov po skupinah pridelkov, vidimo, da sta skupini ekološkega sadja in zelenjave imeli višje vrednosti v primerjavi s konvencionalnima. Med vzorci sadja je največja ocenjena razlika med načinoma kmetovanja v korist ekološkega (za jabolko). Ocenjena razlika je statistično značilna, kar je v nasprotju z raziskavami Roussos in Gasparatos (2009) ter Bizjak Bat in

sod. (2012), ki v vsebnosti skupnih fenolov niso ugotovili razlik. Višjo povprečno vsebnost skupnih fenolov je imela le skupina konvencionalnih zelišč (9,99 mg/100 g SV) v primerjavi z ekološkimi zelišči (9,54 mg/100 g SV). Višjo vsebnosti skupnih fenolov v ekoloških pridelkih pripisujemo temu, da se zaradi neuporabe pesticidov pri teh rastlinah aktivira več obrambnih mehanizmov (Gravel in sod., 2010).

Ker imajo ocene vsebnosti skupnih fenolov po metodi najmanjših kvadratov za posamezne pridelke v interakciji z načinom pridelave relativno majhno standardno napako, je večina razlik statistično značilnih. Večinoma so ocenjene vrednosti višje za ekološka živila, z izjemo zelene, bazilike in brokolija. Rezultati niso pokazali statistično značilnih razlik med načinoma pridelave za melancan in rukolo, kar je skladno z raziskavo (Luthria in sod., 2010). Veliko raziskovalcev je prišlo do rezultatov v prid ekološkim pridelkom, tako za hruško (Carbonaro in sod., 2002), papriko (Perez-Lopez in sod., 2007), korenje in brokoli (Faller in Fialho, 2009), kot tudi za jabolko (Lamperi in sod., 2008; Mikulic-Petkovsek in sod., 2010). Rezultati omenjenih raziskav so skladni z našimi rezultati, z izjemo ekološkega brokolija, za katerega smo dobili manjše ocenjene vrednosti za vsebnost skupnih fenolov v primerjavi s konvencionalnim.

Rembialkowska (2007) ocenjuje, da ekološka živila na splošno vsebujejo dvakrat večjo vsebnost skupnih fenolov kot konvencionalna živila. Nekatere študije pa poročajo, da razlik v vsebnosti skupnih fenolov med ekološko in konvencionalnimi živili ni (Hakkinen in Torronen, 2000; Valavanidis in sod., 2009; Cardoso in sod., 2011). Rezultati študije sliv so pokazali večje vsebnosti skupnih fenolov na vzorcih iz konvencionalne pridelave, v primerjavi z ekološkimi (Lombardi-Boccia in sod., 2004). Prav tako sta Faller in Fialho (2009) ob primerjavi konvencionalne in ekološke čebule izmerila večje vsebnosti skupnih fenolov na vzorcih konvencionalne čebule.

Različni stresni dejavniki vplivajo na metabolizem polifenolov v rastlinah. Poveča se vsebnost teh snovi in ker je v ekološki pridelavi več stresnih dejavnikov, so posledično vsebnosti fenolnih snovi v teh pridelkih večje. Raziskovalci so zabeležili tudi višjo aktivnost encima PAL (angl. Phenylalanine Ammonia Lyase) in lipidne peroksidacije v ekološko pridelanem paradižniku (Oliveira in sod., 2013). PAL je ključni encim pri biosintezi fenolov in je povezan s pomanjkanjem N. S svojo aktivnostjo poveča NO_3^- v rastlinah. Količina N v tleh na splošno močno vpliva na sintezo fenolnih spojin (Treutter, 2010).

5.1.3 Stabilni izotopi ogljika in dušika

Z metodo izotopske masne spektrometrije (IRMS) smo določili izotopski sestavi ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) in dušika ($\delta^{15}\text{N}$) v vzorcih. Želeli smo preveriti, ali lahko ti dve meritvi uporabimo kot potencialna indikatorja ekološke pridelave. Predpostavljali smo, da imajo ekološko pridelane rastline nižje $\delta^{13}\text{C}$ in višje $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v primerjavi z enakimi rastlinami, pridelanimi na konvencionalen način. Nižje vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ pripisujemo večji mikrobnosti aktivnosti v ekološkem kmetijstvu (Hogberg in sod., 1995). Mineralna gnojila imajo nižje $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti (okrog 0 ‰) od organskih (med 10 ‰ in 25 ‰), zato so bile izmerjene višje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v zelenjavi, gnojeni z organskimi gnojili (Wang in sod., 2008).

Ocene korelacijskih koeficientov med vrednostmi $\delta^{13}\text{C}$ ter polarno AOP po 30 in 75 minutah so statistično značilne in negative. Glede na to, da smo predpostavljali, da imajo ekološki pridelki višje vrednosti AOP in nižje $\delta^{13}\text{C}$, lahko z oceno navedenih korelacijskih koeficientov potrdimo zakonitost, da je v primeru višjih vrednosti AOP vrednost $\delta^{13}\text{C}$ manjša. Med meritvami AO_{Pea} in skupnih fenolov, ocene korelacijskih koeficientov z vrednostmi $\delta^{13}\text{C}$ niso statistično značilne, kar pomeni, da lastnosti nista povezani.

Ob pregledu rezultatov ugotavljamo, da se parameter $\delta^{13}\text{C}$ ni izkazal za uporabnega pri razlikovanju ekoloških pridelkov od konvencionalnih, kar je skladno z ugotovitvami Flores in sod. (2007). V naši raziskavi je namreč polovica vzorcev res imela nižje $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti pri ekoloških pridelkih, vendar je bil trend pri ostali polovici vzorcev ravno obraten.

Vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ so uporabne predvsem za ugotavljanje potvorb živil ko se dodaja sladkor iz sladkorne pese in trsa. V rastlinah so vedno prisotna naravna nihanja vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ zaradi različnih okoljskih dejavnikov, kot sta količina vode in svetlobe (Kelly, 2003).

Glede na naše rezultate bi lahko pritrdili Batemanu in sod. (2007), da ekološki pridelki, gnojeni z organskim gnojilom, vsebujejo večji delež izotopa ^{15}N v primerjavi s konvencionalnimi pridelki in se zato vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ lahko uporabljajo za razlikovanje med ekološkimi in konvencionalnimi živili. Vendar tudi trend višjih vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ ne moremo potrditi za vse vzorce. Pri nekaj izjemah (jabolko, korenje, kumara, malina in paprika) je bila višja izmerjena vrednost $\delta^{15}\text{N}$ v konvencionalnih pridelkih, kar je v nasprotju z Bizjak Bat in sod. (2012) ter Molk (2011). Pri omenjenih raziskavah so višje $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti določili ekološkim jabolkom. Vzroke za to, da je pri nekaterih vzorcih vrednost $\delta^{15}\text{N}$ višja

pri konvencionalnih pridelkih, bi lahko pripisali tudi temu, da nekateri konvencionalni kmetje poleg mineralnih gnojil dodajajo tudi organska gnojila. Prav tako je bila naša poskusna gredica leto pred poskusom pognojena s hlevskim gnojem.

Med procesom mineralizacije organske snovi se zaradi izhlapevanja lažjega izotopa dušika (^{14}N) organskim gnojilom poviša vrednost težjega izotopa dušika (^{15}N). Poleg gnojenja pa na vsebnost $\delta^{15}\text{N}$ v pridelkih vpliva tudi čas gnojenja, tip in vlažnost zemlje, vpliv pa imajo tudi predhodni posevki na tem območju (Bateman in sod., 2007). Prav tako se med kompostiranjem ali proizvodnjo organskih gnojil odvijajo biotski in abiotski procesi. Tako lahko različna organska gnojila, uporabljena kot vir N, različno vplivajo na vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ rastlin (Choi in sod., 2003).

Ocene korelacijskih koeficientov kažejo tudi na medsebojno povezavo med vrednostmi $\delta^{15}\text{N}$ in polarnim AOP po 30 minutah. Povezava je statistično značilna, korelacijski koeficient pa znaša -0,41. Noben drug korelacijski koeficient AOP in skupnih fenolov z $\delta^{15}\text{N}$ ni statistično značilen. Za izmerjene vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ velja, da so v večini primerov vrednosti za ekološke pridelke višje kot za konvencionalne pridelke. Največje razlike so opazne pri hruški, baziliki, rdeči pesi, češnjevem paradižniku, zeleni, rukoli in peteršilju. Prav tako višje vrednosti, le z manjšimi razlikami, so v primerjavi s konvencionalnimi tudi za ekološko češnjo, melancan in paradižnik. Višje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ za konvencionalne, glede na ekološke pridelke, dosegajo le jabolko, korenje, malina in paprika, pri čemer je pri slednji razlika največja. Velja, da so razlike med meritvami velike in da se je $\delta^{15}\text{N}$ izkazal kot hiter in relativno poceni indikator za ugotavljanje gnojenja z mineralnimi gnojili, kar so potrdili tudi drugi raziskovalci (Bateman in sod., 2005; Georgi in sod., 2005; Rapisarda in sod., 2005; Bateman in sod., 2007; Flores in sod., 2007; Rogers, 2008).

5.1.4 Elementna sestava

Wothingtonova (2001) je v svoji raziskavi primerjala 1240 študij in prišla do zaključkov, da ekološko sadje in zelenjava vsebujejo večje vsebnosti Fe, Mg in P kot konvencionalni pridelki.

Veliko avtorjev (Schuphan, 1975; Roussos in Gasparatos, 2009; de Souza Araújo in sod., 2014) je v svojih raziskavah ugotovilo večje vsebnosti Ca, K in P v pridelkih iz ekološke pridelave v primerjavi s konvencionalnimi pridelki. V naši študiji so v večini večje

vsebnosti teh elementov dosegali konvencionalni pridelki, kar je za vsebnosti K in P skladno z ugotovitvami Kristl in sod. (2003), ki so primerjali jagode, pridelane po ekološkem in integriranem načinu kmetovanja.

Večje vsebnosti Ca v primerjavi s konvencionalnimi pridelki, imajo ekološki pridelki: bazilika, hruška, korenje, paprika, peteršilj, rukola in zelena. Največjo vsebnost Ca smo izmerili prav na ekološki rukoli (46.700 mg/kg), najmanjšo pa na konvencionalni hruški in je znašala 352 mg/kg.

Pri meritvah vsebnosti K so med vzorci imeli večje vsebnosti ekološki brokoli, melancan, peteršilj, rukola in zelena. Največjo povprečno vsebnost K imajo ekološka zelišča, najmanjšo povprečno vsebnost pa ekološko sadje. Z izjemo peteršilja in rdeče pese so bile razlike v vsebnostih K med načini pridelave zelo majhne. Več vsebnost Ca in K za ekološke pridelke v primerjavi s konvencionalnimi je tudi v skladu z raziskavami Worthington (2001). Več vsebnost K v konvencionalni zeleni papriki v primerjavi z ekološko je v skladu z raziskavami Perez-Lopez in sod. (2007).

Vsebnosti P so za ekološke pridelke večje pri papriki, paradižniku, rukoli, zeleni in rdeči pesi. Največjo povprečno vrednost za vsebnost P ima skupina konvencionalnih zelišč, najmanjšo povprečno vrednost pa ekološko sadje, kjer je bila izmerjena tudi najmanjša vsebnost fosforja (jabolko, 355 mg/kg). Največja vsebnost P je bila izmerjena v konvencionalni baziliki in je znašala 4620 mg/kg. Izmerjene vrednosti za posamezne vrste pridelkov kažejo na to, da je vsebnost fosforja v konvencionalnih pridelkih bistveno večja, kot v ekoloških, kar je skladno s Kristl in sod. (2013). Dangour in sod. (2009) so primerjali 46 študij in ugotovili, da med načini kmetovanja v vsebnosti elementov (Mg, K, Ca, Zn in Cu) ni razlik. Le vsebnost P je bila statistično značilno večja za ekološke pridelke.

Zelišča iz ekološke pridelave imajo največjo povprečno vsebnost Cl. Najmanjšo ima ekološko sadje, znotraj katerega je bila izmerjena najmanjša vsebnost klora, in sicer 70,30 mg/kg (jabolko). Največja vsebnost Cl je znašala 14100 mg/kg (ekološka zelena). Raziskave, kjer bi primerjali vsebnost Cl med ekološkimi in konvencionalnimi pridelki, nismo zasledili. V primerjavi z vsebnostjo ostalih elementov se vsebnosti Cl, med načini pridelave najbolj razlikujejo. Največja razlika med ekološkim in konvencionalnim pridelkom v vsebnosti Cl je bila izmerjena za zeleno (ekološka: 14100 mg/kg; konvencionalna: 3650 mg/kg). Ekološka rukola in peteršilj imata prav tako večje vsebnosti Cl v primerjavi z njunim parom iz konvencionalne pridelave.

Največjo povprečno vsebnost S glede na skupine sadja, zelenjave in zelišč imajo konvencionalna zelišča. Večjo povprečno vsebnost je od ekoloških, v primerjavi s konvencionalnimi, dosegla le skupina zelenjave, kar je skladno z raziskavami Wszelaki in sod. (2005), ki so večje vsebnosti S izmerili na ekološkem krompirju, v primerjavi s konvencionalnim. Največja vsebnost S je bila izmerjena na konvencionalni zelenjavi (brokoli - 13600 mg/kg). Najmanjšo povprečno vsebnost S ima skupina ekološkega sadja, kjer je bila izmerjena tudi najmanjša vsebnost S, in sicer v jabolku (181 mg/kg). Gledano za posamezne skupine znotraj načina kmetovanja imata konvencionalno sadje in zelišča večje povprečne vsebnosti S v primerjavi z ekološkimi. Z izjemo rukole, zelene in peteršilja so vsebnosti S večje pri konvencionalnih pridelkih, kar je skladno z rezultati Gastol in Domagala-Swiatkiewicz (2012).

Ocenjen korelacijski koeficient med AO_{Pea} po 90 minutah in vsebnostjo P je ravno tako statistično značilen, vendar je negativen ($r = -0,37$). Zaradi gnojenja z mineralnimi gnojili, ki vsebujejo velik del fosforja, so bile vsebnosti le-tega posledično večje v večini konvencionalnih pridelkov. Če pa pogledamo rezultate AOP so bili ti v povprečju večji pri ekoloških pridelkih.

Tako ocenjeno statistično značilno korelacijo med vsebnostjo S in vrednostjo $\delta^{13}\text{C}$ ($r = -0,51$), kot tudi največje ocenjen korelacijski koeficient med vsebnostjo S in vsebnostjo Ca ($r = 0,75$) lahko povežemo z vplivom gnojenja z mineralnimi gnojili.

Vsebnost Ca ima ocenjene statistično značilne korelacijske koeficiente s polarnim AOP po 30 in po 75 minutah. To si lahko razlagamo s tem, da pomanjkanje Ca povzroči razpad celičnih sten in propad prizadetih mest. Tako Ca^{2+} , kot tudi encimski receptor kalmodulin, vplivata na zmanjšanje stresa pri rastlinah (Braam in sod., 1996). Na vzorcih paradižnika je bilo ugotovljeno, da pomanjkanje Ca povzroči pomanjkanje tokoferola in da vpliva na antioksidativno delovanje, saj se z oksidativnim stresom poveča tudi vsebnost Ca v rastlinskih celicah (Schmitz-Eiberger in sod., 2002).

Večje vsebnosti K v konvencionalnih pridelkih pripisujemo temu, da so bila tem pridelkom dodana mineralna gnojila, ki vsebujejo velik delež K (15 %). Ocenjena korelacijska koeficienta med polarnima AOP (po 30 in 75 minutah) in vsebnostjo K sta statistično značilna in pozitivna. Tudi Nguyen in sod. (2010), ki so opravili poizkus na vzorcih bazilike, so ugotovili, da večje koncentracije K pozitivno vplivajo na AOP in SF.

Zaključimo lahko, da vsebnosti elementov glede na način kmetovanja ne moremo uporabiti za določitev pristnosti ekoloških pridelkov. Vsebnosti so med elementi in znotraj posameznega elementa zelo raznolike in brez nekega pravila.

5.2 SKLEPI

Na osnovi predstavljenih rezultatov analiz na skupno 16 pridelkih, ki predstavljajo štiri vrste sadja, osem vrst zelenjave in štiri vrste zelišč, vsakega pridelanega po ekološkem in konvencionalnem principu, povzamemo naslednje sklepe:

- Večje antioksidativne učinkovitosti pri ekoloških živilih v primerjavi s konvencionalnimi ne moremo potrditi. Opazen je trend večjih AOP za ekološko pridelane vrste sadja in zelenjave, ne pa za vse pridelke.
- Z metodo merjenja AO_{Pea} smo v večini primerov določili večje vrednosti v ekoloških vzorcih v primerjavi s konvencionalnimi, kot z metodo polarne AOP.
- Vsebnost SF je povezana z antioksidativno učinkovitostjo (visok korelacijski koeficient).
- Vsebnost SF je v večini primerov večja v ekoloških pridelkih glede na konvencionalne pridelke.
- Večina pridelkov iz ekološke pridelave vsebujejo višje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ kot pridelki iste vrste konvencionalnega kmetijstva.
- Na osnovi vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ ni mogoče razlikovati med ekološkimi in konvencionalnimi pridelki.
- Statistično značilne povezave so bile ocenjene med polarnim AOP in vrednostma $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter vsebnostjo kalcija in vsebnostjo kalija. Statistično značilno sta povezana tudi polarni AOP in vsebnost SF.
- Za vse vrste meritev velja, da so razlike med vrstami pridelkov v kemijski sestavi večje, kot so razlike med načinoma pridelave, zato na osnovi teh razlik ni mogoče postaviti splošnega pravila za določanje pristnosti ekoloških pridelkov.

6 POVZETEK (SUMMARY)

6.1 POVZETEK

Zaradi čedalje večje osveščenosti o pomenu sonaravnosti ter negativnih učinkih pesticidov in drugih mineralnih pripravkov na zdravje ljudi in okolje, je povpraševanje po ekoloških živilih čedalje večje. S porastom povpraševanja po ekoloških pridelkih narašča tudi število potvorb in zavajanj. Da bi potrošniku lahko zagotavljali pristnost ekoloških izdelkov ter preverili, ali obstajajo razlike med ekološkimi in konvencionalnimi živili v kemijski sestavi, smo v naši raziskavi opravili meritve antioksidativne učinkovitosti (AOP), skupnih fenolov (SF), stabilnih izotopov ogljika in dušika (vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$) ter elementno sestavo. Z analizami AOP, SF in vsebnostjo elementov (P, S, Cl, K in Ca) smo želeli preveriti, ali se ekološka živila razlikujejo od konvencionalnih živil. Z metodo določitve vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ smo želeli preveriti primernost metode za ločevanje med ekološkimi in konvencionalnimi živili. Namen raziskave je bil preveriti vpliv načina kmetovanja na več različnih vrstah pridelkov, kar do sedaj še ni bilo narejeno.

V analizo smo zajeli 16 različnih vrst pridelkov, ki smo jih pridelali na lastni gredici. Na njivi, ki več kot 30 let ni bila gnojena z mineralnimi gnojili, smo naredili dve gredici in na vsako posadili oz. posejali enako število rastlin ob istem času in na enak način za vsako vrsto. Eno gredico (ekološko) smo po potrebi le zalivali z vodo, drugo (konvencionalno) smo poleg zalivanja tudi gnojili z mineralnim gnojilom po navodilih proizvajalca. Pridelke smo z gredic pobrali v času zrelosti. Ker nekaterih rastlin nismo uspeli vzgojiti, smo jih pridobili pri slovenskih ekoloških oziroma konvencionalnih kmetovalcih. Ekoloških pridelki so izhajali iz certificirane pridelave.

Z metodo DPPH smo 96 vzorcem določili AOP. Merili smo polarno antioksidativno učinkovitost in antioksidativno učinkovitost frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov (AOPea). Največjo povprečno vrednost za AOPea po 30 minutah smo izmerili na sadju, sledijo zelišča in zelenjava z najmanjšo izmerjeno povprečno vrednostjo. Za vse tri skupine pridelkov velja, da imajo skupine ekoloških pridelkov večje vrednosti od konvencionalnih. Največjo povprečno vrednost za AOPea po 90 minutah ima ekološko sadje (0,38 mmol DPPH/100 g SV). Sledijo vrednosti za zelišča in nato za zelenjavo, pri čemer se povprečne vrednosti za ti dve skupini ne razlikujejo glede načina kmetovanja.

Ocenjene vrednosti po metodi najmanjših kvadratov za AO_{Pea} po 30 minutah nam kažejo, da imajo vse opazovane vrste sadja (češnja, jabolko, malina in hruška) iz ekološke pridelave večje ocenjene vrednosti v primerjavi s konvencionalno. V skupini zelišč so le ocene za baziliko iz konvencionalne pridelave večje, vsa ostala zelišča (peteršilj, rukola, zelena) imajo večje ocenjene vrednosti iz ekološke pridelave. Med ocenjenimi vrednostmi za zelenjavo izstopajo melancan, paprika in rdeča pesa, pri katerih so večje vrednosti za konvencionalne pridelke, ostala zelenjava (brokoli, korenje, kumara, paradižnik in češnjev paradižnik) imajo večje ocenjene vrednosti iz ekološke pridelave. Statistično značilne razlike med načinom kmetovanja so ocenjene za brokoli, kumaro, rukolo in češnjo.

Ocenjene vrednosti po metodi najmanjših kvadratov za AO_{Pea} po 90 minutah se od AO_{Pea} po 30 minutah razlikujejo za jabolko in češnjev paradižnik. Večje so v primeru konvencionalne pridelave. Za razliko od AO_{Pea} po 30 minutah so ocenjene vrednosti za AO_{Pea} po 90 minutah za ekološko rdečo peso večje od konvencionalne.

Med povprečnimi vrednostmi skupin pridelkov za polarni AOP po 30 minutah med ekološkimi in konvencionalnimi pridelki so razlike zanemarljive. Po vsebnostih si od največje do najmanjše povprečne vrednosti sledijo: konvencionalna zelišča > ekološka zelišča > ekološka zelenjava > konvencionalno sadje > konvencionalna zelenjava in ekološko sadje. Za polarni AOP po 75 minutah imajo največjo povprečno vrednost konvencionalna zelišča (1,11 mmol DPPH/100 g SV). Povprečne vrednosti za sadje in zelenjavo so bile nekoliko večje pri ekološki pridelavi v primerjavi s konvencionalno.

Ocenjene vrednosti po metodi najmanjših kvadratov za polarni AOP po 30 minutah so od polarnega AOP po 75 minutah različne v vrednostih pri melancanu, katerega vrednosti po 75 minutah so večje za ekološkega. Pri papriki, rdeči pesi in paradižniku pa so ocenjene vrednosti po 75 minutah, v primerjavi z ocenjenimi vrednostmi po 30 minutah, večje za konvencionalne pridelke.

Z metodo Folin-Cicalteu smo določili vsebnost SF. Povprečne vsebnosti za skupino pridelkov so si od najmanjše do največje sledile: konvencionalna zelenjava < konvencionalno sadje < ekološko sadje < ekološka zelenjava < ekološka zelišča < konvencionalna zelišča. Le skupina zelišč je imela večjo povprečno vsebnost za konvencionalne v primerjavi z ekološkimi pridelki. Ocenjene vrednosti po metodi najmanjših kvadratov so bile za konvencionalne pridelke večje pri baziliki, brokoliju, melancanu, malini in zeleni. Pri vseh ostalih so bile ocenjene vrednosti večje pri ekoloških

pridelkih. Statistično značilne razlike med načinoma pridelave so ocenjene za ekološko baziliko, brokoli, češnjo, jabolko, papriko, paradižnik, peteršilj, zeleno in rdečo peso.

Za določanje vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ smo uporabili masno spektrometrijo za analitiko stabilnih izotopov lahkih elementov (angl. Isotope Ratio Mass Spectrometry – IRMS) na 32 vzorcih. Vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ se med pridelki iz različnih pridelav niso razlikovale. Največja razlika v vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ je bila med ekološko in konvencionalno češnjo ter med ekološko in konvencionalno hruško. V obeh primerih so bile vsebnosti $\delta^{13}\text{C}$ za ekološko vrsto večje. Največje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ so bile izmerjene na vzorcih sadja, sledi zelenjava in na koncu zelišča. Vse skupine so imele večje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ za ekološke pridelke. Če primerjamo posamezne vrste, so večje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ imele konvencionalno jabolko, korenje, kumara, malina in paprika. Pri vseh ostalih (bazilika, brokoli, češnja, hruška, melancan, paradižnik, peteršilj, rukola, zelena, češnjev paradižnik in rdeča pesa) so bile vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ večje pri ekoloških pridelkih. Najbolj izstopajoča razlika, v prid ekološki pridelavi, je vidna pri hruški.

Z energijsko disperzijsko rentgensko fluorescenčno spektrometrijo (EDXRF) smo določili pet elementov v 16 različnih vrstah sadja, zelenjave in zelišč.

Za fosfor so bile vsebnosti pri večini konvencionalnih pridelkov večje v primerjavi z ekološkimi. Izjeme so paprika, paradižnik, rukola, zelena in rdeča pesa. Največja vsebnost je bila izmerjena na konvencionalnem brokoliju. Med skupinami imajo največje povprečne vsebnosti zelišča, sledi zelenjava in nato sadje. Vse skupine iz konvencionalne pridelave imajo večje vsebnosti od ekoloških.

Enak trend se pojavlja tudi pri vsebnosti žvepla. Vsebnosti žvepla so bile večje v konvencionalnih pridelkih, razen za peteršilj, rukolo in zeleno, kjer so bile večje vsebnosti pri ekoloških pridelkih.

Vsebnosti kalcija so bile v večini primerov nizke in precej izenačene med načinoma kmetovanja. Izstopajo bazilika, peteršilj, rukola in zelena z večjimi vrednostmi pri ekoloških pridelkih ter brokoli in kumara z večjo vrednostjo za konvencionalni način pridelave. Povprečne vrednosti za skupine si od največje do najmanjše sledijo: ekološka zelišča > konvencionalna zelišča > konvencionalna zelenjava > ekološka zelenjava > konvencionalno sadje > ekološko sadje.

Za vsebnost kalija so vrednosti med pridelki bolj izenačene. V večini primerov velja enako pravilo kot za vsebnost kalcija. razlike med načinoma pridelave so bolj očitne. Brokoli,

melancan, peteršilj in zelena so imeli večje vsebnostjo kalija v primeru ekološke pridelave, ostale vrste pridelkov so večje vsebnosti dosegale iz konvencionalne pridelave. Izjema je rukola, kjer je razlika med načinoma pridelave zanemarljiva.

Pri vsebnostih klora je bil največji razpon med obema rdečima pesama z večjo vrednostjo pri konvencionalni in obema vrstama zelene z večjo vrednostjo pri ekološki. Češnjev paradižnik, rukola, peteršilj, melancan, brokoli in bazilika so imeli večje izmerjene vrednosti klora iz ekološke pridelave, pri ostalih je bilo obratno. Povprečne vrednosti za skupine si sledijo od največje do najmanjše: ekološka zelišča > konvencionalna zelenjava > konvencionalna zelišča > ekološka zelenjava > konvencionalno sadje > ekološko sadje.

Raziskava je obsegala tudi ocenjevanje korelacijskih koeficientov med analiziranimi parametri. Statistično značilne povezave so bile ocenjene med polarnim AOP in vrednostma $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ ter vsebnostjo kalcija in vsebnostjo kalija. Statistično značilno sta povezana tudi polarni AOP (po 30 in 75 minutah) in SF. Povezava z vsebnostjo skupnih fenolov je visoka predvsem s polarnim AOP po 75 minutah ($r = 0,72$). Največja korelacija pa je pričakovano ocenjena med polarnim AOP po 30 in po 75 minutah ($r = 0,92$).

Kljub vsemu je bila večina večjih vrednosti v prid ekoloških pridelkov, enako velja tudi za vsebnost SF. Vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ nam niso dale rezultatov, s katerimi bi lahko ločevali ekološke pridelke od konvencionalnih. Med analizami, katere smo uporabili v naši raziskavi, se je metoda za določanje $\delta^{15}\text{N}$ izkazala kot najbolj primerna za ugotavljanje pristnosti ekološko pridelanih živil, čeprav pravilo večjih $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti za ekološka živila ni veljalo pri popolnoma vseh vzorcih. Za vse vrste meritev velja, da so razlike med vrstami pridelkov v kemijski sestavi večje, kot so razlike med načinoma pridelave, zato na osnovi teh razlik ni mogoče postaviti splošnega pravila za določanje pristnosti ekoloških pridelkov.

6.2 SUMMARY

Awareness about sustainability and the negative effects of pesticides and other mineral fertilizers on human health as well as the environment is growing, thus increasing the demand for organic crop along with various fabrications. The main objective of the research was to use the measurements of antioxidant activity (AOP), total phenols (SF), carbon and nitrogen stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$), and various elemental compositions (P, S, Cl, K in Ca) in order to establish potential chemical differences between organic and conventional crops as well as to provide consumers with authentic ecological. In addition,

our aim was to check whether organic food is quantitatively different from conventional food, and if the analysis of the isotopic compositions of carbon and nitrogen could be used to distinguish between organic and conventional food. Last but not least, we wanted to establish whether the differences in farming systems would in any way be reflected in different types of crops. Sixteen different types of crops were included in our study.

Sixteen different types of crops were included in our study. The experiment was conducted on the soil that had not been fertilized with mineral fertilizers for over 30 years. Two patches were made, where the same number of plants were planted and sown at the same time and in the same way for each type. The organic group of samples was only watered; while, the conventional group of samples was watered with an additional of mineral fertilizers administrated according to the manufacturer's instructions. Samples which we were unable to breed on our own were obtained from Slovenian certified organic and conventional farmers. Only mature crops were harvested.

The DPPH method was used to establish the antioxidant activity (AOP) of 96 samples. The highest average value for polar AOP after 30 minutes was measured on fruit, followed by herbs and vegetables with the lowest measured average value. It is considered that organic system from all three groups have higher values than conventional production crops. The highest average value of fraction in ethyl acetate soluble antioxidants (AO_{Pea}), determined after 90 minutes were measured in organic fruit (0.38 mmol DPPH/100 g FW), followed by values for herbs and vegetables, the measured average values of which are identical regardless of the farming system.

It was found that the estimated value according to the method of least squares for AO_{Pea} after 30 minutes shows that all the observed types of fruit (cherry, apple, raspberry and pear) have higher estimated values within organic production compared to conventional. In the group of herbs only conventional grown basil has higher antioxidant activity, while all other herbs (parsley, rocket, celery) have higher estimated value when grown in organic production.

The estimated values for vegetables, such as eggplant, pepper and beetroot differ from others, as higher values were measured within conventional crops. Other vegetables (broccoli, carrot, cucumber, tomatoes, and cherry tomatoes) have higher estimated values in organic production. Statistically significant differences between farming system were assessed for broccoli, cucumber, rocket and cherry.

The estimated values according to the least squares method for AO_{Pea} after 90 minutes and AO_{Pea} after 30 minutes differs for apples and cherry tomatoes, which are higher in the case of conventional production. Unlike the AO_{Pea} after 30 minutes, the estimated values of AO_{Pea} after 90 minutes to the organic beetroot are higher than with the conventional.

The differences between average values for polar antioxidant activity after 30 minutes when comparing organic and conventional crops are negligible. The following order of crops from highest to lowest average values was observed: conventional herbs > organic herbs > organic vegetables > conventional fruits > conventional vegetables and organic fruits.

After 75 minutes conventional herbs were measured to have the highest average value for a polar antioxidant activity (1.11 mmol DPPH/100 g FW). Compared to conventional production, the average values for fruits and vegetables were higher in organic production.

The estimated values according to the method of least squares for polar antioxidant activity after 30 minutes, are different from the value for polar antioxidant activity after 75 minutes with various crops, such as the eggplant, the values of which after 75 minutes were higher within organic production. However, the estimated values after 75 minutes are higher compared to the estimated values after 30 minutes when considering conventionally grown peppers, beetroot and tomatoes.

The Folin-Ciocalteu method was used to determine the total phenols content. Average values, by group, from the lowest to the highest are as follows: conventional vegetables < conventional fruit < organic fruit < organic vegetables < organic herbs < conventional herbs. Only herbs had a higher estimated value in conventional production compared to organic. The estimated values with conventional crops according to the method of least squares were higher for basilica, broccoli, eggplant, raspberries and celery. For all other crops the estimated values were higher within organic production. Statistically significant differences between farming systems were estimated for apple, basil, beetroot, broccoli, celery, cherry, parsley, pepper and tomato.

For the determination of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ the isotope ratio mass spectrometry (IRMS) was used on 32 samples. The $\delta^{13}\text{C}$ values in products from different farming systems did not differ significantly. The largest distinction in $\delta^{13}\text{C}$ values were measured between organically and conventionally produced cherries and pears. The highest values of $\delta^{15}\text{N}$ were measured on fruit samples, followed by vegetables and herbs. All three groups had

higher $\delta^{15}\text{N}$ values in organic production. As seen in individual varieties the conventional apple, carrot, cucumber, raspberry and pepper had higher values of $\delta^{15}\text{N}$. For all others (basil, broccoli, cherry, pear, eggplant, tomatoes, parsley, rocket, celery, cherry tomatoes and beetroot) $\delta^{15}\text{N}$ values were higher in organic crops. The most prominent difference in favor of organic production is visible in the pear.

The Energydispersive X-ray fluorescence (EDXRF) was used to determine 5 elements in 16 different types of fruits, vegetables and herbs. The phosphorus content was higher in most conventional crops compared to the organic. The only exceptions were peppers, tomatoes, rocket, celery and beetroot. The highest value was measured in conventional broccoli. As we compared groups, the highest average values were observed in herbs, followed by vegetables, and fruits. Compared to organic groups, all conventional groups had higher phosphorus content. The same trend could also be seen in sulphur content which content was higher in conventional crops, with the exception of parsley, rocket and celery, where higher values were observed in organic crops.

In most cases, calcium content was quite uniform between different farming systems except for basil, parsley, rocket and celery, where higher contents for organic crops were observed, and broccoli, which had the highest content in conventional production. The following order was observed for average values ranging from the highest to the lowest: organic herbs > conventional herbs > conventional vegetables > organic vegetables > conventional fruits > organic fruits.

The value for potassium, however, are much more uniform. Broccoli, eggplant, parsley and celery had higher potassium levels between organic crops, all other types of crops are cherries levels reached in the conventional production. With the only exception in rocket where there are no difference between the farming system.

Moreover, a high variation was observed for chlorine content between the red beet with higher values observed in conventional production and celery with higher values obtained in organic production. Cherry tomatoes, rocket, parsley, eggplant, broccoli and basil contained a higher content of chlorine in organic production, while in other products higher content was observed in conventional production. The average values for group samples from the highest to the lowest are as follows: organic herbs > conventional vegetables > conventional herbs > organic vegetables > conventional fruit > organic fruit.

The research also included the estimation of cross correlations coefficients between all analyzed parameters. A statistically significant correlation was observed between antioxidant activity and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values, calcium and potassium. AOPea and SF are also statistically linked. The relation to the total phenols was high especially with polar antioxidant activity after 75 minutes ($r = 0.72$). The highest correlation was observed, as expected, with the polar antioxidant activity after 30 and 75 minutes ($r = 0.92$).

A wide variation of antioxidant activity was observed between measurements within individual crop species, which could be related to different layouts during measurements with the absorbance corvette spectrophotometer. Nevertheless, most of the higher values were in favor of organic crops, which was also proved for total phenols. It was found that $\delta^{13}\text{C}$ values could not be used to distinguish organic from conventional crops. From all the methods used in our study, $\delta^{15}\text{N}$ values proved to be the most appropriate for determining the authenticity of organic food, although the rule of higher $\delta^{15}\text{N}$ values for organic food did not apply for all samples.

It was found that the differences in chemical composition in certain types of crops are higher than the differences between the types of processing. Consequently, in order to determine the authenticity of organic crops a general rule cannot be set.

7 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26.-27. oktobra 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32
- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmacevtski vestnik, 48: 573-589
- Ajila C. M., Brar S. K., Verma M., Tyagi R. D., Godbout S. Valero J. R. 2011. Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends. Critical Reviews in Biotechnology, 31: 227-249
- Aldrich H. T., Salandanan K., Kendall P., Bunning M., Stonaker F., Kulen O. Stushnoff C. 2010. Cultivar choice provides options for local production of organic and conventionally produced tomatoes with higher quality and antioxidant content. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90: 2548-2555
- ANEK-Akcijski načrt razvoja ekološkega kmetijstva v Sloveniji do leta 2015. 2006. Hrustel Majcen M., Jurca S., Vrečko K. (ur.). Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 72 str.
- Arts I. C. W., Hollman P. C. H. 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. American Journal of Clinical Nutrition, 81: 317S-325S
- Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A. Aruoma O. I. 2004. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84: 1553-1561
- Balasundram N., Sundram K., Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 99: 191-203

- Bateman A. S., Kelly S., D. Jickells T. D. 2005. Nitrogen isotope relationships between crops and fertilizer: Implications for using nitrogen isotope analysis as an indicator of agricultural regime. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 5760-5765
- Bateman A. S., Kelly S. D., Woolfe M. 2007. Nitrogen isotope composition of organically and conventionally grown crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 2664-2670
- Bavec F., Slekovec M. 2003. Od njive do mejice in kruha: izbrane teme iz poljedelstva. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo: 212 str.
- Bavec M. 2003. Tehnike pridelovanja zelenjadnic: gnojenje, kolobar in posebnosti pridelovanja nekaterih značilnosti za območje Podravja. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 58 str.
- Bavec M., Naglič M., Bavec F., Repič P., Flisar Novak Z., Poštrak N., Bantan I., Pevec T., Maljevič J., Matis G., Miklavc J., Pšaker P., Darovic A., Štabuc-Starčevič D., Ambrožič I., Zupančič M., Slabe A., Tkalčič E. Orešek E. 2001. Ekološko kmetijstvo. Ljubljana, Kmečki glas: 448 str.
- Bavec M., Robačar M., Repič P., Štabuc-Starčevič D. 2009. Sredstva in smernice za ekološko kmetijstvo. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Inštitut za ekološko kmetijstvo: 149 str.
- Bavec M., Turinek M., Grobelnik-Mlakar S., Slatnar A. Bavec F. 2010. Influence of industrial and alternative farming systems on contents of sugars, organic acids, total phenolic content, and the antioxidant activity of red beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* Rote Kugel). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 11825-11831
- Bavec F., Bavec M. 2007. Organic production and use of alternative crops. Boca Raton, Taylor & Francis: 241 str.

- Benbrook C., Xin Z., Yanez J., Davie N., Andrews P. 2008. New evidence confirms the nutritional superiority of plant-based organic foods. Critical Report. Washington, Organic Center State of Science Review: 21-23
<http://organic-center.org/reportfiles/NutrientContentReport.pdf> (maj 2013)
- Bizjak Bat K., Vidrih R., Nečemer M., Mozetič Vodopivec B., Mulič I., Kump P., Ogrinc N. 2012. Characterization of Slovenian apples with respect to their botanical and geographical origin and agricultural production practise. Food Technology and Biotechnology, 50, 1: 107-116
- Blois M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181: 1199-1200
- Bondet V., Brand Williams W., Berset C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH* free radical method. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 30: 609-615
- Borguini R. G., Bastos D. H. M., Moita-Neto J. M., Capasso F. S., Torres E. 2013. Antioxidant potential of tomatoes cultivated in organic and conventional systems. Brazilian Archives of Biology and Technology, 56: 521-529
- Bourn D., Prescott J. 2002. A comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 42: 1-34
- Boyer R.F. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 634 str.
- Braam J., Sistrunk M. L., Polisensky D. H., Xu W., Purugganan M. M., Antosiewicz D. M., Campbell P. Johnson K. A. 1996. Life in a changing world: TCH gene regulation of expression and responses to environmental signals. Physiologia Plantarum, 98: 909-916
- Brandt K., Molgaard J. P. 2001. Organic agriculture: does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? Journal of the Science of Food and Agriculture, 81: 924-931

- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28: 25-30
- Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary source, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 11: 317-333
- Bronick C. J., Lal R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma*, 124: 3-22
- Camin F., Perini M., Bontempo L., Fabroni S., Faedi W., Magnani S., Baruzzi G., Bonoli M., Tabilio M. R., Musmeci S., Rossmann A., Kelly S. D., Rapisarda P. 2011. Potential isotopic and chemical markers for characterising organic fruits. *Food Chemistry*, 125: 1072-1082
- Cao G. H., Sofic E., Prior R. L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 3426-3431
- Capitani D., Sobolev A. P., Delfini M., Vista S., Antiochia R., Proietti N., Bubici S., Ferrante G., Carradori S., De Salvador F. R. Mannina L. 2014. NMR methodologies in the analysis of blueberries. *Electrophoresis*, 35: 1615-1626
- Carbonaro M., Mattera M., Nicoli S., Bergamo P., Cappelloni M. 2002. Modulation of antioxidant compounds in organic vs conventional fruits (peach, *Prunus persica* L., and pear, *Pyrus communis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5458-5462
- Cardoso P. C., Tomazini A. P. B., Stringheta P. C., Ribeiro S. M. R., Pinheiro-Sant'Ana H. M. 2011. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. *Food Chemistry*, 126: 411-416
- Chandrasekara A., Shahidi F. 2011. Antiproliferative potential and DNA scission inhibitory activity of phenolics from whole millet grains. *Journal of Functional Foods*, 3: 159-170
- Chang J. B., Lusk J. L. 2009. Fairness and food choice. *Food Policy*, 34: 483-491
- Chao W. L., Chao C. C. 1997. Nitrogen transformation in tropical soils: Influence of fertilization and crop species. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 64: 11-17

- Choi W.-J., Ro H.-M., Hobbie E. A. 2003. Patterns of natural ^{15}N in soils and plants from chemically and organically fertilized uplands. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: 1493-1500
- Cigić B., Rudan Tasič D. 2006. Antioksidanti in prooksidanti. V. Karcinogene in antikarcinogene komponente v živilih. 24 Bitenčevi dnevi, Portorož, 9. in 10. november 2006. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 103-115
- Citak S., Sonmez S. 2009. Mineral contents of organically and conventionally grown spinach (*Spinacea oleracea* L.) during two successive seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 7892-7898
- Coley P.D., Bryant J.P., Chapin F.S. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, 230: 895-899
- Coplen T.B. 1996. New guidelines for reporting stable hydrogen, carbon and oxygen isotope-ratio data. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60: 3359-3360
- Craig H. 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 12: 133-149
- Crinnion W. J. 2010. Organic foods contain higher levels of certain nutrients, lower levels of pesticides, and may provide health benefits for the consumer. *Alternative Medicine Review*, 15: 4-12.
- Dangour A. D., Dodhia S. K., Hayter A., Allen E., Lock K. Uauy R. 2009. Nutritional quality of organic foods: a systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90: 680-685
- de Souza Araújo D. F., da Silva A. M. R. B., de Andrade Lima L. L., da Silva Vasconcelos M. A., Andrade S. A. C. Asfora Sarubbo L. 2014. The concentration of minerals and physicochemical contaminants in conventional and organic vegetables. *Food Control*, 44: 242-248

- Davidson P.M. 1993. Parabens and phenolic compounds. V: Antimicrobials in food. Davidson P.M., Branen A.L. (eds.). 2nd ed. New York, M. Dekker: 263-306
- Dermastia M. 2007. Pogled v rastline. Ljubljana, Nacionalni inštitut za biologijo: 130 str.
- Dincer C., Tontul I., Cam I. B., Ozdemir K. S., Topuz A., Nadeem H. S., Tugrulay S. Gokturk R. S. 2013. Phenolic composition and antioxidant activity of *Salvia tomentosa* Miller: effects of cultivation, harvesting year, and storage. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37: 561-567
- Dunn S. 2007. Gas source mass spectrometry: Stable isotope geochemistry. Northfield, The Science Education Resource Center: 5 str.
http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/gassourcemasssp ec.html (september 2013)
- Ehleringer J.R., Epstein S. 2001. C₃ and C₄ photosynthesis. V: Encyclopedia of global environmental change. Mooney H.A., Canadell J. (eds.). New York, Wiley: 186-190
- Engel M.H., Macko S.A. 1993. Organic geochemistry: principles and applications. New York, Plenum Press: 861 str.
- Faganeli J. 1999. Osnove geomikrobiologije in mikrobne biogeokemije. Študijsko gradivo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 55 str.
- Falkowski P.G. 2005. Biogeochemistry of primary production in the sea. V: Biogeochemistry: treatise on geochemistry. Vol. 8. Schlesinger W.H., Holland H.D., Turekian K.K. (eds.). Oxford, Elsevier, Pergamon Oxford: 185-213
- Faller A. L. K., Fialho E. 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. Food Research International, 42: 210-215
- Faller A. L. K., Fialho E. 2010. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. Journal of Food Composition and Analysis, 23: 561-568

- FAOSTAT. 2014. FAOSTAT Domains: Production. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations: baza podatkov
http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/*/E (marec 2014)
- Flores P., Fenoll J., Hellin P. 2007. The feasibility of using delta N-15 and delta C-13 values for discriminating between conventionally and organically fertilized pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 5740-5745
- Fogg G. E., Rolston D. E., Decker D. L., Louie D. T., Grismer M. E. 1998. Spatial variation in nitrogen isotope values beneath nitrate contamination sources. *Ground Water*, 36: 418-426
- Francis A. C., Butler Flora C., King D. L. 1990. Sustainable agriculture in temperate zones. New York, Wiley-Interscience Publication: 483 str.
- Galloway J.N., Schlesinger W.H., II, H.L., Michaels A., Schnoor J.L. 1995. Nitrogen fixation: Antropogenic enhancement-environmental response. *Global Biochemical Cycles*, 9: 235–252
- Gastol M., Domagala-Swiatkiewicz I. 2012. Comparative study on mineral content of organic and conventional apple, pear and black currant juices. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 11: 3-14
- Georgi M., Voerkelius S., Rossmann A., Grassmann J., Schnitzler W. H. 2005. Multielement isotope ratios of vegetables from integrated and organic production. *Plant and Soil*, 275: 93-100
- Ghidini S., Ianieri A., Zanardi E., Conter M., Boschetti T., Iacumin P., Bracchi P.G. 2006. Stable isotopes determination in food authentication: A review. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma*, 26: 193-204
- Gomez-Caravaca A. M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1220-1234

- Gravel V., Blok W., Hallmann E., Carmona-Torres C., Wang H. Y., Van de Peppel A., Golec A. F. C., Dorais M., Van Meeterens U., Heuvelink E., Rembialkowska E., Van Bruggen A. H. C. 2010. Differences in N uptake and fruit quality between organically and conventionally grown greenhouse tomatoes. *Agronomy for Sustainable Development*, 30: 797-806
- Grešak N. 2008. Kako prepoznati ekološko pridelana živila? Elektronski medij: E-revir. Kisovec, Multina d.o.o.: 5 str.
<http://www.erevir.si/Moduli/Clanki> (april 2009)
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 58: 966-968
- Hakkinen S. H., Torronen A. R. 2000. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International*, 33: 517-524
- Halvorsen B. L., Holte K., Myhrstad M. C. W., Barikmo I., Hvattum E., Remberg S. F., Wold A. B., Haffner K., Baugerod H., Andersen L. F., Moskaug J. O., Jacobs D. R., Blomhoff R. 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, 132: 461-471
- He F. J., Nowson C. A., Lucas M., MacGregor G. A. 2007. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *Journal of Human Hypertension*, 21: 717-728
- Hebert C. E., Wassenaar L. I. 2001. Stable nitrogen isotopes in waterfowl feathers reflect agricultural land use in western Canada. *Environmental Science & Technology*, 35: 3482-3487
- Hermes D.A., Mattson W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology*, 67: 283-335

- Hogberg P., Johannisson C., Hogberg M., Hogbom L., Nasholm T. Hallgren J. E. 1995. Measurements of abundances of N-15 and C-13 as tools in retrospective studies of n balances and water-stress in forests - a discussion of preliminary-results. *Plant and Soil*, 168: 125-133
- Hribar J., Simčič M. 2000. Antioksidanti v sadju in vrtninah. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 151-158
- Huang C. L. 1996. Consumer preferences and attitudes towards organically grown produce. *European Review of Agricultural Economics*, 23: 331-342
- Humphrey G., Whitlock R., Churchhill D. 2014. X-fay fluorescence spectroscopy -The next generation of wear debris analysis. *Tulsa, Machinery Lubrication*, Noria Publication: 4 str.
<http://www.machinerylubrication.com/Read/86/x-ray-fluorescence-spectroscopy> (maj 2014)
- Ismail A., Fun C. S. 2003. Determination of vitamin C, β -carotene and riboflavin contents in five green vegetables organically and conventionally grown. *Malaysian Journal of Nutrition*, 9,1: 31-39
- Ismail A., Marjan Z. M., Foong C. W. 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry*, 87: 581-586
- Karadeniz F., Burdurlu H. S., Koca N., Soyer Y. 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29: 297-303
- Kelly S.D. 2003. Using stable isotope ratio mass spectroscopy (IRMS) in food authentication and traceability. V: *Food authenticity and traceability*. Lees M. (ed.). Cambridge, Woodhead Publishing Limited: 156-183

- Kendall C. 1998. Tracing nitrogen sources and cycling in catchments. V: Isotope tracers in catchment hydrology. Kendall C., McDonnell J. J. (eds.). Amsterdam, Elsevier: 519-576
- King A. M. Y., Young G. 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. Journal of the American Dietetic Association, 99: 213-218
- Kocjan Ačko D. 2000. Alternativne oblike kmetovanja. V: Novi izzivi v poljedelstvu. Moravske Toplice, 14. in 15. december 2000. Tajnšek A., Šantavec I. (ur.). Ljubljana, Slovensko agronomsko društvo: 244-251
- Koksal E., Gulcin I. 2008. Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32: 65-78
- Koleva, II, van Beek T. A., Linssen J. P. H., de Groot A., Evstatieva L. N. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochemical Analysis, 13: 8-17
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21
- Košir I.J., Kocjančič M., Ogrinc N., Kidrič J. 2001. Use of SNIF-NMR and IRMS in combination with chemometric methods for determination of chaptalisation and geographical origin of wines (The example of Slovenian wines). Analytica Chimica Acta, 429, 2: 195-206
- Košmerl T., Kač M. 2007. Osnovne kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 97-101

- Kovač B., Raspor P. 2000. Določanje antioksidativne učinkovitosti biomase filamentoznih gliv. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26-27. okt. 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 93-100
- Kristl J., Krajnc A. U., Kramberger B., Mlakar S. G. 2013. Strawberries from integrated and organic production: Mineral contents and antioxidant activity. *Acta Chimica Slovenica*, 60: 19-25
- Kump P. 2005. Rentgenska fluorescenca. *Kemija v šoli*, 17: 9-16
- Lairon D. 2010. Nutritional quality and safety of organic food. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30: 33-41
- Lamperi L., Chiuminatto U., Cincinelli A., Galvan P., Giordani E., Lepri L., Del Bubba M. 2008. Polyphenol levels and free radical scavenging activities of four apple cultivars from integrated and organic farming in different Italian areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 6536-6546
- Lawrence E. 2005. Henderson's dictionary of biology. 13th ed. Harlow, Pearson Education Limited: 338-338
- Lazarini F., Brenčič J. 1992. Splošna in anorganska kemija. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 55-55
- Lee C.Y. 1992. Phenolic compounds. V: *Encyclopedia of food science and technology*. Vol. 3. Hui Y.H. (ed.) New York, A Wiley-Interscience Publication: 2055- 2060
- Litescu S. C., Eremia S., Radu G. L. 2010. Methods for the determination of antioxidant capacity in food and raw materials. V: *Bio-farms for nutraceuticals: functional food and safety control by biosensors*. Giardi M. T., Rea G., Berra B. (eds.) New York, Springer, 241-249

- Llorach R., Espin J. C., Tomas-Barberan F. A., Ferreres F. 2003. Valorization of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) by-products as a source of antioxidant phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2181-2187
- Lobnik F. 2001. Pedologija. Predavanja za študente univerzitetnega študija gozdarstva. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 56 str.
- Locatelli M., Gindro R., Travaglia F., Coisson J.-D., Rinaldi M., Arlorio M. 2009. Study of the DPPH-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. *Food Chemistry*, 114: 889-897
- Lombardi-Boccia G., Lucarini M., Lanzi S., Aguzzi A., Cappelloni M. 2004. Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic productions: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 90-94
- Løes A.K. 2003. Organic farming systems, and of plant adaptations to low P and K availability. PhD Thesis. Ås, Department of Soil and Water Sciences, Agricultural University of Norway: 18 str.
http://orgprints.org/7424/1/PhD_thesis_AnneKristin_Loes_2003.pdf (april 2014)
- Lopez A., Fenoll J., Hellin P. Flores P. 2014. Cultivation approach for comparing the nutritional quality of two pepper cultivars grown under different agricultural regimes. *Lwt-Food Science and Technology*, 58: 299-305
- Luthria D., Singh A. P., Wilson T., Vorsa N., Banuelos G. S., Vinyard B. T. 2010. Influence of conventional and organic agricultural practices on the phenolic content in eggplant pulp: Plant-to-plant variation. *Food Chemistry*, 121: 406-411
- Manson J. 1990. The chemistry of chaptalization. *Endeavour*, 14, 3: 137-143
- Mihailova A., Pedentchouk N., Kelly S. D. 2014. Stable isotope analysis of plant-derived nitrate – Novel method for discrimination between organically and conventionally grown vegetables. *Food Chemistry*, 154: 238-245

- Mikulic-Petkovsek M., Slatnar A., Stampar F., Veberic R. 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 2366-2378
- Miquel E., Alegria A., Barbera R., Farre R., Clemente G. 2004. Stability of tocopherols in adapted milk-based infant formulas during storage. *International Dairy Journal*, 14: 1003-1011
- Mitchell A. E., Hong Y. J., Koh E., Barrett D. M., Bryant D. E., Denison R. F., Kaffka S. 2007. Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 6154-6159
- MKO. 2014a. Analiza stanja ekološkega kmetijstva. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje: 1str.
http://www.mko.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/ekolosko_kmetovanje/analiza_stanja_ekoloskega_kmetovanja/ (april 2014)
- MKO. 2014b. Tehnološka navodila za integrirano pridelavo zelenjave. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje: 126 str.
http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/podrocja/Kmetijstvo/Integrirana_pridelava/TN_zelenjava_2014.pdf (april 2014)
- MKO. 2014c. Tehnološka navodila za integrirano pridelavo sadja. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje: 63 str.
http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/podrocja/Kmetijstvo/Integrirana_pridelava/TN_sadje_2014.pdf (april 2014)
- Molk T. 2011. Karakterizacija plodov paprike s stabilnimi izotopi ogljika in dušika. Diplomsko delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Oddelek za živilstvo: 60 str.

- NACD. 2014. The conservation delivery system at work – developing cutting edge research in soil carbon storage. Washington, National Association of Conservation Districts: 4 str.
http://209.239.35.63/resources/reports/carbon_storage.phtml (april 2014)
- Nečemer M. 1995. Optimizacija rentgenske fluorescenčne spektrometrije s totalnim odbojem za analizo sledov elementov. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 4 -4
- Nečemer M., Kump P., Ščančar J., Jačimović R., Simčič J., Pelicon P., Budnar M., Jeran Z., Pongrac P., Regvar M., Vogel-Mikuš K. 2008. Application of X-ray fluorescence analytical techniques in phytoremediation and plant biology studies. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 63, 11: 1240-1247
- Nguyen P. M., Kwee E. M., Niemeyer E. D. 2010. Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*, 123: 1235-1241
- Niggli U., Slabe A., Schmid O. 2008 Vision for an organic food and farming research Agenda to 2025. Bruxelles, IFOAM EU Group: 44 str.
- Okogeri O., Tasioula-Margari M. 2002. Changes occurring in phenolic compounds and alpha-tocopherol of virgin olive oil during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1077-1080
- Oliveira A. B., Moura C. F. H., Gomes-Filho E., Marco C. A., Urban L., Miranda M. R. A. 2013. The impact of organic farming on quality of tomatoes is associated to increased oxidative stress during fruit development. *Plos One*, 8, 2: e56354, doi: 10.1371/journal.pone.0056354: 6 str.
- Osborn-Barnes H. T., Akoh C. C. 2003. Copper-catalyzed oxidation of a structured lipid-based emulsion containing alpha-tocopherol and citric acid: Influence of pH and NaCl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6851-6855

- Outlon M. 2014. Concept diagrams: Figure explainine, Arts and Social Sciences.
Hamilton, The University of Waikato: 1 str.
<http://www.waikato.ac.nz/fass/about/staff/maximus/concept-diagrams> (marec 2014)
- Owens N.J.P. 1987. Natural variations in ^{15}N in the marine environment. *Advances in Marine Biology*, 24: 389–345
- Označevanje ekoživil. 2006. Ljubljana, Inštitut za trajnostni razvoj: 1 str.
http://www.itr.si/eko-portal/ekokmetijstvo_je/mapa/oznacevanje (april 2013)
- Pacini C., Wossink A., Giesen G., Vazzana C., Huirne R. 2003. Evaluation of sustainability of organic, integrated and conventional farming systems: a farm and field-scale analysis. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 95: 273-288
- Padel S. 2001. Conversion to organic farming: a typical example of the diffusion of an innovation? *Sociologia Ruralis*, 40, 1: 40-61
- Pennington J., Fisher R. 2009. Clasification of fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22: 23-31
- Perez-Lopez A. J., Lopez-Nicolas J. M., Nunez-Delicado E., Del Amor F. M., Carbonell-Barrachina A. A. 2007. Effects of agricultural practices on color, carotenoids composition, and minerals contents of sweet peppers, cv. Almuden. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 8158-8164
- Pezdič J. 1999. Izotopi in geokemijski procesi: univerzitetni učbenik. Ljubljana, Naravoslovnotehniška fakulteta, Oddelek za geologijo: 269 str.
- Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil. 2006. Uradni list Republike Slovenije, 16, 128: 14071-14076
- Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil. 2010. Uradni list Republike Slovenije, 20, 71: 10463-10489

- Pryor W.A. 1994. Free radicals and lipid peroxidation: what they are and how they got that way. V: Natural antioxidants in human health and disease. Frei. B. (ed.). San Diego, Academic Press : 1-24
- Rapisarda P., Calabretta M. L., Romano G., Intrigliolo F. 2005. Nitrogen metabolism components as a tool to discriminate between organic and conventional citrus fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2664-2669
- Referenčne vrednosti za vnos hranil. 2004. 1. izdaja. Ljubljana, Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 215 str.
- Rembialkowska E. 2007. Quality of plant products from organic agriculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 2757-2762
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20: 933-956
- Robards K., Prenzler P. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436
- Rogers K. M. 2008. Nitrogen isotopes as a screening tool to determine the growing regimen of some organic and nonorganic supermarket produce from New Zealand. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 4078-4083
- Roginsky V., Lissi E. A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92: 235-254
- Roussos P. A., Gasparatos D. 2009. Apple tree growth and overall fruit quality under organic and conventional orchard management. *Scientia Horticulturae*, 123: 247-252
- Roy S. K., Chakrabarti A. K. 2003. Vegetables of temperate climates: Commercial and dietary importance. V: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Vol. 9. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 5925-5932

- Saba A., Messina F. 2003. Attitudes towards organic foods and risk/benefit perception associated with pesticides. *Food Quality and Preference*, 14: 637-645
- Sandoval M., Okuhama N. N., Angeles F. M., Melchor V. V., Condezo L. A., Lao J., Miller M. J. S. 2002. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chemistry*, 79: 207-213
- Schmitz-Eiberger M., Haefs R. Noga G. 2002. Calcium deficiency - Influence on the antioxidative defense system in tomato plants. *Journal of Plant Physiology*, 159: 733-742
- Schröter W., Lauternschläger K. H., Bibrack H., Schnabel A. 1993. *Kemija – splošni priročnik*. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 712 str.
- Schuphan W. 1975. Yield maximization versus biological value - problems in plant breeding and standardization. *Qualitas Plantarum-Plant Foods for Human Nutrition*, 24: 281-310
- Shahin S. A., Naresh K., Abhinav L., Angad S., Hallihosur S., Abhishek S., Utpal B. 2007. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41: 1-15
- Shyu Y. S., Hwang L. S. 2002. Antioxidative activity of the crude extract of lignan glycosides from unroasted Burma black sesame meal. *Food Research International*, 35: 357-365
- Singleton V. L., Rossi J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic - phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Viticulture*, 42: 144-153
- Stratil P., Klejdus B., Kuban V. 2006. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables - Evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 607-616
- SURS. 2013. Bilance proizvodnje in potrošnje kmetijskih proizvodov, Slovenija, 2012 – končni podatki. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije: 2 str.

http://www.stat.si/novica_prikazi.aspx?id=6071 (september 2013)

SURS. 2014. Pridelki in površina. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije, baza podatkov

http://pxweb.stat.si/pxweb/Database/Okolje/15_kmetijstvo_ribistvo/04_rastlinska_pridelava/01_15024_pridelki_povrsina/01_15024_pridelki_povrsina.asp (marec 2014)

Surveswaran S., Cai Y.-Z., Corke H., Sun M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102: 938-953

Tate W.B. 1994. The development of the organic industry and market: an international perspective. V: *The economics of organic farming: an international perspective* Lampkin N.H., Padel S. (eds.). Wallingford, CAB international: 11-25

Toor R. K., Savage G. P., Heeb A. 2006. Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 20-27

Torjusen H., Lieblein G., Wandel M., Francis C. A. 2001. Food system orientation and quality perception among consumers and producers of organic food in Hedmark County, Norway. *Food Quality and Preference*, 12: 207-216

Treutter D. 2010. Managing phenol contents in crop plants by phytochemical farming and breeding-visions and constraints. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 807-857

Tyler G. 2004a. Ionic charge, radius, and potential control root/soil concentration ratios of fifty cationic elements in the organic horizon of a beech (*Fagus sylvatica*) forest podzol. *Science of the Total Environment*, 329: 231-239

Tyler G. 2004b. Vertical distribution of major, minor, and rare elements in a Haplic Podzol. *Geoderma*, 119: 277-290

- Uredba sveta (ES) št. 834/2007 z dne 28. junija 2007 o ekološki pridelavi in označevanju ekoloških proizvodov in razveljavitvi Uredbe (EGS) št. 2092/91. 2007. Uradni list Evropske unije, 50, L189: 1-23
- Uredba sveta (ES) št. 2092/91 z dne 24. junija 1991 o ekološki pridelavi kmetijskih proizvodov in označevanju tovrstno pridelanih kmetijskih proizvodov in živil. 1991. UL L, 34, L198: 1-15
- Valavanidis A., Vlachogianni T., Psomas A., Zovoili A., Siatis V. 2009. Polyphenolic profile and antioxidant activity of five apple cultivars grown under organic and conventional agricultural practices. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 1167-1175
- Vidrih M. 2006. Vezava ogljika v pašeni ruši visokega krasa. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 102 str.
- Vidrih R., Kač M. 2000. Analitika antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Potrerož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 101-114
- Virginia R.A., Delwiche C.C. 1982. Natural ^{15}N abundance of presumed N_2 -fixing and non- N_2 -fixing plants from selected ecosystems. *Oecologia*, 54: 317-325
- Vitoria L., Otero N., Soler A., Canals A. 2004. Fertilizer characterization: Isotopic data (N, S, O, C, and Sr). *Environmental Science & Technology*, 38: 3254-3262
- Vodnik po ekoloških kmetijah. 2003-2010. Maribor, Inštitut za kontrolo in certifikacijo v kmetijstvu in gozdarstvu: 1 str.
<http://www.eko-kmetije.info/> (april 2013)
- Vogl C.,R., Kilcher L., Schmidt H. 2005. Are standards and regulations of organic farming moving away from small farmers? *Journal of Sustainable Agriculture*, 26,1: 25-26.

- Vrček I. V., Bojić M., Žuntar I., Mendaš G., Medić-Šarić M. 2011. Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chemistry*, 124: 354-361
- Wang S. Y., Chi-Tsun C., Sciarappa W., Wang C. Y., Camp M. J. 2008. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56,14: 5788-5794
- Williams C. M. 2002. Nutritional quality of organic food: shades of grey or shades of green? *Proceedings of the Nutrition Society*, 61: 19-24
- Woese K., Lange D., Boess C., Bogl K. W. 1997. A comparison of organically and conventionally grown foods - Results of a review of the relevant literature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74: 281-293
- Worthington V. 2001. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables, and grains. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 7: 161-173
- Wszelaki A. L., Delwiche J. F., Walker S. D., Liggett R. E., Scheerens J. C., Kleinhenz M. D. 2005. Sensory quality and mineral and glycoalkaloid concentrations in organically and conventionally grown redskin potatoes (*Solanum tuberosum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 720-726
- Yussefi M. 2006 The world of organic agriculture. Bonn. Statistics and Emerging Trends. BioFach: 11 str.
http://orgprints.org/2997/2/yussefi_2006_world-of-organic.pdf (junij 2013)
- Zagorc B., Ugrinovič K. 2002. Vegetable production of Slovenia in an expanding European Union. V: Vegetable and fruit production in an expanding European Union implications for policy and research. Workshop organised by Applied Plant Research. Prague, Januar 4-6. Wageningen, Applied Plant Research: 63 - 63
- Zagorc B., Moljk B., Pintar M. 2013. Poročilo o stanju kmetijstva, živilstva, gozdarszva in ribištva v letu 2013. Pregled po kmetijskih trgih. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Kmetijski inštitut Slovenije: 143 str.

Zhao X., Carey E. E., Wang W. Q. Rajashekar C. B. 2006. Does organic production enhance phytochemical content of fruit and vegetables? Current knowledge and prospects for research. Horttechnology, 16: 449-456

Zupan M., Grčman H., Prus T., Hodnik A., Vrščaj B. 2002. Praktikum iz pedologije. Delovni zvezek. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 115 str.

ZAHVALA

Najprej gre zahvala mentorju prof. dr. Rajku Vidrihu. Dajal mi je strokovno pomoč in spodbudne besede, ki so v kočljivih situacijah prišle zelo prav. Vedno je bil na razpolago in pri vsaki oviri na tej poti sva skupaj našla rešitev, jo preskočila ter prišla do cilja.

Hvala tudi somentorici prof. dr. Nives Ogrinc za pomoč pri opravljanju analiz na izotopih ogljika in dušika. Hvala za vsa nova znanja, ki mi jih je posredovala.

Iskrena zahvala vsem članicam komisije. Delo so hitro in strokovno pregledale in njihovi popravki so delo še izboljšali.

Prav tako hvala dr. Marijanu Nečemru iz Instituta Jožef Stefan, ki mi je omogočil uporabo prostorov in aparatur za opravljanje analiz mineralov. Velika hvala tudi asistentki Andreji, ki mi je bila v tehnično pomoč.

Posebna zahvala gre tudi Lini Burkan Makivić za nesebično žrtvovanje svojega časa in potrpežljivost pri tehničnem pregledu doktorskega dela.

Hvala prof. dr. Marjanu Simčiču. On je tisti, ki me je spodbudil za prve korake v svet živilstva in mi na poti naklonil nemalo spodbud in pomoči.

Hvala bivšim sodelavcem iz KISa za pomoč pri zbiranju podatkov in vzorcev.

Hvala vama Eva in Nina, za pomoč pri boju z angleškimi besedami in tebi Lenart, da si vedno našel čas in strokovno pregledal moje delo. Hvala tudi Ivi, s katero sva se skupaj prebijali skozi nemalo tehničnih in strokovnih težav povezanih z doktoratom. Hvala Simoni, ki je pridno zbirala članke tudi zame in se spopadala z vejicami in pikami.

Hvala vam, moji prijatelji, ki ste vedno našli spodbudne besede in me bodrili, da nisem na poti obupala. V takih trenutkih se spozna prave prijatelje.

Iskrena hvala mojim staršem. Za moralno in finančno podpore. Hvala očetu, ki mi predstavlja steber modrosti, in mami, ki mi z zgledom vztrajnosti kaže pot. Ker sta mi v življenju posvetila veliko, posvečam to nalogo prav njima. Naj predstavlja zahvalo za vse, kar sta storila zame.

In nenazadnje, hvala tebi, dragi moj Klemen. Tvoja strokovna pomoč, rama, na katero sem se vedno lahko naslonila in neskončna mera razumevanja, so na poti do cilja največ odtehtale. Če imaš ob sebi takega človeka, potem je, dokazano, mogoče prav vse.

PRILOGA A: Vrednosti antioksidativne učinkovitosti frakcije v etil acetatu topnih antioksidantov po vrstah pridelkov in načinu pridelave, izmerjene po 30 in 90 minutah

ANNEX A: Values of antioxidant activity of fraction in ethyl acetate-soluble antioxidants by type of crop and farming system, measured after 30 and 90 minutes

Pridelava / Skupina pridelkov		AOPea30 (mmol/100 g SV)			AOPea90 (mmol/100 g SV)		
		Ponovitev			Ponovitev		
		1	2	3	1	2	3
Ekološka	Bazilika	0,30	0,34	0,34	0,40	0,38	0,30
	Brokoli	0,16	0,15	0,12	0,13	0,13	0,12
	Češnja	0,26	0,30	0,31	0,34	0,39	0,43
	Hruška	0,17	0,11	/	0,39	0,25	0,22
	Jabolko	0,31	0,33	0,35	0,46	0,39	0,39
	Korenje	0,19	0,14	0,11	0,38	0,40	0,42
	Kumara	0,11	0,10	0,09	0,12	0,06	0,07
	Melancan	0,21	0,17	0,19	0,28	0,23	0,22
	Malina	0,27	0,30	0,31	0,45	0,39	0,44
	Paprika	0,15	0,12	0,05	0,25	0,23	0,23
	Paradižnik	0,10	0,09	0,05	0,17	0,18	0,21
	Peteršilj	0,12	0,11	0,10	0,09	0,11	0,08
	Rukola	0,12	0,13	0,13	0,16	0,15	0,11
	Zelena	0,25	0,25	0,16	0,28	0,30	0,26
	Češnjev paradižnik	0,13	0,12	0,14	0,10	0,07	0,08
	Rdeča pesa	0,05	0,10	0,04	0,16	0,19	0,21
	Skupaj	0,18	0,18	0,17	0,26	0,24	0,24

se nadaljuje ...

nadaljevanje priloge A:

Pridelava / Skupina pridelkov		AOPea30 (mmol/100 g SV)			AOPea90 (mmol/100 g SV)		
		Ponovitev			Ponovitev		
		1	2	3	1	2	3
Konvencionalna	Bazilika	0,35	0,37	0,36	0,48	0,49	0,48
	Brokoli	0,10	0,10	0,08	0,08	0,09	0,08
	Češnja	0,18	0,21	0,22	0,26	0,25	0,25
	Hruška	0,17	0,13	0,10	0,30	0,34	0,27
	Jabolko	0,28	0,30	0,32	0,48	0,46	0,47
	Korenje	0,13	0,12	0,09	0,26	0,27	0,29
	Kumara	0,08	0,02	0,04	0,05	0,06	0,04
	Melancan	0,24	0,23	0,23	0,33	0,30	0,33
	Malina	0,30	0,25	0,24	0,31	0,33	0,26
	Paprika	0,16	/	0,12	0,24	0,38	0,27
	Paradižnik	0,09	0,10	0,07	0,18	0,22	0,25
	Peteršilj	0,11	0,12	0,06	0,06	0,07	0,03
	Rukola	0,08	0,07	0,04	0,09	0,10	0,06
	Zelena	0,24	0,25	0,14	0,28	0,32	0,22
	Češnjev paradižnik	0,11	0,11	0,15	0,10	0,13	0,09
	Rdeča pesa	0,08	0,06	0,06	0,17	0,16	0,15
	Skupaj	0,17	0,16	0,14	0,23	0,25	0,22
Skupaj		0,17	0,17	0,15	0,24	0,24	0,23

PRILOGA B: Vrednosti polarne antioksidativne učinkovitosti po vrstah pridelkov in načinu pridelave, izmerjene po 30 in 75 minutah

ANNEX B: Values of polar antioxidant activity by type of crop and farming system, measured after 30 and 75 minutes

Pridelava / Skupina pridelkov		AOPmet30 (mmol/100 g SV)			AOPmet75 (mmol/100 g SV)		
		Ponovitev			Ponovitev		
		1	2	3	1	2	3
Ekološka	Bazilika	0,93	0,93	0,92	1,32	1,31	1,33
	Brokoli	0,83	0,84	0,92	0,99	1,00	1,10
	Česnja	0,46	0,43	0,44	0,64	0,60	0,60
	Hruška	0,23	0,23	0,22	0,35	0,34	0,33
	Jabolko	0,34	0,36	0,35	0,46	0,47	0,47
	Korenje	0,18	0,18	0,18	0,20	0,21	0,20
	Kumara	0,13	0,12	0,13	0,16	0,15	0,16
	Melancan	0,78	0,81	0,81	1,03	1,04	1,04
	Malina	0,81	0,81	0,79	1,16	1,16	1,17
	Paprika	0,40	0,36	0,37	0,56	0,42	0,54
	Paradižnik	0,32	0,35	0,34	0,41	0,43	0,41
	Petersilj	0,53	0,60	0,62	0,69	0,70	0,75
	Rukola	0,67	0,76	0,76	0,81	0,91	0,90
	Zelena	1,08	1,13	1,08	1,33	1,36	1,32
	Česnjev paradižnik	0,31	0,31	0,32	0,41	0,41	0,41
	Rdeča pesa	1,04	1,17	0,26	1,56	2,27	0,65
	Skupaj	0,56	0,59	0,53	0,75	0,80	0,71

se nadaljuje ...

nadaljevanje priloge B:

Pridelava / Skupina pridelkov		AOPmet30 (mmol/100 g SV)			AOPmet75 (mmol/100 g SV)		
		Ponovitev			Ponovitev		
		1	2	3	1	2	3
Konvencionalna	Bazilika	1,72	1,60	1,73	2,42	2,33	2,38
	Brokoli	0,71	0,75	0,75	0,85	0,87	0,87
	Češnja	0,45	0,45	0,45	0,59	0,60	0,60
	Hruška	0,21	0,25	0,23	0,32	0,33	0,31
	Jabolko	0,51	0,47	0,55	0,75	0,70	0,78
	Korenje	0,16	0,16	0,14	0,21	0,22	0,17
	Kumara	0,08	0,07	0,07	0,11	0,10	0,09
	Melancan	0,55	0,56	0,55	0,73	0,73	0,72
	Malina	0,66	0,68	0,69	0,89	0,90	0,91
	Paprika	0,32	0,35	0,35	0,47	0,52	0,51
	Paradižnik	0,16	0,16	0,18	0,20	0,20	0,23
	Peteršilj	0,43	0,46	0,45	0,50	0,54	0,52
	Rukola	0,49	0,51	0,50	0,60	0,63	0,61
	Zelena	0,72	0,73	0,77	0,92	0,93	1,00
	Češnjev paradižnik	0,38	0,43	0,45	0,54	0,56	0,56
	Rdeča pesa	0,10	0,94	2,70	0,62	2,37	2,11
	Skupaj	0,48	0,54	0,66	0,67	0,78	0,77
Skupaj		0,52	0,56	0,60	0,71	0,79	0,74

PRILOGA C: Meritve skupnih fenolnih snovi po vrstah pridelkov in načinu pridelave

ANNEX C: Measurements of total phenols by type of crop and farming system

Pridelava / Skupina pridelkov		Vsebnost skupnih fenolov (mg/100 g SV)		
		Ponovitev		
		1	2	3
Ekološka	Bazilika	14,82	14,84	14,77
	Brokoli	5,07	5,07	5,10
	Češnja	6,52	6,46	6,49
	Hruška	5,27	3,86	4,08
	Jabolko	7,95	7,62	7,53
	Korenje	2,15	2,37	2,30
	Kumara	1,51	1,49	1,64
	Melancan	7,15	7,34	7,33
	Malina	5,90	5,67	5,93
	Paprika	9,68	10,19	9,65
	Paradižnik	7,08	7,30	7,00
	Peteršilj	6,51	6,83	6,75
	Rukola	4,02	4,07	3,94
	Zelena	12,46	12,98	12,46
	Češnjev paradižnik	2,48	2,73	2,69
	Rdeča pesa	23,64	23,79	23,82
	Skupaj	7,64	7,66	7,59

se nadaljuje ...

nadaljevanje priloge C:

Pridelava / Skupina pridelkov		Vsebnost skupnih fenolov (mg/100 g SV)		
		Ponovitev		
		1	2	3
Konvencionalna	Bazilika	15,65	16,11	15,75
	Brokoli	6,58	6,48	6,89
	Češnja	5,55	5,61	5,61
	Hruška	4,19	4,09	3,93
	Jabolko	4,80	5,00	4,96
	Korenje	1,69	1,97	2,03
	Kumara	0,84	0,85	0,86
	Melancan	7,40	7,73	7,66
	Malina	6,57	6,57	6,45
	Paprika	6,42	6,66	6,54
	Paradižnik	3,97	3,97	3,44
	Peteršilj	4,03	3,99	3,55
	Rukola	3,79	3,82	3,76
	Zelena	15,88	16,87	16,66
	Češnjev paradižnik	2,31	2,44	2,54
	Rdeča pesa	10,74	15,24	10,89
	Skupaj	6,28	6,71	6,35
Skupaj		6,96	7,19	6,97

PRILOGA D: Meritve izotopov ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) in dušika ($\delta^{15}\text{N}$) po vrstah pridelkov in načinu pridelave
 ANNEX D: Measurements of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotopes by type of crop and farming system

Pridelava / Skupina pridelkov		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Ekološka	Bazilika	-28,70	5,68
	Brokoli	-28,41	1,37
	Češnja	-27,00	4,56
	Hruška	-25,65	15,76
	Jabolko	-25,41	2,98
	Korenje	-25,32	5,15
	Kumara	-25,74	4,89
	Melancan	-25,25	6,67
	Malina	-27,47	1,28
	Paprika	-27,52	0,93
	Paradižnik	-26,54	9,40
	Peteršilj	-29,32	3,69
	Rukola	-31,51	5,82
	Zelena	-29,39	2,52
	Češnjev paradižnik	-26,60	5,45
	Rdeča pesa	-27,00	7,65
	Skupaj	-27,30	5,24

se nadaljuje ...

nadaljevanje priloge D:

Pridelava / Skupina pridelkov		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Konvencionalna	Bazilika	-28,77	1,31
	Brokoli	-27,12	-1,03
	Češnja	-30,62	2,56
	Hruška	-27,84	8,49
	Jabolko	-25,75	5,36
	Korenje	-27,35	7,04
	Kumara	-25,70	5,14
	Melancan	-26,79	5,78
	Malina	-25,54	3,96
	Paprika	-29,50	5,87
	Paradižnik	-27,07	8,06
	Peteršilj	-28,11	-0,66
	Rukola	-30,63	2,91
	Zelena	-28,49	-0,44
	Češnjev paradižnik	-25,34	-0,01
	Rdeča pesa	-29,37	1,68
	Skupaj	-27,75	3,50
Skupaj		-27,53	4,37

PRILOGA E: Vsebnosti elementov po vrstah pridelkov in načinu pridelave

ANNEX E: Element content by type of crop and farming system

Pridelava / Skupina pridelkov		Vsebnost fosforja (mg/kg)	Vsebnost žvepla (mg/kg)	Vsebnost kalcija (mg/kg)	Vsebnost klora (mg/kg)	Vsebnost kalija (mg/kg)
Ekološka	Bazilika	1300	2190	37500	1960	42300
	Brokoli	6170	10200	8770	2620	31600
	Češnja	530	200	500	119	7630
	Hruška	939	/	987	/	6310
	Jabolko	355	181	449	70	5310
	Korenje	2260	815	3130	515	14600
	Kumara	2520	1540	2500	2810	31900
	Melancan	573	1110	682	4430	32800
	Malina	1240	423	1210	470	13800
	Paprika	2070	1850	1570	508	15600
	Paradižnik	1400	605	1340	2330	30800
	Peteršilj	2420	4940	17300	7510	48900
	Rukola	3250	11200	46700	7510	28800
	Zelena	4410	10400	30100	14100	38300
	Češnjev paradižnik	1020	1110	1200	3910	29300
	Rdeča pesa	3050	269	1180	228	20200
	Skupaj	2094	3136	9695	3273	24884

se nadaljuje ...

nadaljevanje priloge E:

Pridelava / Skupina pridelkov		Vsebnost fosforja (mg/kg)	Vsebnost žvepla (mg/kg)	Vsebnost kalcija (mg/kg)	Vsebnost klora (mg/kg)	Vsebnost kalija (mg/kg)
Konvencionalna	Bazilika	4620	2560	32100	1710	47200
	Brokoli	7270	13600	28900	1070	25700
	Češnja	1340	315	932	140	17100
	Hruška	1160	481	351	/	10700
	Jabolko	632	280	694	86	6920
	Korenje	2570	1270	3080	7110	28800
	Kumara	3380	1630	5830	6330	34400
	Melancan	2780	1510	1760	3620	29700
	Malina	1250	355	1290	1130	16600
	Paprika	1900	1890	961	1580	27800
	Paradižnik	1030	1970	2190	5420	34100
	Peteršilj	4280	1920	6080	1180	37100
	Rukola	1840	9550	39400	5380	28500
	Zelena	4210	4010	20300	3650	32400
	Češnjev paradižnik	2000	1260	1150	1760	34500
	Rdeča pesa	2850	1130	3000	9310	51300
	Skupaj	2695	2733	9251	3298	28926
Skupaj		2394	2928	9473	3286	26905

PRILOGA F Seznam sort, ki so bile vključene v poskus in leto pridelave
 ANNEX F: The list of varieties included in the experiment and year of production

Vrsta	Sorta	Leto pridelave
Bazilika	<i>Ocimum basilicum</i>	2012
Brokoli	<i>Brassica oleracea</i> 'Corvet'	2012
Češnja	<i>Prunus avium</i> 'Burlat'	2013
Češnjev paradižnik	<i>Lycopersicon esculentum</i> var, <i>Cerasiforme</i> 'Gardener`s Delight'	2012
Hruška	<i>Pyrus communis</i> 'Conference'	2012
Jabolko	<i>Malus domestica</i> 'Idared'	2012
Korenje	<i>Daucus carota</i> 'Kuroda'	2013
Kumara	<i>Cucumis sativus</i> 'Darina'	2013
Melancan	<i>Solanum melongena</i> 'Halflange Violette'	2012
Malina	<i>Rubus idaeus</i> 'Willamette'	2012
Paprika	<i>Capsicum anuum</i> 'California Wonder'	2012
Paradižnik	<i>Lycopersicon esculentum</i> 'Volovsko srce'	2012
Peteršilj	<i>Petroselinum crispum</i> 'Italian Parsley'	2012
Rdeča pesa	<i>Beta vulgaris</i> 'Rote Kugel'	2013
Rukola	<i>Eruca sativa</i>	2012
Zelena	<i>Apium graveolens</i>	2012