

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Gaja BERTOK

**KARAKTERIZACIJA PLODOV JABOLK SORTE
'GALA' GLEDE NA NAČIN GNOJENJA V
SADOVNJAKU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Gaja BERTOK

**KARAKTERIZACIJA PLODOV JABOLK SORTE 'GALA' GLEDE
NA NAČIN GNOJENJA V SADOVNJAKU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**CHARACTERIZATION OF 'GALA' APPLE WITH RESPECT TO
ORCHARD FERTILIZATION**

GRADUATION THESIS
University Studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologije, prehrano in vino Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani in na Odseku za znanosti o okolju Instituta »Jožef Stefan« na Rektorskem centru v Podgorici.

Za mentorja diplomskega dela je imenovan prof. dr. Rajko Vidrih, za somentorico prof. dr. Nives Ogrinc in za recenzentko izr. prof. dr. Nina Kacjan Maršič.

Mentor: prof. dr. Rajko Vidrih

Somentorica: prof. dr. Nives Ogrinc

Recenzentka: izr. prof. dr. Nina Kacjan Maršič

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga 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.

Gaja Bertok

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 634.11:641.1:631.8:543.61(043)=163.6
KG	jabolka/sorta 'Gala'/gnojenje/organska gnojila/mineralna gnojila/masna spektrometrija/izotopska sestava/antioksidativni potencial/skupne fenolne spojine/ fizikalnokemijske lastnosti/rentgenska fluorescenčna spektrometrija s popolnim odbojem
AV	BERTOK, Gaja
SA	VIDRIH, Rajko (mentor) / OGRINC, Nives (somentorica) / KACJAN MARŠIĆ, Nina (recenzentka)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2016
IN	KARAKTERIZACIJA PLODOV JABOLK SORTE 'GALA' GLEDE NA NAČIN GNOJENJA V SADOVNJAKU
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI, 76 str., 20 pregl., 12 sl., 110 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	V okviru diplomske naloge smo želeli najti parametre, ki omogočajo razlikovanje jabolk glede na način gnojenja v sadovnjaku. Poskus je bil opravljen na jablanah sorte 'Gala', katerim smo dodali štiri različna gnojila: eno organsko (Biosol) in tri mineralna gnojila (KAN, Urea in Apneni dušik). Vsako obravnavanje z gnojilom smo aplicirali v količinah 60 oz. 120 kg dušika na hektar. Na obranih plodovih smo izvedli meritve izotopske sestave $\delta^{13}\text{C}$ v sladkorjih, pulpi in peškah, ter $\delta^{15}\text{N}$ v pulpi in peškah. Uporabili smo masni spektrometer za analitiko stabilnih izotopov lahkih elementov (IRMS). Elementno sestavo jabolčnih sokov smo določili z rentgensko fluorescenčno spektrometrijo (TXRF). Na vzorcih smo opravili tudi fizikalnokemijske analize in določili kakovostne parametre: obarvanost plodov, maso, trdoto, suho snov, škrobni indeks, skupne kisline, skupne fenolne snovi in skupni antioksidativni potencial. Rezultati so pokazali, da je razlikovanje med jabolki, pognojjenimi z različnimi gnojili, mogoče na podlagi nekaterih parametrov. Odmerek gnojila ni imel značilnega vpliva. Povprečna masa in trdota mineralno gnojenih plodov sta bili višji v primerjavi z organsko gnojenimi jabolki. Meritve $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ v peškah so se izkazale kot zanesljive metode razlikovanja med jabolki, gnojenimi z organskimi in mineralnimi gnojili. Pri določanju skupnih fenolov, antioksidativnega potenciala in elementne sestave sokov ni bilo ugotovljenih bistvenih razlik glede na uporabljeno vrsto gnojila.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 634.11:641.1:631.8:543.61(043)=163.6
CX apples/cultivar 'Gala'/fertilization/organic fertilizers/mineral fertilizers/mass spectrometry/isotopic composition/physicochemical properties/antioxidant activity/total phenolic content/total reflection X-ray fluorescence spectrometry
AU BERTOK, Gaja
AA VIDRIH, Rajko (supervisor) / OGRINC, Nives (co-advisor) / KACJAN MARŠIČ, Nina (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2016
TI CHARACTERIZATION OF 'GALA' APPLE WITH RESPECT TO ORCHARD FERTILIZATION
DT Graduation thesis (University studies)
NO XI, 76 p., 20 tab., 12 fig., 110 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The aim of the present research was to determine, which parameters can be used to differentiate apples with respect to fertilization method in orchard. For the experiment we used 'Gala' apples on which we applied four different types of fertilizers: one organic (Biosol) and three mineral fertilizers namely KAN, Urea and Lime nitrogen. For each fertilizer test two quantities 60 and 120 kg of nitrogen per hectare were applied. The Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS) method was used to determine the $\delta^{13}\text{C}$ values in sugars, pulp and seeds and $\delta^{15}\text{N}$ values in pulp and seeds. The element structure of the fruit was determined with Total Reflection X-Ray Spectroscopy (TXRF). Physicochemical analysis and quality parameters measurements such as: skin color, fruit weight, firmness, total soluble solids, starch index, total acids, total phenols and total antioxidative potential were also carried out. The results showed, that the distinction between differently fertilized apples could be made based on some parameters. The quantity of the fertilizer had no noticeable effect on investigated parameters, while the apples grown with mineral based fertilizers had a higher average fruit mass and firmness. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in the seeds proved to be reliable parameters to distinguish between apples which were fertilized with organic and mineral fertilizers. On the other hand no significant differences were found for the antioxidative potential, total phenolic compounds and content of elements.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD.....	1
1.1 NAMEN DELA	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 SLOVENSKO SADJARSTVO	3
2.2 RAZMERE ZA PRIDELOVANJE SADJA.....	3
2.2.1 Podnebje in lega	3
2.2.2 Tla.....	4
2.3 NAČINI PRIDELAVE	4
2.3.1 Konvencionalna pridelava	5
2.3.2 Integrirana pridelava	5
2.3.3 Ekološka pridelava	6
2.4 GNOJENJE.....	7
2.4.1 Vrste gnojil	7
2.4.1.1 Mineralna gnojila.....	7
2.4.1.2 Organska gnojila	8
2.5 POTREBE PO HRANILIH V SADOVNJAKU	8
2.5.1 Mineralni elementi.....	10
2.5.1.1 Makroelementi.....	10
2.5.1.2 Mikroelementi.....	12
2.6 JABLANA (<i>Malus domestica</i> Borkh.)	13
2.6.1 Kakovost ploda jablane.....	14
2.6.2 Notranje lastnosti plodov	14
2.6.2.1 Kemijska sestava jabolk	14
2.6.2.2 Bioaktivne snovi	17

2.6.3	Barva povrhnjice in parametri zrelosti	22
2.7	STABILNI IZOTOPI LAHKIH ELEMENTOV	23
2.7.1	Porazdelitev v naravi in možnosti frakcionacije.....	24
2.7.2	Stabilni izotopi dušika, vplivi na njihovo porazdelitev	25
2.7.3	Stabilni izotopi ogljika, vplivi na njihovo porazdelitev	26
2.7.4	Določanje vsebnosti izotopov z metodo IRMS	28
3	MATERIALI IN METODE DELA	30
3.1	ZASNOVA POSKUSA	30
3.1.1	Vremenske razmere.....	30
3.2	RASTNI MATERIAL	31
3.2.1	Sorta 'Gala'.....	31
3.2.2	Podlaga 'M9'.....	31
3.3	UPORABLJENA GNOJILA	32
3.3.1	Biosol.....	32
3.3.2	Urea.....	32
3.3.3	Apneni dušik	32
3.3.4	Kalcijev amonijev nitrat.....	33
3.4	METODE DELA	33
3.4.1	Fizikalnokemijske metode.....	33
3.4.1.1	Meritve barve kože jabolka	33
3.4.1.2	Meritve zrelostnih faktorjev	34
3.4.1.3	Določanje vsebnosti skupnih kislin	35
3.4.1.4	Določanje vsebnosti beljakovin z metodo po Kjeldahlu	35
3.4.2	Analize bioaktivnih komponent	37
3.4.2.1	Določanje antioksidativnega potenciala s prostim radikalom DPPH'	37
3.4.2.2	Določanje skupnih fenolnih snovi	38
3.4.2.3	Določanje vsebnosti višjih maščobnih kislin v lupini jabolka.....	39
3.4.3	Določanje stabilnih izotopov lahkih elementov.....	41
3.4.3.1	Določanje $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v pulpi jabolčnega soka z metodo IRMS....	41
3.4.3.2	Določanje $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti sladkorjev z metodo IRMS	43
3.4.3.3	Določanje $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ v peškah jabolk z metodi IRMS	44

3.4.4	Določanje elementarne sestave jabolčnega soka z metodo rentgenske fluorescenčne spektroskopije s popolnim odbojem (TXRF).....	45
3.4.5	Statistična obdelava podatkov	46
4	REZULTATI.....	47
4.1	MERITVE BARVE PLODOV JABOLK SORTE 'GALA'	47
4.2	MERITVE PARAMETROV ZRELOSTI IN KAKOVOSTI PLODOV JABOLK 'GALA'	48
4.3	REZULTATI POSAMEZNIH FIZIKALNOKEMIJSKIH ANALIZ	49
4.3.1	Meritve skupnih fenolnih spojin in antioksidativnega potenciala v jabolčnem soku	49
4.3.2	Vsebnost beljakovin (določanje skupnega dušika) po Kjeldahlu.....	51
4.4	MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA V KOŽICI JABOLK.....	52
4.5	REZULTATI IZOTOPSKE SESTAVE	53
4.5.1	Vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ v uporabljenih gnojilih, zemlji in analiziranih vzorcih jabolk.....	53
4.5.2	Rezultati merjenja $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v jabolčni pulpi, sladkorjih in peškah	54
4.5.3	Rezultati merjenja $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v jabolčni pulpi in peškah.....	55
4.3	ELEMENTNA SESTAVA JABOLČNEGA SOKA.....	57
5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	58
5.1	RAZPRAVA.....	58
5.1.1	Vpliv gnojenja na zrelostne faktorje in fizikalnokemijske parametre plodov jabolk sorte 'Gala'	58
5.1.2	Vpliv gnojenja na vsebnost skupnega dušika.....	59
5.1.3	Vpliv gnojenja na sekundarne metabolite plodov	59
5.1.4	Vpliv gnojenja na maščobnokislinsko sestavo	61
5.1.5	Vpliv gnojenja na razmerja stabilnih izotopov ogljika in dušika	61
5.1.6	Vpliv gnojenja na elementno sestavo	63
5.2	SKLEPI.....	64
6	POVZETEK	65
7	VIRI	67
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Gnojilne norme (kg/ha) pri C stopnji preskrbljenosti pri različnih pridelkih jabolk (Mihelič in sod., 2010)	9
Preglednica 2: Odvzem hranil s pridelkom jabolk (Mihelič in sod., 2010)	9
Preglednica 3: Razmerje med elementi (hranili) glede na pomanjkanje in presežke v rastlini (Mihelič in sod., 2010)	13
Preglednica 4: Kemijska sestava jabolk in jabolčnega soka v 100 g (Hribar in Plestenjak, 1993).....	14
Preglednica 5: Maščobnokislinska sestava v plodu jabolka (Souci in sod., 2000)	21
Preglednica 6: Porazdelitev stabilnih izotopov C in N v naravi (Rossmann, 2001)	24
Preglednica 7: Standardne raztopine galne kisline pri določanju fenolnih spojin.....	39
Preglednica 8: Povprečne vrednosti in standardni odkloni barvnih komponent (L^* , a^* , b^*) jabolk sorte 'Gala' kot posledica gnojenja z različnimi gnojili in različnimi odmerki gnojila.....	47
Preglednica 9: Povprečne vrednosti in standardni odkloni parametrov zrelosti in kakovosti jablan sorte 'Gala' kot posledica gnojenja z različnimi gnojili in različnimi odmerki gnojila.....	48
Preglednica 10: Povprečne vrednosti in standardne deviacije parametrov zrelosti in kakovosti jablan sorte 'Gala' glede vrsto apliciranega gnojila, ne glede na odmerek	49
Preglednica 11: Povprečne vrednosti in standardni odkloni meritev antioksidativnega potenciala (AOP) in skupnih fenolnih spojin v jabolčnem soku sorte 'Gala' glede na uporabljena gnojila in glede na odmerek gnojil	49
Preglednica 12: Rezultati povprečnih vrednosti s standardnimi odkloni antioksidativnega potenciala (AOP) in skupnih fenolnih spojin v vzorcih jabolčnega soka glede na vrsto uporabljenega gnojila, ne glede na odmerek	50
Preglednica 13: Vsebnost beljakovin v jabolčnem soku sorte 'Gala' glede na aplicirana gnojila in odmerke (60 kg N/ha ali 120 kg N/ha)	51
Preglednica 14: Povprečne vrednosti beljakovin v jabolčnem soku sorte 'Gala' glede na uporabljena gnojila	51
Preglednica 15: Povprečne vrednosti vsebnosti maščobnih kislin v kožici jabolk sorte 'Gala'	52
Preglednica 16: Povprečja in standardni odkloni maščobno kislinske sestave kožice jabolk sorte 'Gala' glede na uporabljena mineralna in organska gnojila	52
Preglednica 17: Povprečni delež (ut.%) nasičenih, enkrat nenasičenih in večkrat nenasičenih maščobnih kislin od skupnih MK v kožici jabolk.....	53
Preglednica 18: Izotopska sestava dušika $\delta^{15}\text{N}$ in ogljika $\delta^{13}\text{C}$ uporabljenih gnojil (Bizjak Bat, 2016)	53
Preglednica 19: Izotopska sestava dušika $\delta^{15}\text{N}$ in ogljika $\delta^{13}\text{C}$ v zemlji z aplicirano količino gnojila (Bizjak Bat, 2016)	53

Preglednica 20: Povprečja in standardni odkloni koncentracij posameznih elementov (mg/L) glede na uporabljena gnojila z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	57
---	----

KAZALO SLIK

Slika 1: Kroženje dušika v tleh (Mengel in sod., 2001)	11
Slika 2: Strukturne formule nasičenih, n-9, n-6 in n-3 maščobnih kislin (Salobir, 2001)...	22
Slika 3: Biološki procesi in izotopske vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ (Heaton, 1986).....	26
Slika 4: Različna pot fiksacije ogljika za C_3 in C_4 rastline (Lara in Andreo, 2011).....	28
Slika 5: Princip delovanja masnega spektrometra za analizo stabilnih izotopov lahkih elementov (Revesz in sod., 2001)	29
Slika 6: Shema poskusa izvedenega v letu 2010	30
Slika 7: Jabolka sorta 'Gala' (Apples, 2012).....	31
Slika 8: Vrednosti AOP (mmol/L) kot posledica vira (organski ali mineralni) in odmerka (60 ali 120 kg N/ha) znotraj gnojil in kontrola.....	50
Slika 9: Povprečne $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v jabolčni pulpi, sladkorjih in peškah glede na uporabljeno vrsto gnojila.....	54
Slika 10: Povprečne $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v jabolčni pulpi, sladkorjih in peškah glede na aplicirana gnojila	55
Slika 11: Povprečne $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v jabolčni pulpi in peškah glede na uporabljeno vrsto gnojila.....	55
Slika 12: Povprečne $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v jabolčni pulpi in peškah glede na aplicirana gnojila	56

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AOP	antioksidativni potencial
AD	mineralno gnojilo Apneni dušik
BI	organsko gnojilo Biosol
CAM	skupina rastlin, ki za pridobivanje sladkorjev uporablja CAM cikel (angl. Crassulacean acid metabolism)
C ₃ rastline	skupina rastlin, ki za pridobivanje sladkorjev uporablja C ₃ ali Calvinov cikel
C ₄ rastline	skupina rastlin, ki za pridobivanje sladkorjev uporablja C ₄ ali Hatch-Slackov cikel
DPPH [•]	stabilni prosti radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
F.C.	Folin-Ciocalteujev reagent
GC	plinska kromatografija (angl. Gas Chromatography)
IRMS	masna spektrometrija za merjenje izotopskih razmerij lahkih elementov (angl. Isotope Ratio Mass Spectrometry)
KAN	mineralno gnojilo, polno ime kalcijev amonijev nitrat
KON	kontrolni vzorec
SFS	skupne fenolne spojine
SD	standardna deviacija ali odklon
SS	vrednost suhe snovi izražena v %
TXRF	rentgenska fluorescenčna spektrometrija s popolnim odbojem (angl. Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometry)
UR	mineralno gnojilo Urea
δ ¹³ C	izotopska sestava ogljika izražena v ‰
δ ¹⁵ N	izotopska sestava dušika izražena v ‰

1 UVOD

Vsak sadjar stremi k visokemu pridelku, za katerega bo na trgu dosegel kar največjo ceno, na drugi strani pa ima vedno bolj ozaveščenega kupca, ki želi zdravo pridelano hrano. Povečuje se povpraševanje po ekološki hrani, ki je bogatejša s hranili, predvsem pa varna in brez škodljivih snovi.

Ekološko pridelano sadje ima na trgu višje cene v primerjavi s tistim pridelanim konvencionalno, saj je vzgoja zahtevnejša in manj donosna, zaradi tega obstaja nevarnost nepravilnega označevanja konvencionalno pridelanega sadja z oznako »ekološko«.

V kmetijstvu se uporabljajo mineralna gnojila predvsem z namenom večjega hektarskega donosa različnih kultur, vendar pa ta način pridelave pušča za seboj različne negativne posledice, kot so onesnaženost okolja in pojav različnih fizioloških bolezni, predvsem zaradi porušenega razmerja med makro- in mikroelementi.

Potreba po spremljanju avtentičnosti in kakovosti prehrambnih izdelkov je povzročila, da se je pojavilo zanimanje po novih metodah, s katerimi bi dokazali potvorbe. S pomočjo do sedaj znanih znanstvenih metod namreč ni mogoče razlikovati med ekološko in konvencionalno pridelanim sadjem in zelenjavo.

1.1 NAMEN DELA

Namen opravljene raziskave je bil ugotoviti, ali lahko razlikujemo plodove jabolk sorte 'Gala' glede na način gnojenja v sadovnjaku, s pomočjo analiz stabilnih izotopov lahkih elementov (C, N) in klasičnih (fizikalnokemijskih metod). Možnost uporabe analize izotopov dušika temelji na predpostavki, da imajo konvencionalno pridelane rastline nižje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$, v primerjavi z rastlinami, gnojenimi z organskimi gnojili. Zaradi različnih procesov izdelave gnojil imajo mineralna gnojila nižje $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti od organskih gnojil. Z masno spektrometrijo za analitiko stabilnih izotopov lahkih elementov (IRMS) smo merili izotopsko sestavo ogljika ($\delta^{13}\text{C}$) v izoliranih sladkorjih, peškah in jabolčni pulpi in izotopsko sestavo dušika ($\delta^{15}\text{N}$) v jabolčni pulpi ter peškah.

Jabolko je dober prehranski vir antioksidantov, vitaminov in mineralnih snovi. Želeli smo preveriti, ali obstajajo razlike v vsebnosti skupnih fenolov, antioksidativnem potencialu, elementni in maščobno kislinski sestavi med jabolki sorte 'Gala' pridelanimi s pomočjo organskega ali mineralnega vira dušika.

Primerjali smo tudi nekatere parametre kakovosti in zrelostne faktorje, kot so obarvanost in trdoto plodov, skupne kisline ter vsebnost škroba in suhe snovi z namenom ugotoviti ali obstajajo med njimi razlike.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevamo, da se jabolka iz različni načinov pridelave (ekološka ali konvencionalna) s pomočjo različnih virov uporabljenih gnojil (organskih ali mineralnih) da ločiti po naslednjih parametrih:

- vrsta gnojila vpliva na razmerje $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ v plodu jabolk in obstajajo razlike v $\delta^{15}\text{N}$ vrednostih, ki bi lahko služile kot orodje za ugotavljanje nepravilnega označevanja ekoloških pridelkov;
- vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ so nekoliko nižje v ekološko pridelanih jabolkih z organskimi gnojili, kot pridelanimi z mineralnimi gnojili;
- plodovi jabolk gnojeni z organskim gnojilom imajo višje vsebnosti skupnih fenolnih spojin in posledično večji antioksidativni potencial;
- glede na različne vire uporabljenih gnojil (organskega ali mineralnega) obstajajo razlike v vsebnosti skupnega dušika, višjih maščobnih kislin, zrelostnih faktorjih in ostalimi kemijskimi parametri med pridelanimi jabolki;
- od uporabljenega gnojila je odvisna elementarna sestava jabolk; v plodovih pridelanih z mineralnimi gnojili lahko pričakujemo višje vsebnosti dušika, fosforja in kalija, zaradi uporabe mineralnih NPK gnojil.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SLOVENSKO SADJARSTVO

Slovenija je zaradi naravnih danosti dežela sadja in vina. Prvi zapisi o sadjarstvu na območju današnje Slovenije segajo v 15. stoletje, prvi sadni izbor v slovenščini pa je izšel že leta 1817. Sadni izbor sedaj dopolnjujejo vsaka štiri leta s sortami, ki imajo največjo gospodarsko vrednost in v naših klimatskih razmerah dajejo najboljše rezultate (Štampar in Usenik, 1996).

Po podatkih Statističnega urada imamo v Sloveniji 27.017 ha trajnih nasadov, kamor prištevamo sadovnjake, vinograde in oljčnike. Med sadovnjaki prevladujejo nasadi jablan, zasajenih na 2.465 ha. Pridelek jabolk je v letu 2015 znašal povprečno 34 ton/ha oziroma 83.855 ton v vseh intenzivnih sadovnjakih (SURS, 2015).

Z razvojem sort, odpornih na boleznih in škodljivce, se pojavlja možnost za gojenje sadja brez uporabe sredstev za varstvo rastlin in drugih ukrepov, kar omogoča ekološko pridelovanje sadja (Štampar in Usenik, 1996).

2.2 RAZMERE ZA PRIDELOVANJE SADJA

Med najpomembnejše dejavnike, ki vplivajo na rodovitnost tal in jih je za uspešno sadjarstvo potrebno ugotavljati so: pH ali kislost tal, vsebnost organske snovi, tekstura in struktura tal. Vsi ti dejavniki so medsebojno aktivno povezani in vplivajo drug na drugega (Brence, 2013).

2.2.1 Podnebje in lega

Uspešnost pridelave določeno vrste sadja je v prvi vrsti odvisna od podnebja. Makro klimatske razmere določajo dejavniki, kot so temperatura, padavine in osvetlitev. Pomembne so povprečne letne temperature, povprečne temperature od maja do septembra, to je v obdobju glavne vegetacije (Krišković, 1989).

Sadna drevesa zadovoljujejo potrebo po vodi s padavinami v obliki dežja in snega, največ vode potrebujejo, ko se dviga povprečna temperatura med glavno vegetacijsko dobo. Dobro preskrbo z vodo omogočajo predvsem globoka tla z veliko vodno kapaciteto pri dobri porazdelitvi padavin (Krišković, 1989).

Za pridelavo kakovostnega sadja potrebujemo 1600 do 1800 sončnih ur na leto. V letih z več sončnimi urami dobimo boljše zunanjo in notranjo kakovost plodov. To pomeni čvrste

sadne lupine, čvrsto meso plodu, večji delež sladkorja, več arome in boljši okus. Osvetlitev je za sadno drevo pomembna zaradi ogrevanje tal, asimilacije (vsebnost sladkorja v plodu, zrelost lesa), nastajanja rumenih barvil v plodu (razgradnja klorofila) in nastajanja rdeče krovne barve na plodovih (Krišković, 1989).

2.2.2 Tla

Tla so podzemeljski življenjski prostor drevesa in s tem eden najpomembnejših dejavnikov pri pridelavi. Tekstura tal vpliva na pomembne kemične in fizikalne lastnosti tal, kot so gibanje vode, zračnost in kationska izmenjalna kapaciteta. Kadar v tleh prevladujejo glinasti delci, so tla gosta in zbita ter slabo prepustna in prezračena. Imajo pa veliko sposobnost zadrževanja vode in hranil. Tla, kjer prevladujejo peščeni delci, so zračna in topla, vendar slabo zadržujejo vodo in imajo majhno kationsko izmenjalno kapaciteto (Zupan in sod. 1998).

Zdrava tla vsebujejo polovico čvrstih delcev, ki jih delimo na organske (humus) in anorganske (rudninske snovi), ter petdeset odstotkov praznega prostora, ki vsebuje polovico vode in polovico zraka. Dovolj globoka tla, v katerih se lahko rastline dobro ukoreninijo, z dobro zračnostjo, aktivnim življenjem in kapaciteto za vodo so pogoj za zdravo rast. Organska snov v tleh se ob vlažnem in toplem vremenu mineralizira in sprošča poleg dušika tudi druga hranila, ki so na ta način dostopna rastlinam (Mihelič in sod., 2010). Na hitrost razgradnje organske snovi vpliva vsebnost hranil v tleh, predvsem dušika in razmerje dušika in ogljika v tleh (C/N razmerje) (Leskošek, 1993).

Od kislosti oziroma bazičnosti tal je v veliki meri odvisna dostopnost hranil za rastline, obenem je pH vrednost pomembna za vzdrževanje strukture tal in vsebnost humusa. Čim lažja so tla in čim več humusa vsebujejo, tem nižja je optimalna pH vrednost (Mihelič in sod., 2010).

Živahno življenje drobnoživk in drugih živali v tleh, ima za posledico sprostitve težje dostopnih hranil v lažje dostopne. Dober zračni in vodni režim sta pogoj za dobro in trajno mikrobiološko aktivnost tal (Mihelič in sod., 2010).

2.3 NAČINI PRIDELAVE

Načini pridelave se v splošnem delijo na ekološko, integrirano in konvencionalno. V zadnjih letih je bilo opravljenih veliko primerjalnih študij med organsko in konvencionalno pridelanim sadjem in zelenjavo, katere se osredotočajo na rodovitnost tal, prehrano rastline, kakor tudi na kakovost izdelka (Bavec, 2004a).

2.3.1 Konvencionalna pridelava

O konvencionalni pridelavi govorimo, kadar nasade intenzivno oskrbujemo, predvsem z maksimalnim varstvom pred boleznimi in škodljivci, gnojenjem, uporabo hormonskih pripravkov za zmanjšanje vegetativne rasti in drugim. Cilj takšnega načina pridelovanja je doseganje večjih donosov, z večjimi količinami sadja lepega videza, kar je pogoj za uspeh na trgu. Kot navaja Bavec (2004a), pa so posledice intenzivnega kmetijstva vidne najprej v okolju, kjer zasledimo ostanke pesticidov, nitrata v podtalnici, vse več je monokultur, poveča se prisotnost bolezni in škodljivcev.

V konvencionalnem kmetijstvu se večinoma uporabljajo dušikova, fosforjeva in kalijeva mineralna gnojila, tako imenovana NPK gnojila, kot kompleksna gnojila v različnih N:P:K razmerjih. Zaradi intenzivne pridelave lahko prihaja do porušenega ravnotežja v naravi, kar vodi k vedno večji porabi sredstev za varstvo rastlin (Štampar in Usenik, 1996).

Okoljske posledice konvencionalne pridelave so erozija tal, preobremenitev vodnih virov in zmanjšanje biotske raznovrstnosti, posledično se poveča populacija patogenih organizmov. Večji kot so odmerki dušičnih gnojil, večja je tudi verjetnost, da rastline napadejo glivične bolezni (Krišković, 1989). Porušeno razmerje hranil vodi do osiromašenosti tal in manjše prehranske vrednosti plodov (Bavec, 2001).

Konvencionalno pridelana zelenjava in sadje vsebuje več amonijevih ionov in nitrata, s tem načinom pridelave dajejo rastline večje plodove s povečano vsebnostjo vode. Hribar in Vidrih (2009) navajata, da se z uporabo NPK gnojil, ter zmanjšanjem organske snovi v tleh, zmanjša razpoložljivost mineralov v zemlji in posledično zniža akumulacija le teh v pridelkih.

2.3.2 Integrirana pridelava

Pri integrirani pridelavi ima prednost gnojenje z organskimi pred mineralnimi gnojili. Gnojenje z dušikom omejimo na minimum in izbiramo počasi delujoča gnojila. Ta način pridelovanja je pokazal, da se izboljša notranja kakovost plodov predvsem zaradi bolj umirjene rasti, optimalnejše prehrane rastlin in ostalih ukrepov (Štampar in Usenik, 1996).

Potrebno je upoštevati določila Pravilnika o integrirani pridelavi sadja (2010), ki poudarja rast zdravih rastlin s čim manjšimi motnjami v kmetijskih ekosistemih in spodbuja naravne mehanizme varstva pred škodljivimi organizmi. Glavna skrb je posvečena celostnemu obravnavanju in uravnoteženemu kroženju snovi, kot so gnojenje na podlagi analize tal in potreb rastlin, ohranjanju in dvigovanju rodovitnosti tal, kolobarjenju, izboru odpornih sort in izboru okolju prijaznih načinov pridelave (Pravilnik o integrirani pridelavi sadja, 2010).

Strokovni nadzor in kontrola pridelave vključno z analizami pridelkov na ostanke pesticidov zagotavljajo potrošniku poleg zunanje kakovosti tudi visoko notranjo kakovost zelenjave in zdravstveno neoporečnost. Kontrolo integrirane pridelave izvajajo pooblaščen kontrolne organizacije, pridelovalci se lahko kupcem izkažejo s certifikatom o kontroli integrirane pridelave in ustrezno označitvijo na deklaraciji (Bavec, 2004a).

2.3.3 Ekološka pridelava

Temelj ekološkega sadjarstva je dolgoročno ohranjanje zdravega okolja in s tem dobrih bivalnih razmer za vsa živa bitja, predvsem koristnih živali v nasadih (Štampar in sod., 2009).

Ekološko kmetijstvo, kot najvišje vrednotena oblika trajnostnega kmetijstva (Bavec, 2004a), poudarja gospodarjenje v sožitju z naravo. Pomembno vlogo ima sposobnost tal za samouravnavanje in obvarovanje okolja z naravnimi, po možnosti sklenjenimi krogotoki hranilnih snovi, saj je uporaba sredstev za obvladovanje bolezni in škodljivcev v ekološkem sadjarstvu zelo omejena (Lind in sod., 2001).

Tovrstni način pridelave praktično v celoti prepoveduje uporabo sintetičnih gnojil, zlasti vseh dušikovih, v vodi topnih in citratno topnih fosfatov, kalijevih kloridov ipd. (Mihelič in sod., 2010). Dovoljena so samo počasi delujoča apnena gnojila, ta predvsem zvišujejo pH vrednost in ohranjajo strukturo tal (Lind in sod., 2001).

Značilne prakse ekološkega kmetijstva v rastlinski pridelavi (Bavec, 2004b) so:

- kolobar za varstvo rastlin kot preprečevanje pojava bolezni, škodljivcev in plevela,
- ohranjanje oziroma skrb za povečanje rodovitnosti tal;
- gnojenje z organskimi gnojili (izkoriščanje prednosti lokalnih virov, denimo hlevskega gnoja);
- prepovedana uporaba lahko topnih mineralnih in sintetičnih sredstev za varstvo rastlin.

Ekološko pridelano pomeni pridelano brez uporabe kemično-sintetičnih sredstev za varstvo rastlin, lahko topnih mineralnih gnojil, kemičnih aditivov, ionizirajočega sevanja, surovin živalskega izvora v gnojilih in gensko spremenjenih organizmov. Pri ekološki pridelavi, kjer so omejitve največje, imajo pridelki največjo notranjo vrednost, so pa večinoma pridelki manjši (tudi 50 % in več) in zaradi tega tudi dražji (Bavec, 2001).

Sadje in zelenjava ekološke pridelave vsebuje več vitaminov (večje vsebnosti C-vitamina so bile izmerjene v ekološko pridelanih jabolkih, zelju, paradižniku), več mineralov in manj težkih kovin, več sekundarnih metabolitov, večjo vsebnost suhe snovi, manj nitratov, manjše vsebnosti ostankov pesticidov (Bavec, 2004a).

2.4 GNOJENJE

Gnojenje, kot vnos hranil v tla ali prehrana rastlin je eden izmed ključnih dejavnikov za doseganje optimalnih pridelkov. Hranila, dodana z gnojili niso v celoti dosegljiva rastlinam, izgubljajo se z izpiranjem, nekatera pa so vezana v tleh tako, da rastlinam niso dostopna. Po drugi strani pa imajo rastline z mineralizacijo in s preperevanjem nenehno na voljo hranilne snovi iz tal (Lind in sod., 2001).

Z gnojenjem povečamo založenost tal z organskimi in mineralnimi snovmi ter izboljšamo teksturo tal. Na osnovi podatkov iz talnih analiz založno gnojimo s fosforjem, kalijem, kalcijem, magnezijem itd. S tem vračamo v zemljo hranila, ki so jih rastline uporabile za rast, razvoj in plodove. Pri določanju količin gnojil moramo upoštevati tudi količine organskih snovi v tleh, jablane potrebujejo od 3-5% organskih snovi (Sancin, 1988). Z dodajanjem fiziološko kislih oziroma fiziološko bazičnih gnojil dosežemo optimalno kislost, ki naj bi pri sadnih vrstah dosegala pH vrednost od 5-7 (Mihelič in sod., 2010).

2.4.1 Vrste gnojil

Poznamo organska, mineralna in organsko mineralna gnojila, s pomočjo katerih rastlinam zagotavljamo potrebna hranila za rast in razvoj.

2.4.1.1 Mineralna gnojila

Mineralna gnojila delimo na enostavna in sestavljena, pridobljena so v industrijskem postopku. Enostavna mineralna gnojila vsebujejo le eno posamezno hranilo (dušik, fosfor, kalij, mikrohranila). Sestavljena mineralna gnojila so kombinirana gnojila (NPK, PK-gnojila), ki vsebujejo več neorganskih spojin v različnih razmerjih in predstavljajo rastlinam že pripravljeno hrano.

Sintetično pridobljena mineralna (anorganska) dušikova gnojila in ostala kemično pripravljena gnojila so v ekološkem kmetovanju prepovedana. Sestavljajo jih različne soli in kot taka so rastlinam hitro dostopna. V večini se hranila najprej močno vežejo na delce zemlje, kot sta glina in humus, nato pa postopoma prehajajo v talno raztopino, od koder jih vsrkavajo rastlinske korenine (Leskošek, 1993).

Prekomerna raba mineralne oblike dušika lahko privede do kopičenja nitrata v kmetijskih pridelkih. Nitrat (NO_3^-) se v človeškem organizmu pod vplivom metabolnih procesov spremeni v nitrit (NO_2^-), ki je bolj škodljiv kot nitrat. Nitrit pa lahko v organizmu reagira z organskimi amini in povzročijo nastanek rakotvornih nitrozaminov. Zaradi intenzivne nitrifikacije v tleh, ob prisotnosti bakterij, je nitrat prevladujoča oblika dušika, ki jo

sprejme rastlina. V zemlji je zelo mobilen in se pri določenih klimatskih razmerah ter strukturi tal spira v podtalnico (Kmecl, 2012).

Intenzivno gnojenje poveča stopnjo napada bolezni, saj bujna rast kot posledica premočnega gnojenja z mineralnim dušikom poruši ravnovesje med rastjo in rodnostjo (Lind in sod., 2001). Posledica obilne prehrane z dušikom je večja občutljivost in slabša kakovost plodov, kot sta nižja trdota ter vsebnost suhe snovi (Brence, 2013).

2.4.1.2 Organska gnojila

Organska gnojila običajno vsebujejo manjši delež hranil kot mineralna, to so gnojila ki delujejo na dolgi rok, saj padavine ne izničijo obstoja in delovanja v zemlji, kot se to pogosto dogaja pri mineralnih gnojilih.

Vsa organska gnojila vsebujejo organsko snov z rastlinskimi hranili, deloma tudi živalskimi ostanki in odpadki. Največji del organskih gnojil predstavlja hlevski gnoj, ki je sestavljen iz blata in seča živine ter stelje. K živinskim gnojilom spadata tudi gnojnica in gnojevka (Mihelič in sod., 2010). Gnojnica je seč živali, največkrat pomešana z vodo, ki odteka iz hleva. Glede hranil je predvsem kalijevo in dušično gnojilo, fosforja ne vsebuje skoraj nič. Dušik je v seču v kemični spojini, ki ji pravimo sečnina ali urea. Vsa hranila iz gnojnice hitro delujejo, podobno, kot na način iz mineralnih gnojil (Leskošek, 1993).

Poleg živinskih gnojil štejemo k organskim gnojilom tudi različne na kmetiji pripravljene komposte iz rastlinskih ostankov, postranskih pridelkov, kot so slama, koruznica, ali rastline, ki jih sejemo z namenom, da ko zrastejo, jih zaorjemo kot nadomestilo za druga organska gnojila – te rastline imenujemo podorine (Mihelič in sod., 2010).

V zadnjem obdobju se zaradi pomanjkanja surovin živalskega izvora uporablja tudi rastlinske odpadke, predvsem oljnih plodov in semen. To so ostanki, ki jih dobimo po stiskanju olj (oljna repica, sončnice, ricinus, grozdne peške, oljke, zemeljski oreški idr.). Tudi morske alge postajajo zaradi velikega deleža mikroelementov in vsebnosti aminokislin vedno bolj cenjene (Lind in sod., 2001).

Dober kompost ima veliko humusa, hranil in obilo koristnih drobnoživk (Leskošek, 1993).

2.5 POTREBE PO HRANILIH V SADOVNJAKU

Sadno drevje raste vrsto let na istem mestu. S svojimi koreninami črpa iz zemlje v vodi raztopljene rudninske snovi, z nadzemnimi zelenimi deli, predvsem z listjem, pa sprejema iz zraka ogljikov dioksid (CO₂), ki je skupaj s kisikom (O₂) in vodo (H₂O) glavni sestavni del organskih snovi (C, O, H) (Jazbec in sod., 1995).

Sadna drevesa, kot tudi ostale trajne kulture, skladiščijo hranila v lesu in jih ponovno sproščajo, ko jih potrebujejo. Večinoma te zaloge zadoščajo za rast in tvorbo pridelka, le v kratkih obdobjih so potrebe rastlin večje, zato moramo intervenirati z gnojenjem. Dušik je še posebej pomemben v začetnih fazah razvoja drevesa, prav tako pomaga ohranjati fiziološko ravnovesje rastline. Letna poraba dušika v drevesu je 80 % (ki je po navadi drevesu rezerva), medtem ko le 20 % prihaja iz gnojil. Drevo kopiči dušik predvsem v koreninskem sistemu (Mihelič in sod., 2010).

Stanje prehranjenosti s hranili tal v nasadu določamo z analizo tal, foliarno analizo, kemično analizo plodov, vizualno diagnostiko (simptomi pomanjkanja in presežkov), spremljanjem rasti - dolžin enoletnih poganjkov (Mihelič in sod., 2010).

Stopnjo preskrbljenosti tal s fosforjem, kalijem in magnezijem označujemo z lestvico od A do E. Spodnja preglednica 1 prikazuje gnojilne norme pri dobri preskrbljenosti tal s posameznim hranilom, ki jo v lestvici stopnje preskrbljenosti tal s P_2O_5 , K_2O in Mg, označujemo s črko C (Brence, 2013).

Preglednica 1: Gnojilne norme (kg/ha) pri C stopnji preskrbljenosti pri različnih pridelkih jabolk (Mihelič in sod., 2010)

Pridelek (t/ha)	Dušik N	Fosfor P_2O_5	Kalij K_2O	Magnezij Mg
20	40	10	40	5
30	50	15	60	10
40	60	20	75	10
50	70	25	90	15
60	80	30	110	20

Hranilne snovi, ki jih rastline vzamejo tlom za rast in pridelek, moramo nadomestiti z dodatnim sproščanjem iz tal in z gnojenjem. Količine hranilnih snovi, ki jih odvzame jablanov nasad v polni rodnosti, so razmeroma majhne, kot prikazuje preglednica 2.

Preglednica 2: Odvzem hranil s pridelkom jabolk (Mihelič in sod., 2010)

Pridelek (t/hektar)	N (kg/ha)	P (kg/ha)	K (kg/ha)	Mg (kg/ha)	Ca (kg/ha)
40	20	13	60	4	15

Med glavnim rastnim obdobjem od srede maja do srede julija ni vedno dovolj dušika, da bi v celoti zadovoljili potrebe rastlin. Zato mora biti ob cvetenju jablan v tleh dovolj velika zaloga mineralnega dušika. K mineralnim dušikom (Nmin) štejemo nitrat (NO_3^-), nitrit NO_2^- in amonij (NH_4^+). Nitrit je vmesni proizvod nitrifikacije in se v tleh pojavlja v

zanemarljivih količinah. Količina amonija pa je zelo odvisna od pH-vrednosti tal in se povečuje s stopnjo kislosti. Potreba po dušiku je največja po cvetenju (Lind in sod., 2001).

Ob prehodu v rodnost potrebujejo jabolane večje količine dušika, fosforja, kalcija in drugih mineralnih snovi (Sancin, 1988).

Antagonizem je strokovni izraz za odnos med hranili, ki so si v nasprotju. Za kakovost jabolk so zelo pomembni antagonizmi: Mg/K, K/Ca, Mg/Ca, zato je poleg založenosti s hranili, tipom tal, sorto in pridelkom, potrebno upoštevati tudi razmerja med hranili (Mihelič in sod., 2010). Če je hranil v tleh preveč ali premalo in še posebej, če so v neugodnih razmerjih, lahko pričakujemo težave, ki se kažejo v nižjem in manj kakovostnem pridelku. Za ohranitev dobre rodovitnosti zemlje je potrebno dodati tlom najmanj toliko organske snovi, kot se jo na leto porabi (Leskošek, 1993).

Zaradi različnih sposobnosti sprejema in transporta posameznih elementov, prihaja pri jablanah pogosto do motenj mineralnega ravnovesja, kar ima za posledico pojav različnih fizioloških bolezni plodov. Kljub ugodnim talnim razmeram je velikokrat nezadostna prehrana plodov posledica neugodnih vremenskih razmer (Muršec in sod., 2004).

2.5.1 Mineralni elementi

2.5.1.1 Makroelementi

Glavna rastlinska hranila ali makrohranila so dušik, fosfor in kalij ter kalcij, magnezij in žveplo. Glavna jih imenujemo zato, ker jih potrebujejo rastline sorazmerno veliko in jih moramo večinoma dodajati, torej z njimi gnojiti, ker jih v tleh običajno ni dovolj (Mihelič in sod., 2010).

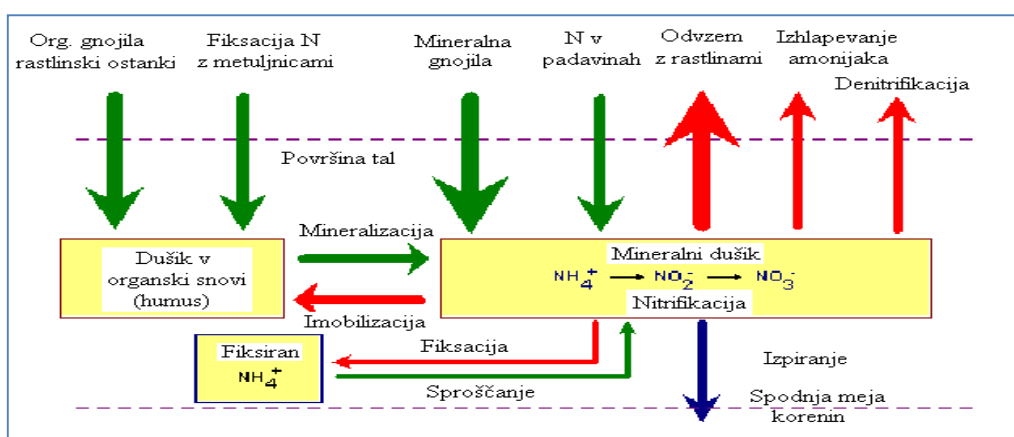
S pridelki odvzeta glavna hranila N, P, K, je potrebno v tla nujno vračati in postopoma povečati njihovo zalogo v tleh do optimalne oskrbljenosti. Sicer jih v negnojenih tleh praviloma manjka in ne dobimo želenih rezultatov.

Dušik (N) je najpomembnejši element v prehrani rastlin. Je sestavni del listnega zelenila in beljakovin, torej sestavina vsake žive celice. Učinkuje na rast in razvoj, povečuje energijo fotosinteze. Dušik je tudi v mnogih encimih, hormonih in vitaminih, predvsem ga je veliko v listju (klorofil) in semenu (beljakovine). Dušik v rastlini potuje, in sicer iz starejših delov rastline v mlajše (Jazbec in sod., 1995).

Kroženje dušika v naravi

Zrak je glavna zaloga dušika na zemlji (78 % N₂), vendar ga rastline sprejemajo skozi korenine šele po tem, ko se v tleh spremeni v obliko nitratnega (NO₃⁻) ali amonijevega iona

(NH_4^+) (Mihelič in sod., 2010). V prehrani rastlin z dušikom so pomembne nitrifikacijske bakterije, ki oksidirajo amonijsko obliko dušika v nitritno, to pa v nitratno, ki je rastlinam dostopna. Stročnice lahko s pomočjo nitrifikacijskih bakterij *Rhizobium*, ki živijo z njimi v simbiozi, fiksirajo dušik iz zraka. V kmetijstvu so pomembne še denitrifikacijske bakterije, te razkrajajo nitrite in nitrate v prosti dušik, ki izhlapi v zrak. Del Fabro (2004) navaja, da se pri pH vrednostih, ki so nižje od 6,5 zmanjša sposobnost vezave dušika iz zraka. Rastline lahko koristijo mineralni dušik (amonijski in nitratni), ki ga je v tleh le 1–2 %. Amonijska oblika dušika (NH_4^+) hitro izhlapeva s površine tal, hkrati se bolje veže na talne delce. Amonijska oblika dušika je fiziološko kisl oblika in dognojevanje s takšnimi gnojili znižuje pH vrednost tal. Amonijska oblika dušika se v procesu nitrifikacije hitro spremeni v nitratno obliko NO_3^- , zato ga rastline v takšni obliki sprejemajo v manjših količinah (Podgoršek, 2011).



Slika 1: Kroženje dušika v tleh (Mengel in sod., 2001)

Fosfor (P) je sestavina vsake žive celice. V naravi ga ni v čisti obliki, temveč se spaja s kisikom v anhidrid fosforjeve kisline, fosforjev oksid (P_2O_5) (Del Fabro, 2004).

Fosfor je element, ki ga potrebuje sadno drevje manj kakor dušika in kalija, vendar je v vseh delih sadnega drevja, predvsem pa je pomemben za razvoj korenin in razmnoževalnih organov, kot so cvetovi, plodovi in semena. Fosfor uravnava bujnost rasti in vpliva na pravočasno dozorevanje lesa, sočasno pa pospešuje tudi cvetenje, oplojevanje in zorenje plodov. Količina fosforja v rastlini se med rastjo spreminja, odvisno od letnega časa. Največ ga rastlina vsebujejo junija, najmanj pa septembra. Dostopnost fosforja v tleh je močno odvisna od reakcije tal (pH) (Jazbec in sod., 1995).

Jablane imajo globoke korenine in so sposobne absorbirati fosfor iz globljih plasti tal, kjer pa je težko izvajati teste vsebnosti in natančno določiti, koliko fosforja si lahko drevo priskrbi samo in koliko ga je potrebno dodati. Fosforja ni priporočljivo dodajati v zgodnjem obdobju rasti.

Kalij (K) je v vseh organih sadnega drevja, predvsem v rodnih vejah, listih in plodovih. Na splošno velja, da potrebuje sadno drevje precej kalija (K_2O). Količina kalija se v rastlini spreminja glede na razvoj njenih organov. Več kalija vsebujejo manjši deli rastline, v starejših ga je manj. Kalij sodeluje pri nastajanju beljakovin in skladiščenju ogljikovih hidratov, uravnava rast korenin in ugodno vpliva na debelino, barvo in kakovost plodov (Jazbec in sod., 1995).

Del Fabro (2004) navaja, da kalij omogoča asimilacijsko dejavnost klorofila, vpliva na velikost, barvo in kakovost plodov, ter sodeluje pri tvorbi beljakovin, ogljikovih hidratov in sladkorja.

Kalcij (Ca) je izredno pomemben za pridelavo kakovostnega sadja, ki dolgo zdrži v skladišču. Že neznatni primanjkljaji kalcija povzročajo labilne celične stene in fiziološke motnje v plodovih. Za oskrbo s kalcijem uporabljamo predvsem apnena gnojila ($CaCO_3$). Ta predvsem zvišujejo pH vrednost v tleh, pa tudi izboljšujejo in ohranjajo strukturo tal. (Lind in sod., 2001).

Posledica pomanjkanja kalcija v plodovih je resen problem sodobnih gostih nasadov oz. modernih kultivarjev, pojavijo se razne fizioloških bolezni. Najbolj utečen agrotehnični ukrep za doseg zadostne koncentracije kalcija v plodovih je foliarno gnojenje z raztopino kalcijevega klorida (Muršec in sod., 2004).

Žveplo (S) vpliva na dihanje ter nastanek beljakovin, encimov in hormonov in izboljšuje simbiotsko fiksacijo N pri metuljnicah.

2.5.1.2 Mikroelementi

Mikrohranila ali mikroelementi, so tista rastlinska hranila, ki so nujna za razvoj, vendar jih rastline potrebujejo v zelo majhnih količinah. Ta hranila so bor (B), mangan (Mn), baker (Cu), cink (Zn), molibden (Mo), ter železo (Fe). Za nekatere rastline koristni, vendar ne nujno potrebni, so natrij (Na), klor (Cl) in silicij (Si). Rastline vsebujejo tudi druge elemente kot so kobalt (Co), jod (J), selen (Se), ki jih nujno potrebujemo ljudje, rastline same pa ne.

Ne glede na to, ali potrebujejo rastline navedena hranila v velikih ali majhnih količinah (preglednica 3), so vsa nujno potrebna za rast in razvoj rastlin in nobenega izmed njih ne sme manjkati, sicer rastline ne morejo normalno rasti, posledično ne dosegamo zaželenih pridelkov. Z mikrohranili gnojimo le tedaj, če s pomočjo kemične analize tal ali rastlin oziroma po izgledu ugotovimo, da jih v tleh oziroma v rastlinah primanjkuje (Mihelič in sod., 2010).

Preglednica 3: Razmerje med elementi (hranili) glede na pomanjkanje in presežke v rastlini (Mihelič in sod., 2010)

Element (hranilo)	Stanje v rastlini	Vidni znaki
Dušik	pomanjkanje	Svetlo rumeni do zeleni listi, posebej stari, zaostajanje rasti, slab razvoj ploda
	presežek	temno zeleni listi, zelo občutljivi za sušo in napad bolezní ter škodljivcev, slaba rodnost, plodovi slabe kakovosti, skladiščna sposobnost je slabša
Fosfor	pomanjkanje	listi se obarvajo rdečkasto, zastajanje rasti, zastoj v delitvi celic in v razvoju ploda
	presežek	antagonizem z mikroelementi, posebej z železom in cinkom
Kalij	pomanjkanje	stari listi se obarvajo rumeno ob listnem robu in ob hudem pomanjkanju se rob posuši, slaba kakovost plodov, nepravilni razvoj ploda
	presežek	antagonizem z magnezijem in s kalcijem
Kalcij	pomanjkanje	zmanjšana rast in propad rastnih vršičkov, fiziološke motnje v razvoju ploda, slabša skladiščna sposobnost
	presežek	antagonizem z magnezijem in s kalijem
Magnezij	pomanjkanje	rumenenje tkiva med listnimi žilami starejših listov, ki se širi na mlajše liste, moten razvoj plodov in majhni pridelki
	presežek	antagonizem s kalcijem in kalijem, ki zmanjšuje rast
Žveplo	pomanjkanje	podobni znaki kot pri pomanjkanju dušika, le da se najprej razvijejo na mladih listih
	presežek	lahko povzroči predčasno odpadanje listov
Železo	pomanjkanje	začetno rumenenje ali bele lise med žilami mladih listov, ki kasneje odmrejo
	presežek	bronasti sijaj listov z drobnimi rjavimi pikami
Mangan	pomanjkanje	rumenenje med žilami mladih listov
	presežek	starejši listi imajo rjave pege, ki jih obkroža klorotično tkivo
Cink	pomanjkanje	zmanjšana velikost listov in medžilno rumenenje mladih listov
	presežek	lahko povzroči pomanjkanje železa pri nekaterih sadnih vrstah
Bor	pomanjkanje	odmiranje rastnih vršičkov, deformacije listov s klorotičnimi območji
	presežek	rastni vršički postanejo rumeni, kasneje lahko odmrejo, listi so izredno majhni in rozetno razporejeni, ki pozneje odpadejo

2.6 JABLANA (*Malus domestica* Borkh.)

Zaradi naravnih danosti kot so klima in tla, je Slovenija primerna dežela za pridelovanje sadja, v največji meri jabolk. Pri jablanah je najbolj zastopana sorta 'Idared' z 27,9 %, sorta 'Jonagold' 17,7 %, v mlajših nasadih pa prevladujejo sorte 'Gala', 'Fuji' in 'Breaburn'. Jablana najbolje uspeva na globokih, zračnih, peščeno-ilovnatih tleh, ki so dobro propustna za vodo. Na lahkah ali plitvih tleh uspeva le z namakanjem. Ugajajo ji zmerno kislá tla (pH 5,5-6,5) in zmerno vlažnih tleh bogatih s hranili in humusom. Brez večjih posledic prenese zimske temperature do – 25 °C ter do 35 °C v poletnem času (Štampar in sod., 2009).

2.6.1 Kakovost ploda jabolane

Kakovost je odvisna od notranjih in zunanjih lastnosti ploda. Pojem kakovosti pomeni stopnjo odličnosti nekega pridelka in njegovo primernost za določen namen in obsega senzorične lastnosti (videz, aroma, tekstura, okus), hranilno vrednost, kemijske sestavine, mehanske lastnosti in funkcionalne lastnosti (Abbott, 1999).

Dobra kakovost in skladiščna sposobnost jabolk je pogojena z uravnoteženo mineralno prehrano drevesa, na katero vplivajo različni dejavniki, kot so talne in klimatske razmere, genetski potencial, aktivnost koreninskega sistema, obremenjenost drevesa, čas obiranja, agrotehnični ukrepi itd. (Muršec in sod., 2004).

Ocenjevalni kriteriji temeljijo predvsem na velikosti plodov in čim večjem deležu krovne barve. Dobro obarvan plod ni prijeten le na pogled, temveč je tudi pokazatelj dobre jedilne kakovost in hranilne vrednosti (Hohn, 1990).

Jakopič in sod. (2011) navajajo, da ima ekološko pridelano sadje nižjo maso kot integrirano sadje, kot tudi večjo čvrstost in manj zelene barve na koži ploda.

Zaradi različnih sposobnosti sprejema in transporta posameznih elementov, prihaja pri jablanah pogosto do motenj mineralnega ravnovesja, ki ima za posledico pojav različnih fizioloških boleznih plodov. Pri tem ima najbolj odločilno vlogo kalcij (Muršec in sod. 2004).

2.6.2 Notranje lastnosti plodov

2.6.2.1 Kemijska sestava jabolk

V grobem lahko kemične snovi v sadju razdelimo na anorganske in organske. Prve tvorijo voda, plini (CO₂, O₂, in N₂) in mineralne snovi. K organskim pa uvrščamo ogljikove hidrate, organske kisline, pektinske snovi, aminokisline, proteine, lipide, aromatične snovi, vitamine in rastlinske pigmente kamor spadajo klorofil, karotenoidi, antociani (Gvozdenović, 1989).

Preglednica 4: Kemijska sestava jabolk in jabolčnega soka v 100 g (Hribar in Plestenjak, 1993)

Sestavina	jabolko	jabolčni sok
Voda	84,0 g	87,1 g
Beljakovine	0,3 g	0,1 g
Maščobe	0,4 g	/
Pepel	0,29 g	0,25 g
Ogljikovi hidrati	14,9 g	12,5 g
Surova vlakna/dietne vlaknine	1,0 g	/
		Se nadaljuje...

Nadaljevanje preglednice 4: Kemijska sestava jabolk in jabolčnega soka v 100 g (Hribar in Plestenjak, 1993)

Sestavina	jabolko	jabolčni sok
Minerali		
Kalcij	6 mg	3 mg
Fosfor	10 mg	6 mg
Železo	0,3 mg	0,09 mg
Baker	0,1 mg	/
Vitamini		
A	90 I.U.	/
B1	0,04 mg	0,01 mg
B2	0,02 mg	/
Nikotin amid	0,2 mg	0,1 mg
C	5 mg	2 mg

Voda

Jabolka vsebujejo povprečno 85 % vode. Količina vode v plodovih niha in je odvisna od razpoložljivosti vlage v tleh, temperaturnih nihanj in drugih razmer, ki vplivajo na plod pred obiranjem. Velik delež vode je zaželen z vidika količine pridelka, po drugi strani pa je lahko razlog, da so plodovi bolj dovzetni za povečano transpiracijo in bolj občutljivi za mikrobiološke bolezni in mehanske poškodbe (Gvozdenović, 1989).

Ogljikovi hidrati

Ogljikovi hidrati nastajajo v zelenih delih rastlin pri procesu fotosinteze in se shranjujejo v plodovih. Med 12–15 % jabolka predstavljajo ogljikovi hidrati, največji del tega predstavljajo skupaj sladkorji z nizko molekulsko maso, od tega več kot polovico fruktoza, sledita ji glukoza in saharoza. Sladkorji so pomemben del v sadežih in predstavljajo glavnino suhe snovi, njihova vsebnost je odvisna predvsem od klimatskih pogojev, kot tudi njihovega položaja na drevesu (Gvozdenović, 1989).

Ostali del ogljikovih hidratov predstavljajo polimeri z visoko molekulsko maso (škrob, celuloza, hemiceluloza, pektinske snovi ...), ki so večinoma neprebavljivi, zato med prehajanjem skozi črevesni trak izboljšujejo njegovo peristaltiko. Zeleni plodovi vsebujejo povečini škrob, ki služi kot rezervna snov, med zorenjem se hidrolizira z encimi v enostavne sladkorje (fruktoza, glukoza in saharoza) in šele tedaj postanejo plodovi užitni. Največjo vsebnost škroba doseže plod mesec dni pred dozorelostjo, nato začne padati (Gvozdenović, 1989).

Mineralne snovi

Jabolka vsebujejo 3,2 % mineralov (Štampar in sod. 2009). Od rudnin vsebujejo veliko kalija, kalcija, magnezija, fosforja, železa, v manjših količinah pa zasledimo tudi baker, mangan in cink. V plodovih sadnih dreves so različne kovine in nekovine, ki so vezane na organske kisline. Makroelementi imajo pomembno vlogo v izmenjavi snovi, povečujejo pa tudi odpornost proti boleznim, ter njihove transformacije v plodovih, rast plodov, pospešujejo fotosintezo in nastajanje vitaminov (Gvozdenović, 1989).

Deleži mineralov v sadju so se v povprečju zadnjih desetletjih znižali, kot navajata Hribar in Vidrih (2009) predvsem zaradi pridelave drugih kultivarjev, povečanega deleža uvoženega sadja iz območij drugačnih pedoklimatskih pogojev, uporabe zaščitnih sredstev, mineralnih gnojil, nižje vsebnosti komposta v zemlji, gojenja v sistemih brez zemlje.

Proteini

Proteine, ki so sestavljeni iz različnih aminokislin (AK), najdemo v večini sadnih plodov od 0,3 do 2 % sveže mase, nekatere vrste pa jih vsebujejo tudi 12 do 18 % (npr. oreh, mandelj in lešnik). Najbolj pogoste AK so arginin, asparagin in glutamin ter njihove kisline asparaginska in glutaminska kislina. Kljub njihovim relativno majhnim koncentracijam, so zelo pomembni kot sestavina jedra in citoplazme, kot tudi encimov, ki sodelujejo v metabolizmu plodov med rastjo in zorenjem (Gvozdenović, 1989).

Organske kisline

Organske kisline dajejo sadju značilen okus. V jabolku prevladuje jabolčna kislina (0,3 - 0,9 %), prisotni sta tudi citronska in vinska kislina. Nahajajo se v celični tekočini v obliki soli, estrov, glukozidov in imajo velik vpliv pri metabolizmu plodov (Gvozdenović, 1989). Pomembno funkcijo imajo pri fotosintezi, celičnem dihanju, za sintezo nekaterih sestavin fenolov, lipidov, hlapnih arom, aminokislin, itn.

Druge organske kisline, ki jih najdemo v sadju v manjših količinah prištevamo med aromatične snovi (Štampar in sod. 2009), poleg estrov, alkoholov, aldehydov in ketonov. Čeprav je količina teh aromatičnih snovi zelo majhna, je zelo značilna za vsako sadno vrsto in celo za sorto (Gvozdenović, 1989). Okus označujejo razmerje in količina sladkorjev in kislin ter aromatičnih snovi. Izraženost arome je razen od sorte odvisna tudi od stopnje zrelosti plodov, podnebnih in talnih razmer, podlage, starosti in zdravstvenega stanja drevesa (Viršček Marn in Stopar, 1998).

Stopnja zrelosti plodov je pogosto povezana s količino organskih kislin ali pri jabolku z razmerjem med vsemi sladkorji in vsemi kislinami. Najvišjo skupno količino kislin jabolko doseže na polovici rasti, kasneje se z zorenjem količina zmanjšuje, ker so intenzivneje

udeležene v metabolnih procesih in zaradi konverzije v sladkorje. Obenem, ko se spreminja skupna količina kislin, se spreminja tudi pH vrednost soka v jabolku. Po obiranju se skupna količina kislin zmanjšuje relativno hitreje kot količina sladkorjev (Gvozdenović, 1989).

Vitamini

Vitamini so biološko aktivne snovi, ki jih človeški organizem pretežno ne more tvoriti, zato jih mora dobiti s hrano. So nujno potrebni za normalno rast in vzdrževanje celičnih funkcij. Pomembno vplivajo na človekovo telesno odpornost, v zelo majhnih količinah pa so nujno potrebni za pravilen razvoj, zgradbo in delovanje vseh telesnih tkiv in organov (Stangl, 2011).

Največji delež vitaminov v jabolku predstavlja vitamin C (askorbinska kislina), vitamin E, prisotni so tudi nekateri vitamini B skupine, kot so tiamin (B1), niacin (B3), pantotenska kislina (B5) in piridoksin (B6) ter nekateri drugi.

Askorbinska kislina, kot močen reducent, ki je topen v vodi, ščiti druge antioksidante, celo nekatere topne v maščobah. Zaradi svoje občutljivosti na kemijsko in encimsko oksidacijo je askorbinska kislina hkrati dober pokazatelj svežine živila. Najbolj poznana vloga vitamina C je preprečitev in zdravljenje skorbuta (Golob, 2000).

2.6.2.2 Bioaktivne snovi

Vse več raziskav je usmerjenih v proučevanje vsebnosti bioaktivnih snovi v rastlinskih pridelkih. Pri tem se še posebno veliko zanimanja namenja naravnim antioksidantom, in to predvsem zaradi njihovega varovalnega učinka, saj zavirajo razvoj mnogih kroničnih bolezni, ki jih povzročajo prosti radikali (Kreft in sod., 2000).

Antioksidanti

Rastlinska živila, kot so sadje in vrtnine so bogat vir antioksidantov. V njih je cela paleta antioksidantov, ki delujejo na različne načine in se med seboj sinergično dopolnjujejo (Hribar in Simčič, 2000).

Antioksidanti zaščitijo živilo pred oksidanti, s katerimi hitro reagirajo in tako preprečijo nastanek neželenih oksidacijskih produktov. Oksidanti so vse snovi, ki reagirajo s kisikom, še preden ta oksidira določeno komponento živila (Rudan-Tasič, 2000). Oksidativni stres se v bioloških sistemih pokaže, če je bil sistem dalj časa izpostavljen oksidantom ali če je prišlo do zmanjšanja antioksidativne sposobnosti (Abram, 2000).

Obstojata nekaj tisoč aktivnih snovi, ki na različne načine prispevajo k skupnemu antioksidativnemu potencialu živila. Visoka vsebnost endogenih antioksidantov je osnovni pogoj za ohranjanje primerne kakovosti in prehranske vrednosti sadja, primeren videz in obstojnost barve živila, ter dobro skladiščno sposobnost. Predelava ali daljše skladiščenje lahko bistveno vplivata na zmanjšanje ali povečanje antioksidativnih lastnosti živila, predvsem pa je hitrost procesov odvisna od pogojev, kot so temperatura, vodna aktivnost (a_w), pH, dostopnost kisika (Hribar in Simčič, 2000).

Med antioksidante prištevamo askorbinsko kislino (vitamin C), tokoferole (vitamin E), karotenoide, flavonoide, katehine in terpeno, ter nekatere derivate fenola, žveplovo 6 kislino in sulfate. Za dnevni vnos naj bi svetovali 1 g/dan antioksidantov v prehrani odraslega človeka, kar je približno 10-krat višja vrednost od vnosa C vitamina (Rudan-Tasič, 2000).

Antioksidativni potencial je posledica vsebnosti polifenolov, nekaterih flavonoidov (flavonov, izoflavonov, flavononov, antocianov, katehina in izokatehina) in v manjši meri vitaminov (Vidrih in Kač, 2000).

Fenolne snovi

Fenolne spojine imenujemo vse tiste, ki imajo najmanj en aromatski obroč in najmanj eno hidroksilno skupino ($-OH$) vezano na aromatski obroč. Običajno so v naravi spojine z več hidroksilnimi skupinami, zato se je za njih uveljavilo tudi drugo ime polifenoli (Abram in Simčič, 1997).

Zaradi pestrosti in razširjenosti so rastlinski fenoli ena izmed najpomembnejših skupin naravnih antioksidantov. Obstaja več načinov delitev, vendar se največkrat uporablja razdelitev fenolnih spojin po številu C atomov v molekuli. Osnovni obroč je vedno sestavljen iz 6 C atomov (C_6), na katerega je lahko vezanih od 1 do 4 C atomov (C_1 , C_2 , C_3 , C_4) na katere je dodatno lahko vezan naslednji obroč s 6 C atomi (C_6) (Abram, 2000).

Ena najpomembnejših funkcij polifenolov je, da lahko ščitijo rastline pred napadi virusov, bakterij, kvasovk in tudi rastlinojedih organizmov. Sintezo antioksidativnih zaščitnih snovi pri rastlinah sprožijo ultravijolični žarki, če je žarkov več, poteka gensko zasnovana sinteza bolj intenzivno in se nakopiči več sekundarnih metabolitov (Kreft in sod., 2000).

Fenolne snovi so naravni sekundarni metaboliti, ki vplivajo na notranjo in zunanjo kakovost plodov. Med sadnimi vrstami, sortami in celo kloni znotraj sorte, fenolne snovi precej variirajo, prav tako se razlike v vsebnosti pojavijo med različnimi organi in tkivi. Zunanja tkiva plodov ali semen vsebujejo praviloma večje vsebnosti kot celice v plodu. Na sintezo fenolov pomembno vplivajo agrotehnični ukrepi in okoljski dejavniki, dodatno pa je sinteza stimulirana ob poškodbi tkiva ali pa ob okužbi z glivami (Veberič in sod., 2008).

Delitev polifenolov (Hribar in Vidrih, 2001):

- hidroksibenzojske kisline (klorogenska kislina v aroniji in slivah, elagična kislina v jagodah);
- flavani (katehin in epikatehin v zelenem čaju in jabolkih);
- antocianidni (cianidin v križancih med malino in robido in v bezgovih jagodah, malvidin v rdečem grozdju);
- dihidrokalkoni (florizdin v jabolkih);
- flavononi (hesperidin, naringin, eriocitrin v citrusih);
- flavonoli (kvercetin v kutini in bezgu, miricetin v brusnicah);
- resveratrol (v rdečih vinih in grozdnem soku).

Nekateri fenolni antioksidanti lahko v večjih količinah delujejo celo kot prooksidanti. Trpek oziroma astringenten okus nam pove, da določeno živilo vsebuje velike količine fenolnih snovi (Hribar in Simčič, 2000). Poleg antioksidativnega učinka naj bi fenolne snovi tudi zmanjševale nevarnost rakavih obolenj, bolezni srca in ožilja, ter drugih bolezni sodobnega časa (Veberič in sod., 2008).

Fenolne snovi v jabolkih

Pri ekološkem sadjarstvu, kjer so odsotni sintetični pesticidi, ima rastlina posledično večjo izpostavljenost stresnim situacijam, kar vodi k povečanju naravnih obrambnih snovi. Biosinteza fenolov v sadju je dodatno simulirana ob poškodbah tkiva ali ob napadu patogenov (Veberič in sod., 2008).

Kot navajajo Simčič in sod. (2001) so glavni polifenoli v lupini jabolk: kvercetin glikozidi, epikatehini in procianidini. Velike vsebnosti katehinov in predvsem procianidinov dajejo trpek in nekoliko grenak okus. Kot posledica poškodb celic v plodu zaradi otiskov, mehanskih poškodb, mraza ali kot posledica staranja prihaja z encimsko oksidacijo fenolov do porjavenja mesa, delno se spremeni tudi okus (Štampar in sod., 2009).

Jabolka so v našem okolju izmed vsega sadja najbolj razširjena in večini prebivalstva najbolj dostopen sadež. Čeprav vsebujejo v primerjavi z drugimi vrstami, kot so borovnice ali jagode manj antioksidantov, se vedno bolj izkazuje, da je verjetno njihov ugoden vpliv posledica zmanjšanja oksidacijskega stresa v telesu (Salobir in sod., 2008).

Vsebnost fenolnih snovi v jabolkih je od 0,7 do 1,8 g/kg sveže mase (Štampar in sod., 2009). Veberič in sod. (2005) pa ugotavljajo, da vsebuje lupina jabolk tudi do 100 krat več fenolov v primerjavi s pulpo jabolk, kar kaže na velik pomen lupine in njenih zaščitnih snovi. Največ fenolnih snovi je v tropinah, preostanku po stiskanju soka. V običajnem jabolčnem soku je le 5 - 10 % flavonoidov (Hribar in Simčič, 2000).

Največja skupina fenolnih spojin so antociani. Kot znani antioksidanti v telesu inaktivirajo proste radikale. Njihove glavne funkcije v naravi so privabljanje oprasovalcev, odganjanje invazivnih vrst živali in zaščita fotosintetskega sistema pred premočno svetlobo. Antociani so topni v vodi, prisotni so v vakuolah in dajejo intenzivno oranžno, rdečo, vijolično, škrlatno in modro barvo cvetnih listov in sadežev. Običajno so v kožici plodov, pri nekaterih vrstah sadja pa v parenhimu. Prav tako jih je možno zaznati v koreninah, steblih in listih. Med zorenjem se antociani polagoma razkrajajo, tik pred koncem zorenja pa se prične njihova vsebnost naglo povečevati. Rdeča barva jabolk nekaterih sort je cenjena sortna lastnost, zato z obiranjem čakamo, da se nabere največja količina antocianov (Gvozdenović, 1989).

Vrhovšek (2001) v svoji raziskavi ugotavlja, da se v sortah jabolk, ki imajo rdečo lupino, nahajajo antociani v koncentraciji 83-156 mg/kg, od tega velik delež prispeva lupina, manj pa meso. Tvorijo se predvsem na sončni strani plodov, pri tem ima pomembno vlogo razlika med dnevno in nočno temperaturo, večja kot je, več se jih tvori in večja površina plodov bo obarvana rdeče (Vidrih in Hribar, 2002).

Dušik ima velik vpliv pri obarvanosti plodov in vsebnosti antocianov, karotenoidov, ter klorofila v plodovih jablane. Prekomerno gnojenje z dušikom povzroča manjšo obarvanost plodov (Šuvak, 2013).

Maščobne kisline

Lipidi predstavljajo manj kot 1 % sveže mase plodov sadnih vrst. Ne glede na nizko vsebnost, imajo v sadju pomembno funkcijo varovanja kutikule in celične membrane pred izgubo vode (Gvozdenović, 1989). Maščobe so ena izmed treh biološko najpomembnejših vrst makromolekul. Prisotne so v vseh živih organizmih in imajo pomembno vlogo tako v živalskem kot tudi v rastlinskem svetu. V bioloških membranah ločujejo celice od zunanjega sveta, so tudi njihov glavni vir energije in imajo še ostale pomembne vloge v živih organizmih kot antigeni, receptorji, senzorji, električni izolatorji in kot biološki detergenti (Klofutar, 1992). Z maščobami, kot bogatimi energijskimi hranili, zagotavljamo 20-30 % dnevnih potreb po energiji, pa tudi ustrezno količino v maščobah topnih vitaminov A, D, E, K, ter esencialnih maščobnih kislin (Požar in Pukšič, 2003).

V jabolku imajo maščobne kisline pomembno vlogo pri sintezi arom, ker je le teh več v tkivu kože kot v mesu plodu. Arome nastanejo z metabolnimi procesi iz maščob in beljakovin. Maščobne kisline so biološke molekule, ki vsebujejo polarno karboksilno skupino (-COOH) vezano na nerazvejano alifatsko verigo. Posledično imajo dvojno naravo; karboksilna skupina daje polaren, včasih celo ionski naboj, ogljikova veriga pa nepolarne lastnosti. Število C-atomov v maščobni kislini je lahko od 4 do 36 (Boyer, 2005).

Najpomembnejša komponenta prehranskih maščob so maščobne kisline, te so lahko nasičene, mononasičene (enkrat nenasičene) ali polinenasičene (večkrat nenasičene), ki jim pravimo tudi esencialne, ker jih človeški organizem ne more proizvesti sam (Referenčne vrednosti, 2004).

Preglednica 5: Maščobnokislinska sestava v plodu jabolka (Souci in sod., 2000)

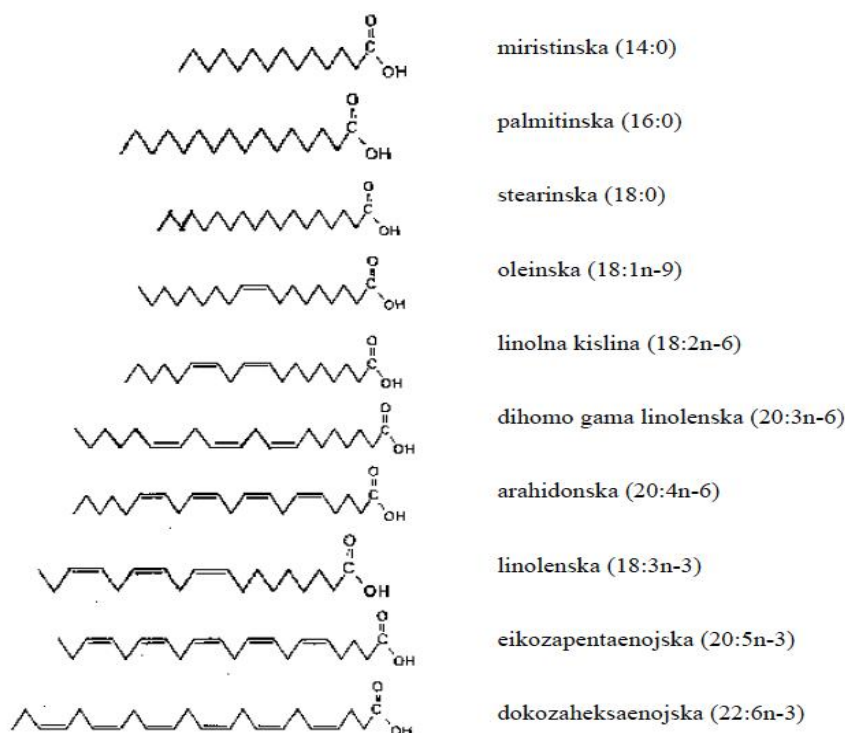
Maščobne kisline	Sveže jabolko (količina/100 g)
Nasičene maščobne kisline	210 mg
Enkrat nasičene maščobne kisline	11 mg
Večkrat nasičene maščobne kisline	220 mg

Esencialne maščobne kisline

Esencialne maščobne kisline ali njihovi derivati so maščobne kisline, ki so potrebne za splošno delovanje organizma, slednji pa jih ne more sintetizirati v zadostnem obsegu, zato jih moramo v telo vnesti s prehrano. Pravi esencialni maščobni kislini sta linolna (C18:2, n-6) in α -linolenska (C18:3, n-3), pogojno esencialne maščobne kisline pa so derivati esencialnih maščobnih kislin – arahidonska (C20:4, n-6), dokozaheksaenojska DHA (C22:2, n-3) in eikozapentanojska EPA (C20:5, n-3) maščobna kislina. Glavni vir večkrat nenasičenih maščobnih kislin, med katere uvrščamo n-3 in n-6 (omega-3 in omega-6) maščobne kisline, so rastlinska olja. Razmerje med tema dvema tipoma kislin naj bi bilo med 5 : 1 in 10 : 1 v prid n-6 (Referenčne vrednosti, 2004).

Maščobe, bogate z n-3 maščobnimi kislinami, se uveljavljajo kot funkcionalna živila. Uživanje te skupine kislin namreč učinkovito niža raven serumskih trigliceridov, preprečuje arteriosklerotične zaplete in preventivno učinkuje proti kancerogenim obolenjem (Cevc, 2003).

Svetovna znanstvena organizacija (WHO, 2003) priporoča, naj bi bilo zaužitih večkrat nenasičenih maščobnih kislin do 7 % celotne energije, zaradi hitre oksidacije maščobnih kislin in nastajanja prostih radikalov. Preostali delež naj bi zajemale enkrat nenasičene maščobne kisline, ki počasneje oksidirajo in znižujejo raven skupnega in LDL-holesterola (lipoproteinov nizke gostote) ter zvišujejo raven HDL holesterola (lipoproteinov visoke gostote).



Slika 2: Strukturne formule nasičenih, n-9, n-6 in n-3 maščobnih kislin (Salobir, 2001)

2.6.3 Barva povrhnjice in parametri zrelosti

Barva plodov, predvsem delež krovne barve, je močno odvisen od podnebja, vremena, podlage, starosti drevesa, načina gojenja in oskrbe, pridelka in osončenosti plodu v krošnji. Obarvanost plodov se torej močno razlikuje med legami, nasadi, še posebno pa med različnimi podnebnimi območji (Viršček Marn in Stopar, 1998). Plodovi jablan rastejo po opravitvi do šest mesecev, v tem času se v lupini spreminja koncentracija antocianov, ki je dober pokazatelj zrelosti. Formiranje antocianov ob koncu rastne dobe je sortno pogojena lastnost (Lancaster in sod., 1994).

Določanje optimalnih rokov obiranja je kombinacija parametrov zrelosti, ki so istočasno tudi parametri kakovosti jabolk. Kakovost sadja določajo predvsem teža, čvrstost in barva plodov. Potrošniki želijo jabolka z visoko vsebnostjo sladkorja, z močno izraženo aromo in primerno trdoto mesa. Kot navaja Hohn (1990) je trdota mesa plodov eden zmed najpomembnejših kriterijev kakovosti jabolk in se jo uporablja kot merilo zrelosti.

Čvrstost se z zorenjem konstantno zmanjšuje in je odvisna od sestave celičnih sten, količine pektinov, celuloze in hemiceluloze, kot tudi od količine sladkorjev. V procesu dozorevanja plodov se škrob pretvarja v sladkor, del netopnega pektina pa se spremeni v topnega, kar povzroča mehčanje tkiva (Gvozdenović, 1989). Na trdoto mesa jabolk

vplivajo tudi genetski in rastni faktorji, oskrba z minerali, zrelost pri obiranju in način skladiščenja (Hohn, 1990).

Velikost plodov je značilnost sorte, na katero močno vplivajo dejavniki okolja, kot so talne in podnebne razmere, oskrba, gojitvena oblika, podlaga, oprasha valna sorta, zdravstveno stanje, starost, predvsem pa obloženost dreves oziroma količina pridelka (Viršček Marn in Stopar, 1998).

2.7 STABILNI IZOTOPI LAHKIH ELEMENTOV

Izotopi so atomi istega elementa, ki se med seboj razlikujejo po masi. Kemijsko gre za elemente, ki imajo v jedru enako število protonov, število nevtronov pa se razlikuje. V naravi obstajata dve vrsti izotopov, to so t.i. stabilni in radioaktivni izotopi. Njihova koncentracija se spreminja zaradi radioaktivnega razpada radioaktivnih izotopov oz. naravne frakcionacije stabilnih izotopov (Vrzel in Ogrinc, 2009).

V naravi so kemijski elementi navzoči v obliki naravnih stabilnih izotopov, med njimi so najpomembnejši: kisik (O), vodik (H), ogljik (C), dušik (N) in žveplo (S), ki sestavljajo lito-, hidro-, atmo- in biosfero. Če se osredotočimo le na uporabo stabilnih izotopov C in N, je razvidno da ima ogljik dva stabilna izotopa ^{12}C in ^{13}C , dušik v naravi pa najdemo v stabilnih oblikah ^{14}N in ^{15}N (Preglednica 6; Rossmann, 2001).

Izotopsko sestavo lahkih elementov (razmerje med deležem težjega in lažjega izotopa) v spojini izražamo z vrednostjo, ki predstavlja relativno razliko izotopske sestave raziskovanega vzorca glede na izbrani standard, izražamo z delta (δ) in z vrednostmi v promilih (‰).

Izotopsko sestavo vzorca (δ) izražamo kot relativni odklon od mednarodno določenega standarda:

$$\delta X[\text{‰}] = \left(\frac{R \text{ vzorec}}{R \text{ standard}} - 1 \right) \times 1000 \quad \dots (1)$$

V zgornji enačbi X pomeni težji izotop elementa (^{13}C , ^{15}N), R pa predstavlja relativno razliko razmerij med težjim in lažjim izotopom v vzorcu in standardu ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$).

Pomen vrednosti rezultata:

$\delta > 0$ (+) – težkega izotopa je več v vzorcu kot v standardu

$\delta < 0$ (-) – težkega izotopa je manj kot v standardu

Mednarodn standarde določa mednarodna agencija za atomsko energijo (IAEA) na Dunaju in Nacionalni inštitut za standarde in tehnologijo (NIST). Za ogljik je privzet karbonatni standard fosila PDB (Vienna Pee Dee Belemnite), za dušik pa je privzet standard

atmosferski zrak (AIR). Izbrani so tako, da imajo izotopska razmerja čim bolj podobna povprečni razširjenosti določenega izotopa v naravi (Pezdič, 1999; Ghidini in sod., 2006).

Preglednica 6: Porazdelitev stabilnih izotopov C in N v naravi (Rossmann, 2001)

Element	Izotop	Količina (ut %)	Standard	R _{standard} (%)
Ogljik	¹² C	98,892	V-PDB	1,122 x 10 ⁻²
	¹³ C	1,108		
Dušik	¹⁴ N	99,634	AIR	3,613 x 10 ⁻³
	¹⁵ N	0,366		

2.7.1 Porazdelitev v naravi in možnosti frakcionacije

Frakcionacija stabilnih izotopov je vsaka sprememba v porazdelitvi stabilnih izotopov istega elementa, ki je posledica kemijskih ali fizikalnih procesov. Pojavi se pri reakcijah izotopske izmenjave, kjer se izotopi razporedijo med različne molekule. V vsaki fizikalni, kemijski, fiziološki in biokemijski transformaciji pride do izotopske frakcionacije. Difuzija svetlobe in izotopov z različno težo v rastlino je odvisna od njene vrste in geoklimatskih razmer. Rastlina proizvaja nektar z izotopsko sestavo, na katero vplivajo okolje in leto nastanka (klimatološka frakcionacija), raznolikost med posameznimi vrstami (fiziološka frakcionacija) in vrsta fotosinteze, ki jo rastlina uporablja za sintezo ogljikovih hidratov (biokemijska frakcionacija) (Martin, 1990).

Pojem frakcionacija izraža različno porazdelitev izotopov med reaktante (*R*) in produkte (*P*), ki med reakcijo nastanejo. Izotopski efekt izražamo tudi s faktorjem izotopske frakcionacije, ki ga označujemo z α :

$$\alpha = \frac{R_R}{R_P} \quad \dots (2)$$

Frakcionacijski faktor (α) je razmerje izotopskih razmerij (*R*) v dveh fazah, pri čemer je R_R razmerje težjega izotopa in vsebnosti lažjega izotopa istega elementa v fazi *R* (reaktantov), R_P pa razmerje istih izotopov v fazi *P* (produktov).

Vrednost α lahko izrazimo tudi neposredno iz vrednosti δ , ki smo ju izmerili v dveh fazah:

$$\alpha_{R-P} = \frac{1000 + \delta R}{1000 + \delta P} \quad \dots (3)$$

δR in δP sta izotopski sestavi *R* (reaktanta) in *P* (produkta) in predstavljata relativno razliko v izotopski sestavi med analiziranim vzorcem in standardom podano v enačbi (1) (Martin, 1990).

Kinetični izotopski efekt je posledica različnih vibracijskih nivojev vezi, atomi lažjega izotopa vibrirajo z višjimi frekvencami, zato so z drugimi atomi vezani šibkeje, kot težji izotopi in tako reagirajo hitreje. Velika kinetična frakcionacija je običajna v biološko kataliziranih reakcijah fotosinteze – nizka vrednost $\delta^{13}\text{C}$, ^{12}C se preferenčno vgrajuje v rastlinska tkiva. Večina biokemijskih reakcij favorizira lažji izotop. Negativna izotopska frakcionacija se kaže kot osiromašenje s težjim izotopom v produktu v primerjavi s substratom (Košir in sod., 2001).

Termodinamski izotopski efekt se odraža predvsem v fizikalnih procesih, kot so parni tlak, vrelišče, tališče ipd. in se pojavi med snovnim prenosom med dvema fazama (difuzija, izparevanje, kristalizacija,...). Tako termodinamski efekti kot tudi nekateri kinetični so odvisni od temperature (Košir in sod., 2001).

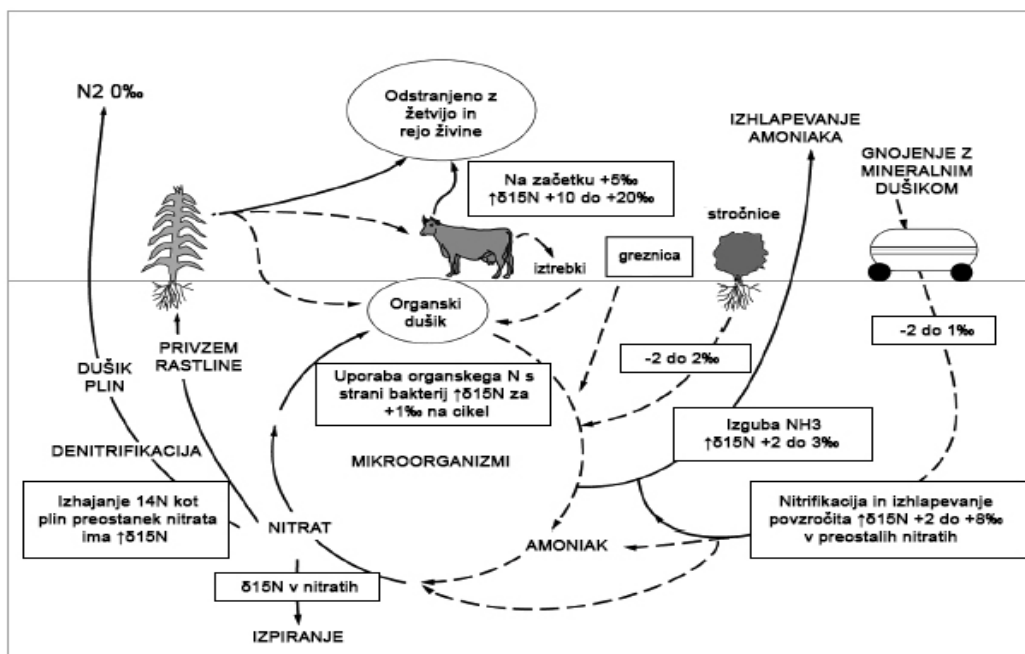
Razmerja stabilnih izotopov se uporablja za odkrivanje potvarjanja živil in ugotavljanje pristnosti ekološko pridelanih živil, ter identifikacijo geografskega porekla (najbolj uporabna parametra $\delta^{18}\text{O}$ in $\delta^2\text{H}$). Oporečnost določamo z metodami ki temeljijo na tako imenovanem izotopskem prstnem odtisu ali »fingerprintingu«, z njimi določamo tudi geografsko poreklo in leto proizvodnje izdelka. V kmetijskih pridelkih, zlasti listnati zelenjavi, izotopska sestava dušika do neke mere pripomore k potrjevanju organskega načina pridelave živil (Ogrinc, 2015).

2.7.2 Stabilni izotopi dušika, vplivi na njihovo porazdelitev

V naravi poznamo dva stabilna izotopa dušika (^{14}N in ^{15}N), s pomočjo katerih lahko sledimo migraciji hranila v sistemu tla - rastlina - podzemna voda. Dušikove spojine vsebujejo oba izotopa, vendar v različnih razmerjih, zaradi procesa frakcionacije. Med procesom fiksacije atmosferskega dušika s pomočjo mikroorganizmov (iz N_2 v NH_4^+) ne opazimo izrazite frakcionacije, v večji meri prihaja v vseh nadaljnjih pretvorbah dušika. V fotosintetskih organizmih poteka izotopska frakcionacija pri prevzemu določenega vira dušika (N_2 , NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) in povzroči izotopsko diskriminacijo med anorganskim in organskim virom dušika. Osnovni rezervoar dušika N_2 je atmosfera, kjer ima stalno izotopsko sestavo 0,3663 % dušikovega izotopa ^{15}N (Ghidini in sod., 2006). Mineralna gnojila se izdelujejo iz zračnega dušika $\delta^{15}\text{N}$ z vrednostjo 0 ‰ ($\delta^{15}\text{N}_{\text{zrak}} = 0$ ‰), najpogosteje se vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ gibljejo med -2 in 2 ‰ (Bateman in sod., 2007). Organska gnojila imajo zaradi različnega izvora (kompost, hlevski gnoj, kostna moka, morska trava, tropine) večji razpon $\delta^{15}\text{N}$ (+2 do +10 ‰) vrednosti od sintetičnih gnojil (Rogers, 2008). Živali se prehranjujejo z rastlinami, katerih vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ se odražajo z vrednostmi $\delta^{15}\text{N}$ tal, na katerih so uspevale. Pri vseh procesih se lažji izotop prednostno porablja, preostali trdni izločki pa postanejo obogateni s težjim izotopom. Z izločanjem z urinom se prednostno izloči lažji izotop dušika (^{14}N), zato trdni živalski izločki vsebujejo več težjega

izotopa (^{15}N). Hkrati pa se zaradi izhlapevanja amonija, denitrifikacije in bakterijskega delovanja podvrženi še dodatni obogatitvi s težjim duškovim izotopom.

Uporaba mineralnih gnojil zaradi mešanja med dušikom iz gnojila in dušikom iz tal povzroči znižanje $\delta^{15}\text{N}$ celotnega dušika v tleh, medtem ko uporaba organskih gnojil povzroči dvig $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti celotnega dušika v tleh (Rogers, 2008), posledično se to odraža tudi v rastlinah, ki s pomočjo teh gnojil uspevajo. Za N-fiksatorske rastline je značilno, da preko mikorize v tla vežejo zračni dušik, kar povzroči znižanje $\delta^{15}\text{N}$ celotnega dušika v tleh in v rastlini. Podoben vpliv ima gnojenje z rastlinskimi ostanki N-fiksatorskih rastlin (Šturm in Lojen, 2010). Nitrat, ki je nastal iz trdnih živalskih izločkov z $\delta^{15}\text{N}$ vrednostjo +5 ‰, zaradi omenjenih procesov lahko doseže $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti med +10 ‰ in +30 ‰ (Bateman in sod., 2007).



Slika 3: Biološki procesi in izotopske vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ (Heaton, 1986)

2.7.3 Stabilni izotopi ogljika, vplivi na njihovo porazdelitev

Rastline imajo tri fotosintetske presnovne poti glede na začetno vezavo CO_2 iz zraka in uporabe različnih encimov pri sintezi sladkorjev. Prva je skupina rastlin, imenovana C_3 , uporablja encim ribuloza-1,5-difosfat, v reakciji nastaja spojina, ki vsebuje 3 C-atome ogljika; te imajo raje lažji ogljikov izotop. Druga skupina rastlin, so rastline C_4 , ki uporabljajo encim fosfoenolpiruvat (PEP) karboksilazo za lažjo fiksacijo CO_2 in vodijo k tvorbi oksaloacetata, spojini s 4 C-atom. Ta proces ni reverzibilen in vodi k manjši diskriminaciji $^{13}\text{CO}_2$, posledično so C_4 rastline bolj obogatene in kopičijo več težjega

ogljikovega izotopa glede na produkte s C₃ ciklom (Guček in sod., 1998). Tretja kategorija rastlin ima Crassulean Acid Metabolizem (CAM), ki variira glede na funkcionalni tip. Vsi produkti rastlin (cvetovi, listje, les, ...) imajo značilnosti matične rastline. Vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ lahko služijo kot pokazatelji načina kmetijske pridelave (Jenkinson in sod., 1995).

Izotopska sestava rastlinskih tkiv (Pezdič, 1999; Flores in sod., 2007):

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_3, \text{rastline}} = -32 \text{ ‰ do } -23 \text{ ‰}$$

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_4, \text{rastline}} = -16 \text{ ‰ do } -10 \text{ ‰}$$

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{CAM}, \text{rastline}} = -20 \text{ ‰ do } -10 \text{ ‰}$$

$$\text{Izotopska sestava zraka: } \delta^{13}\text{C} = -8 \text{ ‰}$$

Kopenske rastline, ki uporabljajo zračni CO₂, kjer je difuzija hitrejša, bolj frakcionirajo ogljikove izotope kot morske in vodne rastline, ki uporabljajo v vodi raztopljeni CO₂ in HCO₃⁻. Reakcije so odvisne tudi od temperature – več frakcionacije je v hladni kot topli vodi. Učinek je tudi kinetični, saj je v topli vodi raztopljenega manj CO₂.

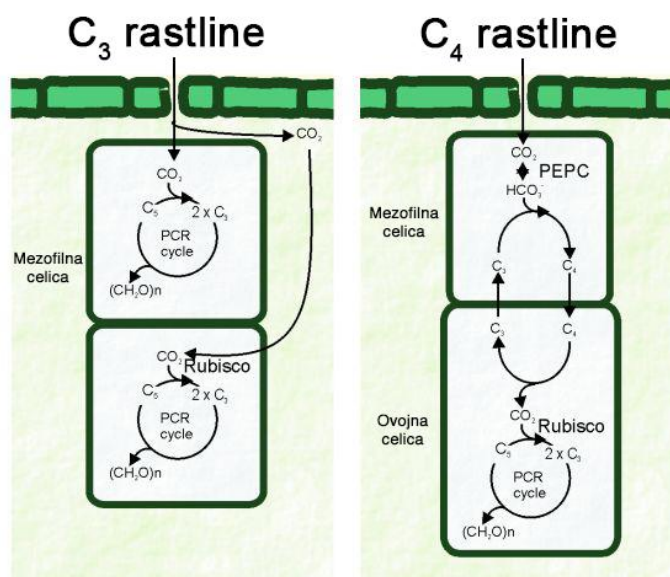
C₃ rastline in Calvinov cikel

V C₃ ciklu ali Calvinovem ciklu se atmosferski CO₂ takoj po vstopu v kloroplast veže na akceptor, to je na molekulo ribuloze-1,5-difosfata, bolj poznan kot encim rubisco (slika 4). V omenjeni reakciji nastane vmesni produkt s šestimi C-atomi, ki hitro razpade v dve molekuli 3-fosfoglicerata. Ta spojina ima tri C-atome, zato tudi ime C₃ cikel (Boyer, 2005). Takih je 90 % današnjih rastlin: alge, autotrofne bakterije, kultivirane rastline - pšenica, riž, oreščki in ostala drevesa, ki uspevajo v zmernih in hladnih podnebnih razmerah. Kinetična frakcionacija za kopenske rastline je nekje -29,4 ‰, te rastline tudi počasneje absorbirajo ¹³C kot ¹²C (Pezdič, 1999).

C₄ rastline in Hatch-Slackov cikel

Pri drugi fotosintetski poti, rastline za vezavo ogljika v obliki oksaloacetata, ki ima štiri C-atome, uporabijo PEP in ne produkta s tremi C-atomi (slika 4). V to skupino sodijo trave vročih območij in kultivirane rastline, kot so koruza, sladkorni trs, značilna pa je še za družino amarantovk, mlečkovk in toličkovk, ki spadajo v družino kritosemenk. Rastline s to fotosintetsko potjo imajo posebne prilagoditve, saj so listne žile obdane z debelostenimi fotosintetskimi ovojnimi celicami, v kateri je posebna vrsta kloroplastov (Dermastia, 2007).

V C₄ ciklu atmosferski CO₂ pronica v list skozi reže in se veže v mezofilnih celicah, v katerih ni rubiska. CO₂ vstopa v cikel z vezavo na fosfoenolpiruvat in ne na ribulozo-1,5-difosfat, nastane oksaloacetna kislina. Encim, ki katalizira začetno vezavo atmosferskega CO₂, je fosfoenolpiruvat karboksilaza (PEP-karboksilaza) in kaže preferenco k vezavi ¹³C atoma, zato imajo C₄ rastline manj negativno vrednost $\delta^{13}\text{C}$ (Boyer, 2005). Rastline, ki so razvile to fotosintetsko pot bolje rastejo v suhem in vročem podnebnju. S sposobnostjo koncentriranja CO₂ v okolici encima rubisca, poskrbijo, da so listne reže bolj zaprte in s tem preprečijo večjo izgubo vode v vročih dneh (Uno in sod., 2001).



Slika 4: Različna pot fiksacije ogljika za C₃ in C₄ rastline (Lara in Andreo, 2011)

CAM rastline

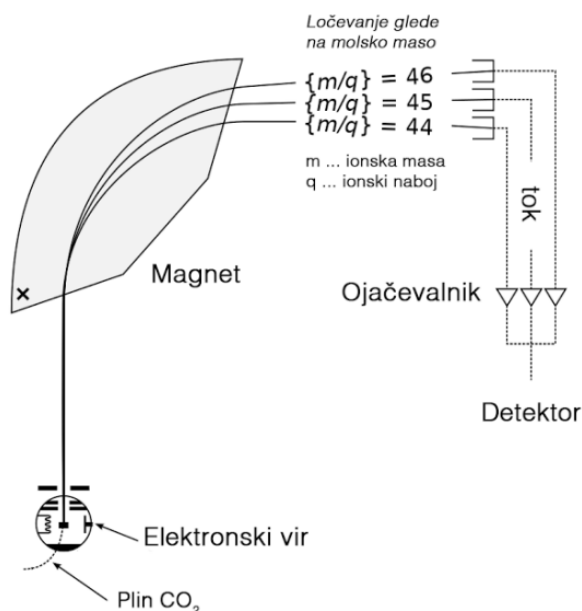
Imajo edinstven »Crassulacean Acid Metabolism«, ki lahko uporabljajo oba cikla vezave CO₂. Načeloma uporabljajo C₄ pot, v izjemnih okoliščinah pa C₃, kar je posledica evolucijske prilagoditve rastlin v okolju, kjer voda ni najbolj dostopna. Večinoma so to sukulente rastline, prilagojene na sušne razmere, kot so kaktusi, ananas, orhideje in druge (Uno in sod., 2001).

Rastline CAM so sposobne ponoči, ko so nižje temperature, vlažnost pa višja, skozi odprte listne reže fiksirati CO₂, ki se veže v celičnih vakuolah s fosfoenolpiruvatom, pri čemer nastane oksalocetna kislina. Ta se reducira in nastane jabolčna kislina, ki je kopičena v vakuolah listnih celic, pri čemer se sprošča CO₂, ki vstopa v Calvinov cikel. Podnevi, ko so listne reže zaprte, se malat transportira naprej v citosol in nato v kloroplaste, kjer poteče dekarboksilacija. Nastaneta piruvat in CO₂, ki vstopi C₃ cikel. Rastline lahko produkte Calvinovega cikla C₃ uporabijo tudi za sintezo sekundarnih metabolitov (Uno in sod., 2001).

2.7.4 Določanje vsebnosti izotopov z metodo IRMS

Meritve stabilnih izotopov lahkih elementov se izvajajo na masnih spektrometrih za analitiko stabilnih izotopov (IRMS – angl. Isotope Ratio Mass Spectrometry), ki je shematsko prikazan na sliki 5. Pri meritvah s pomočjo IRMS merimo maso atomov molekul in ugotavljamo delež posameznega izotopa v kemijski spojini. Spojina se najprej ionizira na delce (atomi, molekule ali fragmenti molekul), nato pa se snop teh delcev v električnem polju pospeši, ter odkloni glede na maso v magnetnem polju. Zaradi majhne atomske mase, je že absolutno majhna razlika med masami posameznih izotopov relativno

dovolj velika, da vpliva na različno obnašanje posameznega izotopa. Iz odklona, ki ga merimo, sklepamo na zvrst delca ali na masno število izotopa. Vzorce primerjamo s standardom, ki ima natančno znano izotopsko sestavo, tako da se natančnost meritev še izboljša. V masni spektrometer uvajamo vzorec 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 načine priprave. V primeru trdnih vzorcev je masni spektrometer povezan z elementnim analizatorjem, kjer vzorec v toku čistega kisika sežgemo, nastalo plinsko mešanico pa ločimo na kromatografski koloni in plin CO_2 ali N_2 uvajamo v ionski izvor. Pri tem je potrebno zagotoviti popolno pretvorbo organskega ogljika CO_2 z metodo, ki se izogne kakršnikoli izotopski frakcionaciji in onemogoči izgube. Pri določanju izotopske sestave N moramo vse nastale produkte dušika (NO , NO_2 , ...) v procesu izgorjevanja, reducirati do N_2 , saj samo to obliko dušika lahko uvajamo v ionski izvor masnega spektrometra (Clark, 2000; Rapisarda, 2005).

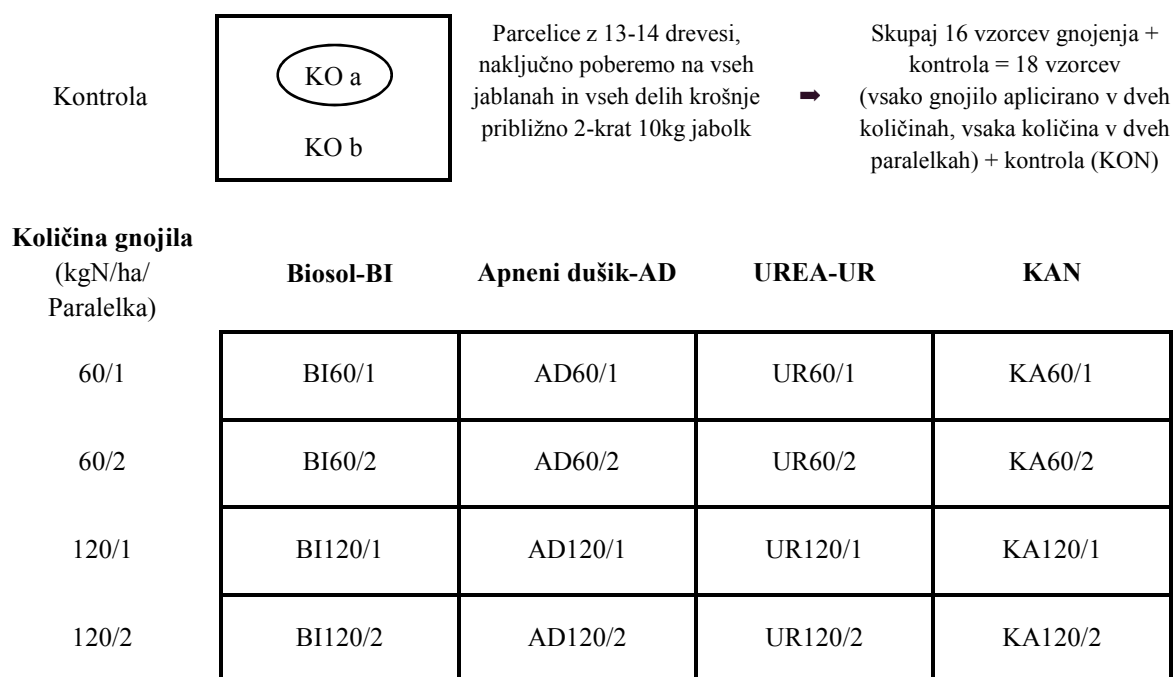


Slika 5: Princip delovanja masnega spektrometra za analizo stabilnih izotopov lahkih elementov (Revesz in sod., 2001)

3 MATERIALI IN METODE DE LA

3.1 ZASNOVA POSKUSA

Poskus je bil opravljen na sorti jabolk 'Gala' gnojeni z različnimi gnojili v rastni sezoni 2010. Eksperimentalni nasad se je nahajal ob vznožju Pohorja, v laboratorijskem sadovnjaku Fakultete za kmetijstvo iz Maribora. Jablanam, cepljenim na podlago M9, smo s spomladanskim gnojenjem dodali štiri različna gnojila (organsko gnojilo Biosol in tri mineralna gnojila - KAN, Urea, Apneni dušik). Shema poskusa je prikazana na sliki 6. Vsako obravnavanje z gnojilom smo aplicirali v dveh količinah dodanega čistega dušika 60 kg N/ha in 120 kg N/ha, ter v dveh paralelkah, zraven smo imeli tudi negnojeno parcelo, ki je služila kot kontrolna parcela.



Slika 6: Shema poskusa izvedenega v letu 2010

3.1.1 Vremenske razmere

V letu 2010 so bile temperature nad povprečjem, povprečna letna temperatura je bila višja za 0,2 °C in je znašala 10 °C, tudi sončnega obsevanja, ki je znašalo 1750 ur, je bilo več kot v preteklem obdobju. Na območju Maribora je leta 2010 padlo 825 mm padavin, kar je bistveno manj od dolgoletnega povprečja (v letih 1981-2000: 1,055 mm) (ARSO, 2010). V obdobju od aprila do septembra, v času vegetacije je večkrat prišlo do pomanjkanje vode, kar pomeni, da so bile razmere za sprejem hranil iz tal v času razvoja plodov manj ugodne. Sproščanje dušika ob manjši količini padavin je bolj počasno ali neenakomerno.

3.2 RASTNI MATERIAL

3.2.1 Sorta 'Gala'

Sorta 'Gala' je nastala s križanjem sort 'Kidds Orange Red' in 'Zlati delišes' in je diploidna. Vzgojil jo je J.H. Kidd v Greytownu na Novi Zelandiji. V pridelavo so jo uvedli leta 1965 (Viršček Marn in Stopar, 1998). Njeno drevo raste srednje bujno in se dobro obrašča. Sorta je zelo občutljiva na ognjevko, nekoliko manj na škrlup in še manj na pepelasto plesen (Godec in sod., 2011).

Zori konec avgusta ali v začetku septembra in je uporabna takoj po obiranju. V navadnem skladišču zdrži do decembra, v hladilnici pri 0 do 1 °C do januarja ali februarja, najdlje pa do marca ali aprila v kontrolirani atmosferi pri 1 do 2 °C s 3 do 4 % CO₂ in 1 do 3 % O₂ (Viršček Marn in Stopar, 1998).

Plodovi so srednje veliki, ploščato okrogli in nekoliko rebrasti, ter neobčutljivi na otiske in prevoz. Glede na okus sorto uvrščamo med izrazito sladka jabolka. Meso je rumenkasto, hrustljivo, zelo čvrsto in sočno. Koža je gladka in v osnovi obarvana s svetlo rumeno osnovno in svetlo rdečo krovno barvo, ki pokriva 40 do 70 % površine kože. Obstaja več različnih tipov sorte 'Gala', ki se od standarda ločijo predvsem po večjem deležu in načinu obarvanosti. Ugaja ji toplejše podnebje, ne ustrezajo ji presuha tla, sicer ni zahtevna (Viršček Marn in Stopar, 1998).



Slika 7: Jabolka sorta 'Gala' (Apples, 2012)

3.2.2 Podlaga 'M9'

Drevesa na katerih smo izvedli poskus so cepljena na podlago 'M9', ki je tudi ena najpomembnejših jablanovih podlag pri nas in po svetu. 'M9' spada med šibko rastoče podlage, zato drevesa potrebujejo oporo skozi celotno obdobje rasti. Najbolje uspeva v globokih, humoznih, zmerno vlažnih in prepustnih tleh. Daje dobre proizvodne rezultate, vpliva na zgodnjo in obilno rodnost, plodovi so debeli in lepo obarvani (Jazbec in sod., 1985). Občutljiva je na jablanov škrlup (*Venturia inaequalis*), jablanovo plesen (*Pedospaera leucotricha*) in krvavo uš (*Erisoma lanigerum*), precej je odporna proti

gnilobi na koreninskem vratu (*Phytophthora cactorum*). Slabo prenaša nizke zimske temperature, prav tako je občutljiva na prevlažna in presušna tla (Sancin, 1988; Štampar in sod., 2009).

3.3 UPORABLJENA GNOJILA

3.3.1 Biosol

Biosol (BI) je naravno organsko gnojilo sestavljeno iz 70 % organske snovi, 6 % skupnega dušika, ki je organsko vezan, 1 % fosforjevega oksida P_2O_5 in 1 % kalijevega oksida K_2O , ki sta topna v vodi. Vsebuje povsem naravne surovine, kot so: sojina moka, mlečni sladkor, pesni sladkor, moka bombaževih semen. Te surovine se v procesu naravnega biološkega vrenja in ob dodatku micelija glive *Penicillium chrysogenum* spremenijo v polnovredno biološko gnojilo. Biosol aktivira talno floro in favno, ustvarja humus, pospešuje razraščanje korenin, spodbuja mikorizo in močno izboljša fizikalne lastnosti tal. Zaradi organsko vezanega dušika, ki se počasi sprošča, rastlinam omogoča zadostno oskrbo s tem elementom skozi vso dobo rasti (Proizvodi za varstvo..., 2012).

3.3.2 Urea

Gnojilo Urea (UR) ali sečnina vsebuje 46 % dušika v amidni obliki, ki je rastline ne morejo neposredno sprejeti. Amidna oblika se mora v tleh najprej predelati v amonijsko s pomočjo mikroorganizmov, nato še v nitratno obliko, ki jo rastline lahko uporabijo. Iz tega razloga je delovanje gnojila kljub dobri topnosti v vodi počasnejše, rastline ga imajo na razpolago dlje časa. Tako ne prihaja do kopičenja škodljivih nitratov v rastlini in do izgub zaradi izpiranja. Zaradi amidne oblike dušika pa lahko zaznamo izgubo zaradi izhlapevanja, v primeru da je ne zadelamo v tla (Slekovec, 2005).

3.3.3 Apneni dušik

Apneni dušik (AD) je najstarejše mineralno dušikovo gnojilo, izdelan je iz naravnih sestavin, kot so apnenec, premog in zračni dušik. Vsebuje okoli 20 % dušika in več kot 60 % apna (CaO). Pri sadnih rastlinah zavira bolezni, kot so škrlup, pegavost, luknjičavost. Apneni dušik je okolju prijazno gnojilo, saj se zaradi počasnega in enakomernega sproščanja dušika v tla praktično ne izpira tudi pri močnejših padavinah. Tako zagotavlja trajno rodovitnost tal, zdravo in ne stresno rast rastlin, ter manj nitratov v pridelku (Proizvodi za varstvo..., 2012). V gnojilu je 1/3 kalcija prostega, 2/3 pa vezanega z dušikom. Ker se kalcij sprošča skupaj z dušikom, je njegova mobilnost po rastlini

izboljšana, skupaj z dušikom sprejema tudi kalcij. Prost in vezan kalcijev oksid, ki se sprošča iz apnenega dušika tako ohranja strukturna tla in preprečuje zakisanost tal, tako se ustvarja naravno stimulatívno okolje za delovanje in razvoj koristnih mikroorganizmov.

3.3.4 Kalcijev amonijev nitrat

Kalcijev amonijev nitrat (v nadaljevanju KAN) vsebuje 27 % dušika (N). Sestavljen je iz amonijevega nitrata (NH_4NO_3) in iz apnenca (CaCO_3) ali dolomita ($\text{CaCO}_3 \text{ MgCO}_3$ – kalcijev in magnezijev karbonat). Apnenec in dolomit se dodaja, da se zrnca ne sprimejo, gnojilo je manj higroskopsko in nevarno. Amonijev nitrat je namreč eksploziven. Osnovna sestavina za proizvodnjo amonitrata je plin amonijak (NH_3) (Leskovšek, 1993). KAN ima dve obliki dušika. Počasi delujoč amonijev dušik (NH_4^+) in hitro delujoč nitrat (NO_3^-), vsakega polovico. Rastlinske korenine lahko sprejemajo NH_4^+ le v manjšem obsegu, zato se mora ob pomoči mikroorganizmov v tleh med procesom nitrifikacije spremeniti v nitrat da ga korenine lahko vsrkajo. Amonijev del dušika v KAN-u deluje počasi in dalj časa (Slekovec, 2005).

3.4 METODE DELA

Jabolka so bila naključno pobrana od vsakega obravnavanja ob komercialni zrelosti in skladiščena v kontrolirani atmosferi pri 4 °C vse do priprave na analize v roku 14 dni.

Najprej smo tehtali plodove in določili maso in obarvanost plodov, nato smo iz vzorcev jabolk pripravili sok s pomočjo sokovnika Philips HR 1861. Vzorce za merjenje izotopske sestave smo uporabili takoj, ostale pa smo zamrznili pri temperaturi -18 °C.

3.4.1 Fizikalnokemijske metode

3.4.1.1 Meritve barve kože jabolka

Kromometer (Minolta CR – 200b, CIE – L, a, b) temelji na merjenju barve vzorca v izpeljanem $L^* a^* b^*$ barvnem sistemu, kjer L vrednost opisuje svetlost vzorca, parametra a in b, pa določata odtenek barve. Spekter od vzorca odbite barve se analizira v detektorju in primerja z odbojem od bele barve. Rezultat meritev je podan v obliki treh parametrov L^* , a^* in b^* , s katerimi se na osnovi spektra odbite svetlobe opiše barvo površine.

Pomen koordinat:

- a^* pozitivna ($a > 0$) - bolj rdeča barva, če je negativna ($a < 0$) - barva bolj zelena;

- b^* pozitivna ($b > 0$) - bolj rumena barva, če je negativna ($b < 0$) - barva bolj modra;
- L^* določa svetlost barve, če se številka približuje 100, pomeni, da je vzorec svetlejši, če se številka približuje 0, pa je vzorec temnejši.

Meritve barve na površini smo izvedli tako, da smo vzorec jabolk razdelili na tri paralelke, pred vsako meritvijo smo aparat umerili na beli standard.

3.4.1.2 Meritve zrelostnih faktorjev

Za določanje glavnih parametrov zrelosti in kakovosti plodov smo za vsak obravnavan vzorec gnojenja vzeli reprezentativni vzorec, najmanj deset naključno izbranih jabolk.

Po merjenju trdote mesa plodu, smo jabolka prerezali na polovico, eno polovico smo namočili v jodovico in kasneje ocenili razgradnjo škroba s pomočjo vzorčne slike. Iz druge polovice jabolka smo iztisnili sok in ga zbrali v digitalnem refraktometru za meritve SS ($^{\circ}$ Brix), ter ostali sok uporabili za merjenje skupnih kislin.

Določanje trdote mesa plodov

Trdoto plodov jabolk smo merili s penetrometrom (Chatillon Digital force – 50), ki je sestavljen iz nosilnega stojala in naprave za namestitev senzorja, na katero je pritrjen dinamometer z nastavki različnih dimenzij. Pri naših meritvah smo uporabili bat premera 11 mm in 8 mm vgreza v plod, do označene zareze na batu. Na vsakem jabolku smo trdoto izmerili štiri krat na ekvatorialni ravnini plodu, po predhodni odstranitvi povrhnjice. Rezultate meritev smo podali v kg/cm^2 .

Določanje vsebnosti škroba

Za določanje zrelosti na osnovi razbarvanja jabolk z jodovico smo prečno prerezana jabolka pomočili v 0,01 M raztopino jodovice (kalijev jodid in jod). V kontaktu z jodovico se škrob obarva temno modro do črno, sladkorji pa se ne obarvajo, zato ostane meso jabolka na prerezani površini svetlo.

Za vizualno ocenjevanje vsebnosti škroba v plodovih jabolka smo uporabili škrobno lestvico od 1 – 10 Ctifl (Eurofru), ki predstavlja stopnjo razgradnje škroba v sladkor, kjer vrednost 1 pomeni 100 odstotkov škroba, vrednost 10 pa 0 odstotkov škroba. Glede na strukturo razbarvanja mesa prečno prerezanega ploda, ki je tipična za posamezno sorto, smo v našem primeru za jabolka sorte 'Gala' izbrali tip C (cirkularni).

Določanje topne suhe snovi

Z refraktometrom merimo vsebnost suhe snovi, ki je v večjem delu ($>85\%$) sestavljena iz sladkorjev. Določali smo jo s pomočjo digitalnega refraktometra ATAGO PR-1 /METTLER TOLEDO. Refraktometer je instrument, s katerim določamo lomne količnike tekočin, z merjenjem mejnega kota totalnega odboja. Svetlobni curek se lomi na prehodu iz

optično redkejšega sredstva v optično gostejša ali obratno. Vsebnost suhe snovi (%) odčitamo na skali instrumenta.

Refraktometer smo pred meritvijo umerili z destilirano vodo na 0,0 % suhe snovi. Ob vsakem testiranju vzorca smo na steklo refraktometra kanili nekaj kapljic jabolčnega soka in izvedli meritve. Dobili smo rezultat koncentracije topne suhe snovi v odstotkih izraženo v °Brix.

3.4.1.3 Določanje vsebnosti skupnih kislin

Vsebnost skupnih kislin smo določali s titracijo z 0,1 M NaOH in indikatorjem fenolftaleinom. Polovice jabolk smo predhodno zamrznili in jih pred analizo odtajali. Iz njih smo iztisnili 5 ml soka, ga odpipetirali v erlenmajerico, dodali destilirano vodo in nekaj kapljic indikatorja, ter titriral z 0,1 M NaOH do preskoka barve iz brezbarvne v rožnato barvo.

Skupne kisline smo izrazili kot jabolčno kislino, ker ta od vseh kislin v jabolkih prevladuje. Vsebnost skupnih kislin, izraženih kot jabolčna kislina (g/kg) smo izračunali po enačbi:

$$\frac{a \times f \times R \times E}{10000} = C \text{ (g kisline/kg)} \quad \dots (4)$$

a = poraba mL 0,1 M NaOH

f = faktor korelacije normalitete 0,1 M NaOH

R = razredčitev vzorca

E = gramekvivalent jabolčne kisline, ki se titrira z 0,1 M NaOH

3.4.1.4 Določanje vsebnosti beljakovin z metodo po Kjeldahlu

Opis metode:

Metoda temelji na določanju beljakovin neposredno preko dušika (ob upoštevanju, da je ves dušik, prisoten v živilu, beljakovinski). Za preračunavanje dušika v beljakovine uporabljamo ustrezne faktorje (F). V tem primeru vzamemo, da je v beljakovinah povprečno 16 % dušika, in iz tega lahko izračunamo ustrezni empirični faktor, ki v našem primeru znaša 6,25 (Plestenjak in Golob, 2003).

Postopek:

Postopek določanja vsebnosti beljakovin je sestavljen iz treh faz:

- mokri sežig pripravljenega homogeniziranega vzorca v grelni enoti s pomočjo kisline H₂SO₄, katalizatorja in visoke temperature;

- destilacija z vodno paro na destilacijski enoti Büchi, kjer se ob dodatku močne baze sprosti NH₃;
- nevtralizacijska titracija (titracijska enota Titrino Büchi) amonijevega borata s standardno klorovodikovo kislino.

V sežigno epruveto smo odtehtali od 1 do 1,3 g vzorca, dodali 2 tableti bakrovega katalizatorja in 20 mL koncentrirane H₂SO₄. Epruvete s tako pripravljenimi vzorci smo postavili v stojalo in pokrili s steklenimi zvonci. Vse skupaj smo prenesli v ogreto enoto za razklop (Digestion Unit), kjer je bila temperatura 370 °C. Aparatura samodejno dozira 50 mL destilirane vode in 70 mL baze (30 % NaOH) v vzorec. V destilacijsko predložko se je doziralo še 60 mL borne kisline (2 % H₃BO₃), nato pa se je začela uvajati para. Destilacija je potekala 4 min. Titracija nastalega amonborata z 0,1 M HCl do pH vrednosti 4,65 je potekala samodejno takoj po tem, ko smo odtehto vzorca (v mg) vnesli v titracijsko enoto (Titrino). V končni točki titracije se je zabeležila poraba kislin, iz katere se nato izračuna % dušika in % beljakovin v vzorcu (uporabi se splošni empirični faktor za preračun dušika v beljakovine, ki je enak 6,25).

Račun:

$$Vsebnost\ beljakovin\ (g / 100\ g) = \frac{mL\ 0,1\ M\ HCl \cdot 1,4 \cdot f}{m} \cdot 100 \cdot 6,25 \quad \dots (5)$$

$$f = \frac{\text{točna molarnost HCl}}{0,1\ M\ HCl} \quad \dots (6)$$

$$vsebnost\ beljakovin = vsebnost\ N \cdot F \quad \dots (7)$$

mL HCl = poraba mL 0,1 M HCl za vzorec – poraba mL 0,1 M HCl za slepi poskus

1,4 = ekvivalent (1mL 0,1 M HCl – 1,4 mg N)

6,25 = F = splošni empirični faktor za preračun N v beljakovine

f - faktor molarnosti HCl

Pribor:

- blok za razklop vzorca (Digestion Unit Büchi)
- enota za odvod zdravju škodljivih hlapov (Scrubber Büchi)
- destilacijska enota (Distillation Unit Büchi)
- sežigne epruvete
- papirnate tehtirne ladjice

Reagenti:

- koncentrirana H₂SO₄
- katalizator Kjeltabs Cu/3,5 (3,5 g K₂SO₄ + 0,4 g CuSO₄ x 5 H₂O)
- nasičena raztopina H₃BO₃ (cca 3 %)
- 30 % raztopina NaOH
- cca 15 % raztopina NaOH

- indikator bromtimolmodro
- 0,1 M HCl

3.4.2 Analize bioaktivnih komponent

3.4.2.1 Določanje antioksidativnega potenciala s prostim radikalom DPPH[•]

Princip metode:

Antioksidativni potencial merimo indirektno s pomočjo prostega radikala DPPH[•], ki absorbira svetlobo pri valovni dolžini 517 nm zaradi njegove temno vijolične barve. V reakciji z antioksidanti DPPH razpada v DPPH₂, s čimer se zmanjša adsorbcija, barva se spremeni iz vijolične v rumeno. Zmanjševanje absorbance je proporcionalno vsebnosti antioksidantov v vzorcu jabolčnega soka.

Reagenti:

- DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) (Sigma, Nemčija)
- Metanol (Merck, Nemčija).

Potrebna oprema:

- UV-VIS spektrofotometer
- analitska tehtnica
- ependorfke
- centrifuga
- plastične kivete (10 mm)
- deionizirana voda.

Izvedba analize:

V centrifugirke smo zatehtali 10 g vzorca (jabolčni sok) in mu dodali 10 g metafosforne kisline (2 % MFK). Tako pripravljene vzorce smo zamrznili, na dan analize pa jih odmrznili in centrifugirali 5min pri 3000 obratih na minuto. Supernatant smo nato prelili v 3 ependorfke in ga centrifugirali še 5 minut pri 14000 obratih. Tako smo iz vsakega vzorca dobili tri paralelke.

V 100 mL bučko smo zatehtali 4 mg DPPH[•] v trdni obliki in 20 mL metanola, ter premešali, da se popolnoma raztopi. Metanol smo dodajali toliko časa, da je absorbanca raztopine pri 517 nm blizu vrednosti 1. Raztopino DPPH[•] smo pripravili vsakič svežo, saj ni stabilna.

Za izračun antioksidativnega potenciala potrebujemo meritve absorbance referenčne vrednosti (120 µL metanola + 1,5 mL raztopine DPPH[•]), vzorca (120 µm vzorca jabolčnega soka + 1,5 mL raztopine DPPH[•]) in absorbance slepe probe (120 µm vzorca +

1,5 mL metanola). Vse zmesi dobro premešamo, prelijemo v kivete in izmerimo absorbanco pri 517 nm takoj in po 15 min.

Račun:

$$\Delta A = A_{RF} - A_{VZ} + A_{SP} \quad \dots (8)$$

$$n \text{ (mol)} = \Delta A \cdot V_{\text{reakcijske zmesi}} / (\epsilon \cdot l) \quad \dots (9)$$

n = množina DPPH, ki reagira z antioksidanti v reakcijski zmesi

ϵ = molarna absorptivnost DPPH ($\epsilon = 1200 \text{ L/mol}\cdot\text{cm}$)

l = dolžina poti žarka ($l = 1 \text{ cm}$)

$V_{\text{reakcijske zmesi}} = 1,56 \text{ mL} = 0,00156 \text{ L}$

$V_{\text{soka}} = 120 \text{ }\mu\text{L} = 0,000120 \text{ L}$

$$AOP = M_{DPPH} \text{ (mmol/L)} = n \text{ (mol)} \cdot 10^3 / V_{\text{soka}} \quad \dots (10)$$

3.4.2.2 Določanje skupnih fenolnih snovi

Princip metode:

Fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo UV spektra in vidnega spektra, kar nam omogoča, da lahko z odčitavo absorbance pri primerni valovni dolžini ocenimo koncentracijo skupnih fenolov.

Skupne fenole smo določali z metodo po Singletonu in Rossiju (1965). Vzorcem jabolčnega soka dodamo Folin-Ciocalteujev reagent (F.C.), ki v alkalni raztopini oksidira fenolne snovi. Alkalne pogoje za potek oksidacije zagotovimo z dodatkom natrijevega karbonata. Absorbanco reakcijske mešanice izmerimo pri valovni dolžini 765 nm, masno koncentracijo skupnih fenolnih snovi pa odčitamo iz umeritvene krivulje in rezultat izrazimo kot mg galne kisline/L. Galna kislina se uporabi kot standardna referenčna spojina za določanje skupnih fenolnih spojin.

Reagenti in naprave:

- osnovna raztopina galne kisline: v 100 mL merilno bučko zatehtamo 500 mg galne kisline, dodamo 10 mL etanola, raztopimo in razredčimo do oznake
- Folin-Ciocalteujev reagent (F.C.) (Merck, Nemčija) tik pred uporabo pripravimo po navodilih proizvajalca. Razredčili smo ga z deionizirano vodo v razmerju 1:2
- 20 % raztopina natrijevega karbonata Na_2CO_3
- deionizirana voda
- UV-VIS spektrofotometer
- kivete (10 mm)
- merilne bučke (100 mL)

- polnilne pipete (1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL, 10 mL)

Izvedba analize:

a) Priprava umeritve krivulje:

Za pripravo umeritvene krivulje (odvisnost absorbance od masne koncentracije galne kisline mg/L) smo uporabili galno kislino. Z ustreznim razredčevanjem smo pripravili matične standardne raztopine galne kisline: v 100 mL bučko smo odpipetirali od 0 do 10 mL osnovne raztopine galne kisline, dopolnili do oznake z deionizirano vodo ter premešali.

Preglednica 7: Standardne raztopine galne kisline pri določanju fenolnih spojin

Oznaka bučke	Volumen osnovne raztopine galne kisline (mL)	Končna koncentracija galne kisline v standardni raztopini (mg/L)
0	0	0 (slepi vzorec)
1	1	50
2	2	100
3	3	150
4	5	250
5	10	500

Iz vsake merilne bučke (preglednica 7) odpipetiramo po 1 mL standardne raztopine v 100 mL merilno bučko, dodamo približno 60 mL deionizirane vode, raztopino premešamo in dodamo 5 mL razredčenega F.C. reagenta. Raztopini dodamo 15 mL 20 % raztopine natrijevega karbonata. Premešamo in dopolnimo z deionizirano vodo do oznake. Raztopino pustimo stati točno 2 uri pri temperaturi 20 °C. Po tem času vsebino merilne bučke še enkrat premešamo, prenesemo v 10 mm kivete in izmerimo absorbanco proti slepemu vzorcu pri valovni dolžini 765 nm. Narišemo umeritveno krivuljo in izračunamo enačbo premice.

b) Določanje fenolnih spojin v vzorcu jabolčnega soka glede na umeritveno krivuljo:

Za določanje koncentracije SFS v jabolčnem soku odpipetiramo po 0,5 mL vzorca v 50 mL merilno bučko (po potrebi vzorce predhodno razredčimo v razmerju 1:2 z deionizirano vodo – 1 mL vzorca + 1 mL deionizirane vode), ter postopamo enako kot pri pripravi umeritvene krivulje. Končno koncentracijo SFS v vzorcu (mg galne kisline/L) izračunamo iz enačbe umeritvene krivulje ob upoštevanju razredčitve.

3.4.2.3 Določanje vsebnosti višjih maščobnih kislin v lupini jabolka

Maščobno kislinsko sestavo vzorcev smo določili z metodo, modificirano po Parku in Goinsu (1994), pri kateri maščobe hkrati ekstrahiramo in zestrmo. Metilni estri so bili po končani reakciji prisotni le v heksanski plasti na vrhu razopine. Maščobno kislinsko sestavo vzorcev smo za tem določili s plinsko kromatografijo (GC).

Interni standard:

Kot interni standard (IS) smo uporabili C17 (heptadekanojsko kislino-17:0). V vsak vzorec smo dodali 100 μ L IS in zapisali njegovo maso.

Postopek določanja maščobnokislinske sestave:

V 10 mL Hachove epruvete z navoji smo natehtali približno 1 g predhodno homogeniziranega vzorca in 100 μ L raztopine internega standarda. Dodali smo 300 μ L mešanico topil metilenklorida (CH_2Cl_2 , Merck) in 3 mL 0,5 M sveže pripravljene raztopine natrijevega hidroksida (NaOH) v metanolu (Merck). Epruvete smo nepropustno zaprli, jih premešali in segrevali pri 90 °C v vodni kopeli približno 60 minut. Po segrevanju smo epruvete hitro ohladili. Ohlajeni zmesi smo dodali 3 mL 14 % raztopine BF_3 v metanolu in ponovno segrevali 10 min pri 90 °C. Po končanem segrevanju smo epruvete ponovno ohladili in dodali 3 mL 10 % raztopine NaCl za povečanje ionske jakosti (lažje ločevanje vodne in heksanske faze) ter 1 mL heksana. Raztopino smo stresali s pomočjo stresalnika Vortexer 1 minuto, da je prišlo do boljše ekstrakcije metilnih estrov maščobnih kislin iz vodne v nepolaro heksansko fazo. Nato smo vzorec 10 min centrifugirali pri 4000 obratih. Previdno smo odpipetirali zgornjo heksansko fazo v 1,5 mL steklene vial in jih shranili pri – 20 °C do analize na plinskem kromatografu.

Plinska kromatografija (GC):

Vsebnost metil estrov maščobnih kislin smo določili s plinsko kromatografijo z uporabo plinskega kromatografa Agilent Technologies 6890 s plamensko ionizacijskim detektorjem (FID) in kapilarno kolono HP-88 (100m x 0,25 mm x 0,2 μ m).

Ločevanje in detekcija sta potekala pri naslednjih pogojih:

- temperaturni program: 150 °C/10 min; 2 °C/min do 180 °C, 3 °C/min do 240 °C (0 min)
- temperatura injektorja: 250 °C
- temperatura detektorja: 280 °C
- injektor: split: splitless: 1:30, volumen 0,5 μ L
- nosilni plin: He, 2,3 mL/min
- make-up plin: N_2 , 45mL/min
- plin skozi detektor: H_2 , 40 mL/min, sintetični zrak (21 % O_2) 450 mL/min.

Po končani analizi smo s pomočjo internega standarda iz kromatografskih vrhov izračunali koncentracijo posamezne maščobne kisline:

$$C \text{ (mg/100 g)} = (A_i \times F_{A_i} \times m_{17} \times 100) / (A_{17} \times F_{A_{17}} \times m_{vz}) \quad \dots (11)$$

C = koncentracija posamezne maščobne kisline (mg/100g)

A_i = površina vrha posamezne maščobne kisline

F_{A_i} = koeficient posamezne maščobne kisline (molska masa maščobne kisline/molska masa metilnega estra maščobne kisline)

m_{17} = masa internega standarda (C17:0)

A_{17} = površina internega standarda

F_{Ai17} = koeficient internega standarda (molska masa C17:0/molska masa metilnega estra heptadekanojske kisline C17) = 0,9508

m_{vz} = masa vzorca (g)

Koeficienti maščobnih kislin (F_{Ai}): C16:0 = 0,9481; C18:0 = 0,9530; C18:1 = 0,9527;
C18:2 = 0,9524; C18:3 = 0,9520; C20:0 = 0,9571

$$m_{17} = m_{zatehte\ IS} \times C_{IS} \quad \dots (12)$$

3.4.3 Določanje stabilnih izotopov lahkih elementov

Meritve smo izvedli na masnem spektrometru za analitiko stabilnih izotopov lahkih elementov (IRMS) s preparativnim nastavkom za tekoče in trdne vzorce ANCA-SL. Izotopsko sestavo ogljika, $\delta^{13}\text{C}$, izoliranih sladkorjev, pulpe in pešk jabolk, ter vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ pulpe in pešk jabolk, smo določali po opisanih postopkih (Ogrinc in sod., 2009; Bizjak Bat in sod., 2012).

3.4.3.1 Določanje $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v pulpi jabolčnega soka z metodo IRMS

Princip:

Metoda temelji na merjenju izotopskega razmerja med deležem težjega in lažjega izotopa ogljika oz. dušika. Izotopsko razmerje je podano z vrednostjo $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ v ‰, ki je definirana z enačbo 1. Preden izoliramo sladkor, moramo v sadnih sokovih, ki vsebujejo pulpo, pulpo ločiti od sadnega soka.

Reagenti:

- destilirana voda
- aceton
- interni standard, laboratorijski standard: ureaC in europaN ((NH_4)₂SO₄)
- referenčni standardi: NBS (oil), IAEA-CH-7, IAEA-CH-6, IAEA-N-1, IAEA-N-2.

Aparatura in pribor:

- plastične centrifugirke (V= 50 mL)
- centrifuga (Centric 322A)
- kositrove kapsule dimenzije $\phi = 4/6$ mm (PDZ Europa Ltd)
- pinceta za zatiskanje kositrovih kapsul
- masni spektrometer Europa Scientific 20-20 z ANCA-SL modulom za trdne in tekoče vzorce

Izvedba analize:

50 mL vsakega vzorca nalijemo v plastične centrifugirke. Netopne sestavine ali pulpo iz soka ali nektarja s 5 min centrifugiranjem pri 3000 obr./min. Pulpo shranimo, supernatant pa odlijemo in uporabimo za izolacijo sladkorja v vzorcu.

Pulpi ponovno dodamo vodo (25 mL) in dobro premešamo. Sledi centrifugiranje (5 min, 3000 obr./min), nato supernatant odlijemo. Ponovimo spiranje z vodo in centrifugiranje. Sledi spiranje z acetonom in centrifugiranje (2 min, 3000 obr./min). Tudi ta postopek ponovimo. Oborino osušimo na zraku.

Pri tem postopku uporabimo vodo za odstranjevanje prostih sladkorjev in aceton za odstranjevanje lipidov iz pulpe. Po vsakem centrifugiranju je potrebno dobro premešati pulpo in topljence, da pripravimo čist vzorec pulpe. Sladkorje je potrebno z vodo popolnoma odstraniti, da se izognemo težavam pri ekstrakciji lipidov z vodo in pri sušenju vzorcev. Nepopolna ekstrakcija lipidov povzroči precejšnje napake v vsebnosti ^{13}C v pulpi.

Določanje $\delta^{13}\text{C}$ - izvedba:

Tik pred merjenjem pripravimo kositrove kapsule, v katere dodamo približno 1 mg vzorca pulpe, kapsule zatisnemo s pinceto in vzorce izmerimo v masnem spektrometru. Pripravimo ustrezne standarde, podobno kot vzorce. Uporabimo laboratorijski standard ureaC. Na absorbent v kapsulah naneseemo 3 μL standarda ureaC. Izotopsko sestavo standarda, ki znaša $-30,6 \pm 0,2 \text{ ‰}$ je potrebno določiti na začetku in na koncu merjenja, ter vsakih pet do deset izmerjenih vzorcev. Poleg laboratorijskega standarda je potrebno za spremljanje kvalitete pripraviti tudi referenčne standarde NBS 22 (oil; $\delta^{13}\text{C} = -30,03 \pm 0,04 \text{ ‰}$), IAEA-CH-7 (polietilen; $\delta^{13}\text{C} = -32,15 \pm 0,05 \text{ ‰}$) and IAEA-CH-6 (sukroza; $\delta^{13}\text{C} = -10,45 \pm 0,03 \text{ ‰}$). Napaka meritev $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti pulpe znaša $\pm 0,2 \text{ ‰}$.

Določanje $\delta^{15}\text{N}$ - izvedba:

Tik pred merjenjem pripravimo kositrove kapsule, v katere dodamo približno 1 mg vzorca pulpe, kapsule zatisnemo s pinceto in vzorce izmerimo v masnem spektrometru. Pripravimo ustrezne standarde, podobno kot vzorec. Uporabimo laboratorijski standard europaN. Na absorbent v kapsulah naneseemo 3 μL standarda europaN. Izotopsko sestavo standarda, ki znaša $+2,5 \pm 0,2 \text{ ‰}$ je potrebno določiti na začetku in na koncu merjenja, ter vsakih pet do deset izmerjenih vzorcev. Poleg laboratorijskega standarda je potrebno za spremljanje kvalitete pripraviti tudi referenčne standarde IAEA-N-1 (amonijev sulfat; $\delta^{15}\text{N} = 0,4 \pm 0,2 \text{ ‰}$) in IAEA-N-2 (aminijev sulfat; $\delta^{15}\text{N} = 20,3 \pm 0,2 \text{ ‰}$). Napaka meritev $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti pulpe znaša $\pm 0,3 \text{ ‰}$.

3.4.3.2 Določanje $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti sladkorjev z metodo IRMS

Princip:

Metoda temelji na merjenju izotopskega razmerja med deležem težjega in lažjega izotopa ogljika v izoliranem sladkorju. Izotopska razmerja podajamo z vrednostjo δ v ‰ (enačba 1).

Reagenti:

- $\text{Ca}(\text{OH})_2$
- 1 M H_2SO_4
- interni standard, laboratorijski standard: ureaC
- referenčni standardi: IAEA-NBS (oil), IAEA-CH-7, IAEA-CH-6

Aparatura in pribor:

- termoblok (Termoproc TBGE)
- centrifuga (Centric 322A)
- kalibrirani brizgalki za tekoče vzorce
- plastične posodice
- kositrove kapsule dimenzije $\phi = 4/6$ mm (PDZ Europa Ltd)
- absorbent (PDZ Europa Ltd)
- pinceta za zatisnjenje kositrovih kapsul
- masni spektrometer Europa Scientific 20-20 z ANCA-SL modulom za trdne in tekoče vzorce

Izvedba analize:

Iz vzorcev smo najprej očistili topne snovi z dodatkom približno 200 mg kalcijevega hidroksida, pri čemer smo vse skupaj mešali in 3 minute segrevali na vodni kopeli pri temperaturi 90 °C. Organske kisline, aminokisline in druge sestavine se v tej fazi postopka oborijo. Oborino s centrifugiranjem (3 min, 300 obr./min) ločimo iz vroče raztopine.

Nato 4 mL čistega supernatanta odpipetiramo v plastične posodice in dodamo 1 M žvepleno kislino do pH 5 oziroma do spremembe barve raztopine v rumeno. Tako pripravljena raztopina vsebuje predvsem sladkorje, kalcijev sulfat in majhno količino barvil. Preostali kalcijev sulfat, ki se obori, potem delno odstranimo tako, da hranimo raztopino čez noč v hladilniku pri cca. 4 °C. Vzorec nad oborino vsebuje sladkorje in je pripravljen za analizo.

Pred merjenjem je v kositrove kapsule potrebno dodati absorbent (≈ 1 mg), na njega naneseemo 6 μL vzorca, ki vsebuje izolirane sladkorje iz jabolčnega soka. Kapsule previdno zatisnemo s pinceto, sledi merjenje na masnem spektrometru.

Pred merjenjem vzorcev je potrebno pripraviti tudi ustrezne standarde, ki jih pripravimo podobno kot vzorec. Za merjenje uporabljamo laboratorijski standard ureaC, katerega

nanesemo 3 μL na absorbent v kapsulah. Izotopsko sestavo standarda, ki znaša $-30,6 \pm 0,2$ ‰, je potrebno določiti na začetku in koncu merjenja, ter na vsakih pet do deset izmerjenih vzorcev. Poleg laboratorijskega standarda je potrebno za spremljanje kvalitete meritev pripraviti še referenčne standarde z znanimi $\delta^{13}\text{C}$ vrednostmi: NBS (oil), IAEA-CH-7 in IAEA-CH-6 (poglavje 3.4.2.1).

3.4.3.3 Določanje $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ v peškah jabolk z metodi IRMS

Princip:

Opisan je pod točko 3.4.3.1.

Reagenti:

- interni standard, laboratorijski standard: ureaC in europaN $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$
- referenčni standardi: NBS (oil), IAEA-CH-7, IAEA-CH-6, IAEA-N-1, IAEA-N-2, (IAEA, Avstrija).

Aparatura in pribor:

- mlinček za mletje,
- sušilnik,
- kositrove kapsule dimenzije $\phi = 4/6$ mm (PDZ Europa Ltd)
- pinceta za zatesnitev kositrovih kapsul,
- masni spektrometer Europa Scientific 20-20 z ANCA-SL modulom za trdne in tekoče vzorce

Priprava vzorca:

Peške jabolk zmeljemo z mlinčkom za mletje in jih nato posušimo v sušilniku na $50\text{ }^\circ\text{C}$.

Izvedba analize:

Tik pred merjenjem pripravimo kositrove kapsule, v katere s pinceto prenesemo približno 1 g zmletega vzorca peške, kapsule zatismo s pinceto in vzorce izmerimo v masnem spektrometru. Postopek meritve in uporaba standardov je enaka kot pri določitvi $\delta^{13}\text{C}$ oziroma $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v pulpi jabolčnega soka (poglavje 3.4.3.1).

3.4.4 Določanje elementarne sestave jabolčnega soka z metodo rentgenske fluorescenčne spektroskopije s popolnim odbojem (TXRF)

Princip:

Rentgenska fluorescenčna spektroskopija (XRF - angl. X-Ray Fluorescence Analysis) je osnovana na vzburjanju vzorca z rentgenskim sevanjem in ionizaciji atomov v zunanjih orbitalah. Vzburjen atom oziroma ion se v procesu relaksacije vrne v osnovno stanje in pri tem lahko izseva fluorescenčno rentgensko svetlobo, karakteristično za vzburjen atom. Metoda omogoča kvalitativno in kvantitativno določanje elementov na osnovi karakterističnega fluorescenčnega sevanja. Občutljivost metode XRF se poveča pri vzburjanju s fokusirano rentgensko svetlobo v posebni geometriji, kar imenujemo tehnika rentgenske fluorescenčne spektroskopije s popolnim odbojem (TXRF - angl. Total Reflection X-Ray Spectroscopy). TXRF je izredno občutljiva metoda za analizo sledi elementov v majhnih vzorcih, je hitra, ponovljiva, cenovno ugodna, ima možnost multielementarne analize, in majhno možnost kontaminacije (Golob in sod., 2005).

Reagenti:

- Ga (vodna raztopina s koncentracijo 0,01 g Ga/L) (CentriPUR®, Gallium ICP Standard) (Merck, Nemčija),
- HNO₃ (Merck, Nemčija).

Aparatura:

Eksperimentalni sistem je sestavljen iz rentgenske cevi kot izvora rentgenskega sevanja, totalno refleksijskega modula in energijsko disperzijskega rentgenskega spektrometra. Kot vir vzburjanja smo uporabili rentgensko cev z anodo iz molibdena in s finim fokusom. Totalno refleksijski modul je sestavljen iz kolimatorja, monokromatorja, ki je izdelan iz več tankih plasti ogljika in volframa in nosilca vzorca. Monokromator se nahaja takoj za kolimatorjem in služi za odstranitev vseh energij v spektru vpadnega rentgenskega sevanja, razen tistih z želeno energijo. Uporabljen rentgenski spektrometer temelji na visoko ločljivostnem polprevodniškem Si(Li) detektorju. Elektronski sistem detektorja sestavljajo: visokonapetostni vir, ojačevalnik, analogno digitalni pretvornik ter večkanalni analizator (Doberšek, 2003).

Pribor:

- avtomatske pipete,
- nosilna kvarčna stekla ($\Phi = 3$ cm, debelina 2 mm),
- infrardeča svetilka.

Delovni pogoji:

Merjenje spektra vsakega vzorca poteka 5 minut pri sobni temperaturi, pri napetosti 40 kV in električnem toku 30 mA na rentgenski cevi.

Priprava vzorcev za analizo:

a) Vzorec: Odtehtamo 0,3 g vzorca jabolčnega soka v 25 mL stekleno čašo in ga raztopimo v dvakrat destilirani vodi, ter jo dopolnimo do oznake 10 mL. Dodamo interni standard, 1 mL standardne raztopine galija s koncentracijo 0,01 g/L. Raztopino homogeniziramo 1 uro v ultrazvočni kopeli. Nato odpipetiramo 10 μ L raztopine vzorca na nosilno kvarčno steklo in pustimo čez noč v eksikatorju, da se posuši. Do analize hranimo vzorec v eksikatorju, da ne pride do kontaminacije s prahom. Izmerimo spekter rentgenske fluorescenčne svetlobe z metodo TXRF.

b) Slep vzorec: Izmerimo spekter čistega kvarčnega stekla.

Izračun rezultatov:

Elementno sestavo vzorca izračunamo s programom QAES, ki je bil razvit na Odseku za fiziko nizkih in srednjih energij (F2) Instituta »Jožef Stefan«. Na osnovi dodanega internega standarda izračunamo koncentracijo vseh ostalih prisotnih elementov vzorcu. Pri izračunu program upošteva faktor razredčitve, koncentracijo internega standarda glede na odtehto vzorca in sipanje rentgenske fluorescenčne svetlobe.

3.4.5 Statistična obdelava podatkov

Zbrane podatke analiz smo uredili s pomočjo programskega paketa Microsoft Excel 2010 in programa SPSS. Pri statistični obdelavi podatkov smo v programu za posamezne parametre najprej izračunali srednje vrednosti ter standardne odklone posameznih odvisnih ali variabilnih spremenljivk. Izračunane srednje vrednosti smo z enosmerno analizo variance (ANOVA) primerjali s posameznimi skupinami in uporabili Duncanov test s 5 % tveganjem za ugotavljanje statističnih razlik med posameznimi obravnavanji.

Izračunali smo osnovne statistične parametre po paralelkah in načinu pridelave in z analizo variance ocenili razlike med vrsto gnojenja za posamezne vsebnosti analiziranih snovi:

- glede na uporabljeno vrsto gnojila (organsko/mineralno/brez gnojila);
- glede na uporabljena gnojila (BI, AD, UR, KAN, KON);
- glede na količino uporabljenega gnojila (0, 60, 120 kg N/ha).

4 REZULTATI

4.1 MERITVE BARVE PLODOV JABOLK SORTE 'GALA'

Vzorcem jabolk smo s kromometrom izmerili komponente barve L*, a* in b*. V preglednici so zbrani rezultati povprečnih vrednosti in standardnih odklonov meritev barvnih komponent krovne barve kože v vzorcih jabolk gnojenimi z organskim gnojilom (BI) in tremi mineralnimi gnojili (UR, KAN, AD) v dveh odmerkih (60 kg N/ha in 120kg N/ha), ter negnojeno kontrolo.

Preglednica 8: Povprečne vrednosti in standardni odkloni barvnih komponent (L*, a*, b*) jabolk sorte 'Gala' kot posledica gnojenja z različnimi gnojili in različnimi odmerki gnojila

Obravnavanje	Barva		
	L*	a*	b*
Biosol (BI)	61,6 ± 8,46 ^a	10,1 ± 9,27 ^a	22,0 ± 3,78 ^a
Urea (UR)	61,5 ± 6,79 ^a	10,5 ± 7,90 ^a	21,9 ± 3,34 ^a
Kan (KAN)	62,0 ± 6,07 ^a	10,1 ± 8,14 ^a	21,5 ± 3,32 ^a
Apneni dušik (AD)	60,1 ± 5,58 ^a	13,6 ± 9,18 ^a	21,1 ± 6,62 ^a
Kontrola (KON)	56,5 ± 5,94 ^a	17,2 ± 7,65 ^a	23,2 ± 3,37 ^a
Odmerek gnojila (kg N/ha)			
0	56,5 ± 5,94 ^a	17,2 ± 5,94 ^a	23,2 ± 3,37 ^a
60	62,3 ± 6,32 ^a	9,71 ± 8,32 ^a	22,5 ± 3,11 ^a
120	60,2 ± 7,31 ^a	12,3 ± 8,62 ^a	20,7 ± 5,23 ^a

*oznake (a) v posameznem stolpcu pomenijo, da se skupine med seboj statistično značilno razlikujejo (p ≤ 0,05)

Iz preglednice 8 je razvidno, da pri nobeni barvni komponenti ni prišlo do značilnih razlik, na katere bi vir (mineralni/organski) ali odmerek gnojila vplivala. L* krovna barva plodov določa svetlost, večja kot je njegova vrednost, svetlejši je plod. Vrednosti za L* so od 100 do 0. V povprečju so imeli najsvetlejšo barvo vzorci gnojeni s KAN, najtemnejšo krovno barvo pa negnojeni vzorci, vendar razlike niso statistično značilne. Parameter a* predstavlja razpon med rdečo in zeleno barvo. Opazen je trend intenzivnejše rdeče barve pri negnojenih kontrolnih vzorcih. Pozitivni b* parameter predstavlja rumeno, negativni pa modro obarvanost. Tudi pri intenzivnosti rumene barve vzorec brez gnojenja najbolj izstopa, najmanj rumeno obarvani so bila jabolka obravnavana z gnojilom AD.

Srednje vrednosti parametrov barve se glede na aplicirano količino gnojila se statistično značilno ne razlikujejo. Negnojeni vzorci so v vseh treh barvnih parametrih dosegli večjo intenziteto obarvanja plodu, najnižje obarvanje glede na svetlost in rumeno barvo, pa plodovi z odmerkom 120 kg N/ha.

4.2 MERITVE PARAMETROV ZRELOSTI IN KAKOVOSTI PLODOV JABOLK 'GALA'

V preglednici 9 so zbrani rezultati povprečnih vrednosti in standardnih odklonov meritev mase plodov (g), trdote (kg/cm^2), škrobnega indeksa, suhe snovi ($^{\circ}\text{Brix}$), skupnih titracijskih kislin (g/L) v vzorcih jabolk gnojenimi z organskim in mineralnimi gnojili v dveh odmerkih (60 kg N/ha in 120kg N/ha) in negnojenimi jabolki.

Preglednica 9: Povprečne vrednosti in standardni odkloni parametrov zrelosti in kakovosti jablan sorte 'Gala' kot posledica gnojenja z različnimi gnojili in različnimi odmerki gnojila

Obravnavanje	Masa ploda (g)	Trdota (kg/cm^2)	Škrobni indeks (1-10)	SS ($^{\circ}\text{Brix}$)	Skup. kisline (g/L)
Biosol (BI)	194 ± 9 ^b	9,49 ± 0,86 ^a	6,89 ± 1,93 ^{ab}	12,1 ± 0,34 ^{bc}	5,03 ± 0,41 ^a
Urea (UR)	203 ± 3 ^{ab}	9,65 ± 0,60 ^a	5,90 ± 1,90 ^b	12,4 ± 0,50 ^b	4,13 ± 0,46 ^b
Kan (KAN)	198 ± 5 ^{ab}	9,87 ± 0,63 ^a	5,67 ± 1,83 ^b	12,0 ± 0,16 ^c	4,11 ± 0,27 ^b
Apneni dušik (AD)	206 ± 5 ^a	9,66 ± 0,63 ^a	7,04 ± 1,81 ^{ab}	13,2 ± 0,37 ^a	4,19 ± 0,38 ^b
Kontrola (KON)	168 ± 2 ^{**}	8,05 ± 0,58 ^a	7,70 ± 1,70 ^a	12,6 ± 0,6 ^{**}	3,96 ± 0,06 ^b
Odmerek gnojila (kg N/ha)					
0	168 ± 2 ^{**}	8,05 ± 0,58 ^b	7,70 ± 1,70 ^a	12,6 ± 0,6 ^{**}	3,96 ± 0,06 ^a
60	198 ± 9 ^a	9,82 ± 0,62 ^a	5,97 ± 1,96 ^b	12,6 ± 0,58 ^a	4,51 ± 0,46 ^a
120	203 ± 4 ^a	9,51 ± 0,72 ^a	6,78 ± 1,80 ^{ab}	12,6 ± 0,55 ^a	4,22 ± 0,59 ^a

*oznake (a, b, c) v posameznem stolpcu pomenijo, da se skupine med seboj statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$)

** podatki ene ponovitve zaradi izgube vzorcev

Iz meritev v preglednici 9 je razvidno, da so povprečne vrednosti parametrov zrelosti in kakovosti različne med posameznimi vzorci jabolk in se med seboj statistično razlikujejo. Mineralni vir dušika vpliva na povprečne vrednosti mase plodov v primerjavi z organskim virom dušika, predvsem pri gnojilu AD s povprečno najtežjo maso (206 g). Najnižja povprečna masa je izmerjena pri kontrolnem negnojenem vzorcu (168 g), plodovi pridelani z organskim gnojilom BI imajo nižjo maso od vseh ostalih plodov gnojenih z mineralnim virom dušika, vendar so razlike statistično značilne samo v primerjavi z AD. Uporaba različnih gnojil ni dala statistično značilnih razlik v trdoti plodov. Opazen je trend večje trdote jabolk gnojenih z gnojilom KAN ($9,87 \text{ kg/cm}^2$). Po vsebnosti v topni suhi snovi se različno gnojena jabolka med seboj statistično značilno razlikujejo. Najvišjo vsebnost sladkorjev imajo jabolka gnojena z AD ($13,2^{\circ}\text{Brix}$), najnižjo vsebnost pa jabolka pridelana z gnojilom KAN ($12,0^{\circ}\text{Brix}$). Škrobni indeks različno gnojenih jabolk je v času merjenja parametrov zrelosti znašal med 5,67 in 7,70, nekoliko nižje vsebnosti škrobnega indeksa je zaznati pri gnojilih KAN in UR. Rezultati skupnih titracijskih kislin kažejo značilno višje vrednosti pri gnojilu BI (5,03 g/L) v primerjavi z ostalimi vzorci.

Glede na odmere gnojila, imajo jabolka gnojena s 60 kg N/ha značilno višjo trdoto v primerjavi s 120 kg N/ha in kontrolo. Na suho snov in vsebnost skupnih kislin odmere gnojila ni imel značilnega vpliva. Višji škrobni indeks so imeli plodovi kontrolnega vzorca.

Preglednica 10: Povprečne vrednosti in standardne deviacije parametrov zrelosti in kakovosti jablan sorte 'Gala' glede vrsto apliciranega gnojila, ne glede na odmerek

Vrsta gnojila	Masa ploda (g)	Trdota (kg/cm ²)	Škrobni indeks (1-10)	SS (°Brix)	Skup. kisline (g/L)
Mineralno	202 ± 5 ^a	9,73 ± 0,61 ^a	6,20 ± 1,89 ^a	12,5 ± 0,61 ^a	4,14 ± 0,35 ^b
Organsko	194 ± 9 ^b	9,49 ± 0,86 ^a	6,89 ± 1,93 ^a	12,1 ± 0,34 ^a	5,03 ± 0,41 ^a

*oznake (a, b) v posameznem stolpcu pomenijo, da se skupine med seboj statistično značilno razlikujejo (p ≤ 0,05)

** / podatki ene ponovitve zaradi izgube vzorcev

Podatki v preglednici 10 nam prikazujejo, da vrsta uporabljenega gnojila ne vpliva značilno na merjene parametre z izjemo skupnih kislin, ki jih je več v plodovih pridelanih z organskim gnojilom, kateri imajo tudi značilno nižjo maso. Opazen je trend višje vrednosti za trdoto in suho snov pri plodovih pridelanih z mineralnimi gnojili ter višji škrobni indeks pri plodovih gnojenih z organskim gnojilom.

4.3 REZULTATI POSAMEZNIH FIZIKALNOKEMIJSKIH ANALIZ

4.3.1 Meritve skupnih fenolnih spojin in antioksidativnega potenciala v jabolčnem soku

Preglednica 11: Povprečne vrednosti in standardni odkloni meritev antioksidativnega potenciala (AOP) in skupnih fenolnih spojin v jabolčnem soku sorte 'Gala' glede na uporabljena gnojila in glede na odmerek gnojil

Gnojilo	AOP (mmol DPPH/L)	Skupne fenolne spojine (mg g.k./L)
BI	0,245 ± 0,005 ^b	239 ± 24 ^{ab}
UR	0,277 ± 0,018 ^a	259 ± 41 ^a
KAN	0,289 ± 0,029 ^a	278 ± 89 ^a
AD	0,241 ± 0,033 ^b	220 ± 53 ^{ab}
KON	0,220 ± 0,004 ^b	186 ± 7 ^b
Odmerek gnojila (kg N/ha)		
0	0,220 ± 0,004 ^b	186 ± 7 ^b
60	0,269 ± 0,032 ^a	264 ± 67 ^a
120	0,257 ± 0,032 ^a	234 ± 67 ^{ab}

*oznake (a, b, c) v posameznem stolpcu pomenijo, da se skupine med seboj statistično značilno razlikujejo (p ≤ 0,05)

Iz preglednice 11 je razvidno, da smo izmerili najvišjo povprečno vrednost AOP 0,289 mmol/L in 0,277 mmol/L pri vzorcih gnojenih z mineralnim gnojilom KAN in UR. Kontrolni, negnojeni vzorec ter BI in AD imajo značilno nižjo vrednost AOP v primerjavi s KAN in UR. Iz rezultatov vseh obravnjav gnojenja je razvidno, da imajo plodovi gnojeni s KAN in UR značilno višjo vsebnost SFS od ostalih obravnavanj.

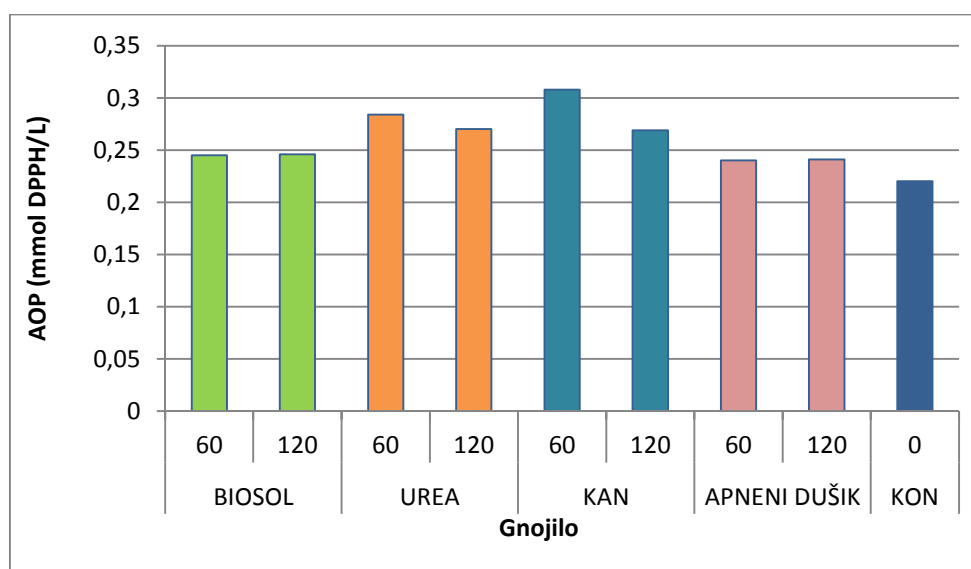
Rezultati obeh analiz nakazujejo močno povezavo med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin (SFS) na vpliv antioksidativnega potenciala. Manjša kot je vrednost SFS manjši bo tudi AOP in obratno. Znotraj analiziranih vzorcev imajo negnojena jabolka najnižje vrednosti, medtem ko ima na višje vsebnosti sekundarnih metabolitov v povprečju največji vpliv odmerek gnojila 60 kg N/ha.

Preglednica 12: Rezultati povprečnih vrednosti s standardnimi odkloni antioksidativnega potenciala (AOP) in skupnih fenolnih spojin v vzorcih jabolčnega soka glede na vrsto uporabljenega gnojila, ne glede na odmerek

Vrsta gnojila	AOP (mmol DPPH/L)	Skupne fenolne spojine (mg g.k./L)
Mineralno	0,269 ± 0,034 ^a	252 ± 67 ^a
Organsko	0,245 ± 0,005 ^{ab}	239 ± 24 ^a
Kontrola	0,220 ± 0,004 ^b	186 ± 7 ^a

*oznake (a, b) v posameznem stolpcu pomenijo, da se skupine med seboj statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$)

Preglednica 12 prikazuje vpliv vrste gnojila na vrednosti AOP in SFS. Uporaba mineralnih in organskih gnojil vpliva na značilno višji AOP v primerjavi s kontrolo, pri vsebnosti SFS pa med vrstami gnojenja ni značilnih razlik.



Slika 8: Vrednosti AOP (mmol/L) kot posledica vira (organski ali mineralni) in odmerka (60 ali 120 kg N/ha) znotraj gnojil in kontrola

Slika 8 grafično prikazuje podatke iz preglednice 11, kjer lahko opazimo, da v naših meritvah znotraj ene vrste uporabljenega gnojila, količina (60 kg N/ha in 120 kg N/ha) dodanega dušika nima značilnega vpliva. Pri uporabi gnojil BI, UR in KAN je opazen trend višjega AOP pri odmerku 60 kg N/ha.

4.3.2 Vsebnost beljakovin (določanje skupnega dušika) po Kjeldahlu

Preglednica 13: Vsebnost beljakovin v jabolčnem soku sorte 'Gala' glede na aplicirana gnojila in odmerke (60 kg N/ha ali 120 kg N/ha)

Gnojilo	Odmerek gnojila (kg N/ha)	Skupni N (g/100g)	Beljakovine (g/100g)
BI	60	0,053	0,33 ± 0,04
	120	0,024	0,15 ± 0,03
UR	60	0,024	0,15 ± 0,03
	120	0,021	0,13 ± 0,01
KAN	60	0,019	0,12 ± 0,01
	120	0,034	0,21 ± 0,04
AD	60	0,034	0,21 ± 0,07
	120	0,040	0,25 ± 0,11
Kontrola	0	0,027	0,17 ± /

* / - ni podatka

Iz preglednice 13 je razvidno, da se vrednosti beljakovin v vzorcih jabolčnega soka gibljejo od 0,13 g/100 g do 0,33 g/100 g, ki je hkrati najvišja vrednost plodov gnojenih z organskim gnojilom v odmerku 60 kg N/ha. Povprečna vsebnost beljakovin v vseh analiziranih jabolkih je 0,19 g/100 g. Rezultati prikazujejo, da so znotraj vrst gnojila vsebnosti precej različne glede na aplicirano količino (60 ali 120 kg N/ha), tako ni mogoče opaziti, da bi odmerek gnojila imel vpliv na vsebnost skupnega dušika oziroma beljakovinsko vsebnost v soku.

Preglednica 14: Povprečne vrednosti beljakovin v jabolčnem soku sorte 'Gala' glede na uporabljena gnojila

Vrsta gnojila	Beljakovine (g/100 g)
Mineralno	0,172 ± 0,062 ^a
Organsko	0,229 ± 0,077 ^a
Kontrola	0,169 ± / ^a

* / - ni podatka

Glede na apliciran vir dušika (mineralni, organski, kontrola) se vsebnosti med seboj statistično ne razlikujejo (preglednica 14). Opazen je trend nižje vrednosti pri kontroli.

4.4 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA V KOŽICI JABOLK

Pri določitvi maščobnokislinske sestave lupine jabolk 'Gala' smo določali šest maščobnih kislin, in sicer: 3 nasičene, 1 enkrat nenasičeno in 2 večkrat nenasičeni. Meritve so potekale v osemnajstih paralelkah s tremi ponovitvami.

Preglednica 15: Povprečne vrednosti vsebnosti maščobnih kislin v kožici jabolk sorte 'Gala'

Maščobna kislina	C (mg/100 g)
Palmitinska kislina (16:0)	15,5
Stearinska kislina (18:0)	11,4
Oleinska kislina (18:1)	12,3
Linolna kislina (18:2)	44,2
Linolenska kislina (18:3)	11,6
Arahidinska kislina (20:0)	5,10

V preglednici 15 so zbrani rezultati povprečne maščobnokislinske sestave lupine jabolk v mg maščobne kisline na 100 g svežega vzorca. Iz meritev je razvidno, da vsebuje lupina jabolk povprečno največ linolne kisline (44,2 mg/100g), sledi ji palmitinska kislina (15,5 mg/100 g), oleinska kislina (12,3 mg/100 g), linolenska kislina (11,6 mg/100 g), stearinska kislina (11,4 mg/100 g), najmanj vsebuje arahidinske kisline (5,10 mg /100 g lupine).

Preglednica 16: Povprečja in standardni odkloni maščobno kislinske sestave kožice jabolk sorte 'Gala' glede na uporabljena mineralna in organska gnojila

Vrsta gnojila	Št. vzorcev	Višje maščobne kisline (ut. %)					
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0
Mineralno	36	15,6 ± 4,0 ^{ab}	11,1 ± 4,4 ^a	12,1 ± 4,6 ^{ab}	43,7 ± 9,4 ^b	12,8 ± 12,9 ^a	4,9 ± 1,6 ^a
Organsko	12	14,4 ± 2,8 ^b	13,2 ± 3,9 ^a	13,8 ± 4,1 ^a	43,7 ± 5,9 ^b	8,9 ± 1,5 ^a	6,0 ± 4,6 ^a
Kontrola	3	18,8 ± 0,3 ^a	8,3 ± 0,4 ^a	8,5 ± 0,4 ^b	53,2 ± 1,4 ^a	7,8 ± 1,0 ^a	3,4 ± 0,5 ^a

*oznake (a, b) v posameznem stolpcu pomenijo, da se skupine med seboj statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$)

Vpliv uporabljenega gnojila (mineralno/organsko) v sadovnjaku na maščobno kislinsko sestavo jabolk prikazuje preglednica 16. Najbolj izstopata višje povprečne vrednosti kontrolnih vzorcev palmitinske (C16:0) in linolne kisline (C18:2), ki se tudi statistično razlikujejo od ostalih. Opazen je trend višje vrednosti linolenske kisline (C18:3) v plodovih gnojenih z mineralnimi gnojili in trend višje vsebnosti stearinske (C18:0) ter arahidinske kisline (C20:0) v plodovih gnojenih z organskim gnojilom.

Preglednica 17: Povprečni delež (ut.%) nasičenih, enkrat nenasičenih in večkrat nenasičenih maščobnih kislin od skupnih MK v kožici jabolk

Maščobne kisline	Povprečni delež maščobnih kislin od skupnih MK v lupini jabolk (ut. %)
Nasičene	32,0
Enkrat nenasičene	12,3
Večkrat nenasičene	55,8

Iz preglednice 17 je razvidno, da v analiziranih vzorcih prevladujejo večkrat nenasičene maščobne kisline, v povprečju 55,8 ut. %, za njimi sledijo nasičene maščobne kisline, povprečno 32,0 ut. %, najmanjši delež predstavljajo enkrat nenasičene maščobne kisline s povprečnim deležem 12,3 ut. %. Količinsko predstavlja največji delež večkrat nenasičeni linolna (C18:2 n-6) in linolenska kislina (C18:3 n-3), sledijo jima nasičene palmitinska kislina (C16:0), stearinska kislina (C18:0) in arahidonska (C20:0), ter enkrat nenasičena oleinska kislina (C18:1 n-9).

4.5 REZULTATI IZOTOPSKE SESTAVE

4.5.1 Vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ in $\delta^{15}\text{N}$ v uporabljenih gnojilih, zemlji in analiziranih vzorcih jabolk

Preglednica 18: Izotopska sestava dušika $\delta^{15}\text{N}$ in ogljika $\delta^{13}\text{C}$ uporabljenih gnojil (Bizjak Bat, 2016)

Gnojilo	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
KAN (KA)	0,9	-1,1
Urea (UR)	-46,9	-0,8
Biosol (BI)	-25,4	2,5
Apneni dušik (AD)	-26,4	0,6

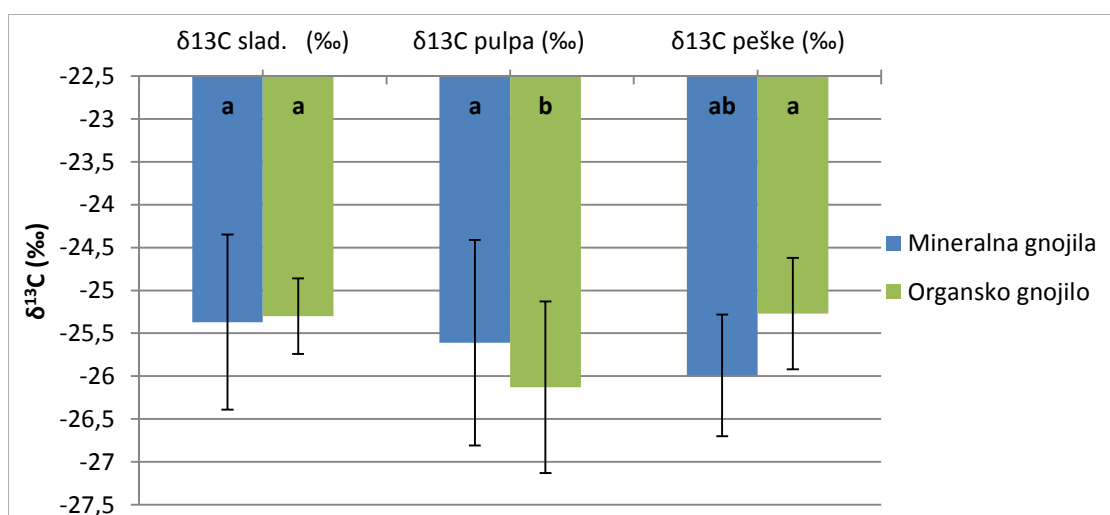
Preglednica 19: Izotopska sestava dušika $\delta^{15}\text{N}$ in ogljika $\delta^{13}\text{C}$ v zemlji z aplicirano količino gnojila (Bizjak Bat, 2016)

IZOTOPSKA SESTAVA ZEMLJE		
Vzorec	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
KON	-23,7	6,9
BI60	-24,7	7,7
BII20	-25,1	5,9
UR60	-24,4	7,5
UR120	-24,5	6,3
AD60	-24,1	6,8
AD120	-24,6	6,2
KAN60	-24,6	6,4
KAN120	-25,4	5,6

Preglednica 18 prikazuje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ in $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti uporabljenih gnojil v poskusu. Organsko gnojilo BI ima najvišji delež težjega izotopa dušika in zato višje $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v primerjavi z analiziranimi mineralnimi gnojili. Višje $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti so vidne pri organskem gnojilu, v primerjavi z mineralnima (UR in AD), najvišja vrednost $\delta^{13}\text{C}$ je bila izmerjena pri gnojilu KAN.

Pri analizah zemlje (preglednica 19) z uporabo različnih gnojil v dveh odmerkih, ima najvišjo vrednost $\delta^{15}\text{N}$ vzorec z organskim gnojilom BI v dodani količini 60 kg N/ha. Najvišja vrednost $\delta^{13}\text{C}$ je izmerjena pri zemlji brez uporabe gnojila (kontrolna parcela).

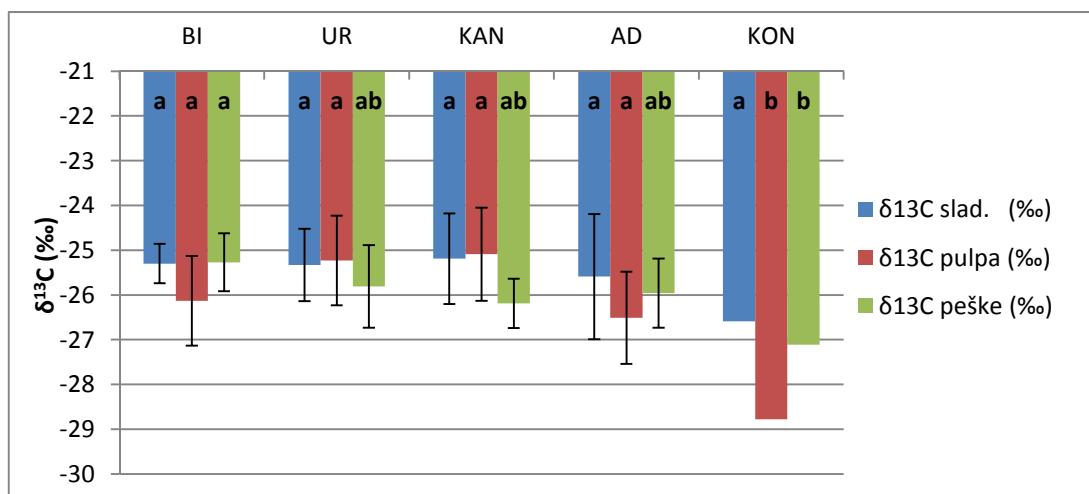
4.5.2 Rezultati merjenja $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v jabolčni pulpi, sladkorjih in peškah



Slika 9: Povprečne $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v jabolčni pulpi, sladkorjih in peškah glede na uporabljeno vrsto gnojila

Izmerjene $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti posameznih vzorcev so v velikem razponu, še posebej v pulpi jabolčnega soka, in sicer med -28,8 ‰ in -24,3 ‰. Kot je grafično prikazano na sliki 10, so glede na uporabo mineralnih oz. organskih gnojil le izmerjene vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ v pulpi statistično značilno različne, glede na uporabljena gnojila je povprečna razlika 0,83 ‰.

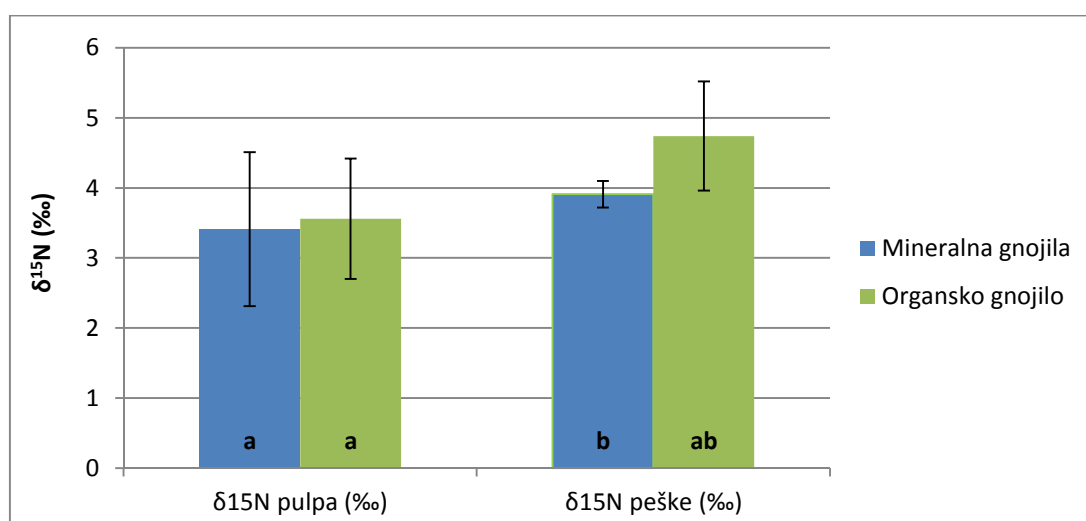
Povprečne vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ so nekoliko višje v izoliranih sladkorjih in peškah plodov, kjer je bilo uporabljeno organsko gnojilo, medtem ko so $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti izmerjene v pulpi nekoliko nižje v primerjavi s plodovi, kjer je bilo uporabljeno mineralno gnojilo. Povprečno najnižje izmerjene vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ (-26,1 ‰) smo določili v pulpi jabolčnega soka iz pridelave, kjer je bilo uporabljeno organsko gnojilo, najvišje povprečne vrednosti pa v peškah (-25,3 ‰).



Slika 10: Povprečne $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v jabolčni pulpi, sladkorjih in peškah glede na aplicirana gnojila

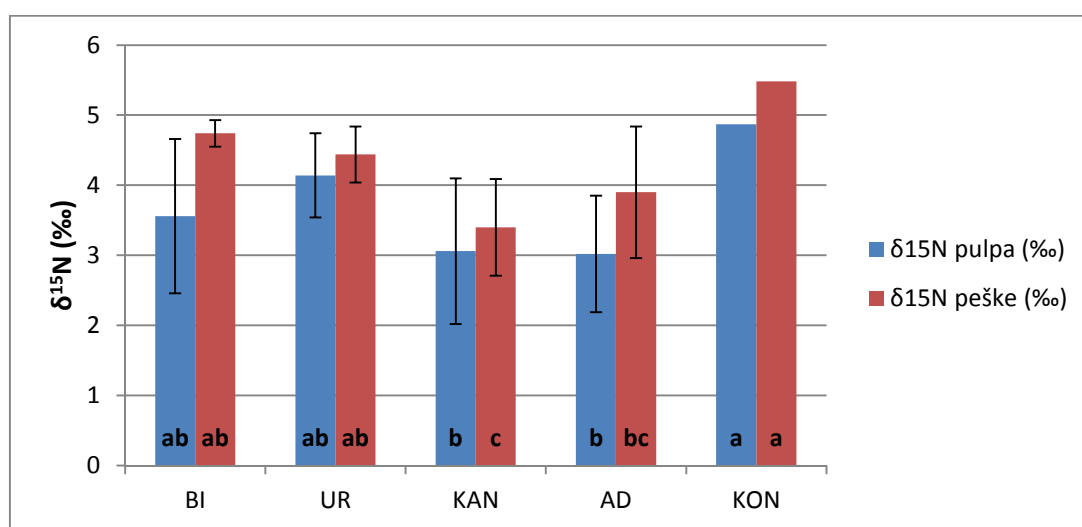
Rezultati izotopske sestave $\delta^{13}\text{C}$ določene v sladkorjih, pulpi in peškah plodov glede na uporabo gnojil so grafično prikazane na sliki 10. Povprečno najnižje meritve imajo kontrolni vzorci, kar nakazuje, da gnojila vplivajo na izotopska razmerja $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ v plodu jabolk. Med uporabljenimi mineralnimi gnojili ima gnojilo AD povprečno nižje vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ od ostalih dveh (UR in KAN). Kjer je bilo uporabljeno organsko gnojilo BI so vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ izmerjene v sladkorjih in peškah nekoliko nižje, vendar se ne statistično razlikujejo od ostalih gnojil. Največji delež težjega izotopa ogljika ^{13}C ugotovimo v plodovih, kjer je bilo uporabljeno mineralno gnojilo KAN pri merjenju $\delta^{13}\text{C}$ v sladkorjih in pulpi, ter za organsko gnojilo BI pri merjenju vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ pešk.

4.5.3 Rezultati merjenja $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v jabolčni pulpi in peškah



Slika 11: Povprečne $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v jabolčni pulpi in peškah glede na uporabljeno vrsto gnojila

Na sliki 11 so prikazane povprečne vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v vzorcih jabolk glede na uporabljeno gnojilo (mineralno/organsko). Povprečne vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ izmerjene v pulpi in peškah jabolk, ki so bila gnojena z organskim gnojilom so višje od povprečij vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ jabolk, gnojenih z mineralnimi gnojili. Največja razlika med uporabljenimi gnojili je v vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ izmerjeni v peškah jabolk, ki je znatno višja pri vzorcih gnojenih z organskim gnojilom, vendar med obravnavama ni bilo statistično značilnih razlik. Vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v peškah so v povprečju dosegle 4,7 ‰, medtem ko je povprečje v peškah plodov gnojenih z mineralnimi gnojili 3,9 ‰. V pulpi so bile te vrednosti izmerjene v povprečju 3,6 ‰ za uporabo organskih gnojil in 3,4 ‰ za uporabo mineralnih gnojil.



Slika 12: Povprečne $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v jabolčni pulpi in peškah glede na aplicirana gnojila

Kot je razvidno iz slike 12 dodana gnojila vplivajo na vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ in posledično doprinejajo k statistično značilnim razlikam med parametri. Vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v pulpi pri različnih gnojilih se gibljejo med 2,4 ‰ in 4,9 ‰, v peškah pa od 3,0 ‰ do 5,5 ‰. Vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v peškah so pri organskem gnojilu višje (4,7 ‰) v primerjavi z ostalimi mineralnimi gnojili (povprečje 3,9 ‰). Najvišje vrednosti težjega izotopa ^{15}N so jabolka povprečno dosegla pri negnojenih drevesih, tako v pulpi, kot tudi v peškah. Najnižje povprečne vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ so izmerjene pri gnojenju z AD v jabolčni pulpi (3,0 ‰). Pri mineralnih gnojilih izstopa UR, ki ima višje vrednosti v primerjavi s KAN in AD. Rezultati $\delta^{15}\text{N}$ v pulpi za gnojilo UR (4,2 ‰) so višji kot pri organskem gnojilu BI (3,6 ‰).

4.3 ELEMENTNA SESTAVA JABOLČNEGA SOKA

V vzorcih jabolk smo s pomočjo metode rentgenske fluorescenčne spektrometrije (TXRF) določali koncentracije posameznih makro- in mikroelementov v sledovih: magnezij (Mg), fosfor (P), žveplo (S), klor (Cl), kalij (K), kalcij (Ca), mangan (Mn), železo (Fe), cink (Zn) in rubidij (Rb).

Preglednica 20: Povprečja in standardni odkloni koncentracij posameznih elementov (mg/L) glede na uporabljena gnojila z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

Koncentracije (mg/L)	Gnojenje z organskim gnojilom	Gnojenje z mineralnimi gnojili	Kontrola
Mg	215 ± 68 ^a	223 ± 45 ^a	180 ± 4 ^a
P	20,6 ± 7,0 ^a	24,8 ± 10,6 ^a	19,7 ± 7,14 ^a
S	7,01 ± 0,59 ^a	6,34 ± 1,56 ^a	4,93 ± 0,01 ^a
Cl	7,80 ± 2,13 ^a	11,9 ± 4,4 ^a	7,58 ± 1,80 ^a
K	893 ± 85 ^b	913 ± 81 ^{ab}	1030 ± 28 ^a
Ca	13,1 ± 7,0 ^a	11,6 ± 4,2 ^a	14,6 ± 1,8 ^a
Mn	0,298 ± 0,108 ^a	0,273 ± 0,067 ^a	0,268 ± 0,085 ^a
Fe	0,658 ± 0,474 ^a	0,334 ± 0,082 ^{ab}	0,216 ± 0,064 ^b
Zn	0,132 ± 0,065 ^a	0,204 ± 0,066 ^a	0,131 ± 0,049 ^a
Rb	0,542 ± 0,432 ^a	0,676 ± 0,309 ^a	0,483 ± 0,188 ^a

*oznake (a, b) v posameznem stolpcu pomenijo, da se skupine med seboj statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$)

V preglednici 20 so podane povprečne vrednosti in standardni odkloni vsebnosti elementov iz sokov jabolk pridelanih z različnimi gnojili (mineralna in organska gnojila). Iz koncentracij je razvidno, da med vsemi izmerjenimi elementi vsebujejo jabolka največ kalija (K), z najnižjo koncentracijo pa je prisoten cink (Zn). Elementi Mg, P, Cl, Zn, Rb, v soku iz plodov gnojenih z mineralnimi gnojili, imajo višjo vsebnost glede na sok iz plodov gnojenih z organskim gnojilom, med tem ko ugotavljamo, da imajo plodovi pognojeni z organskim gnojilom višje povprečne vsebnosti S, K, Mn, Fe. Koncentracija Fe se statistično značilno razlikuje glede na uporabo vrste gnojil in ima v plodovih gnojenih z organskim gnojilom kar 2 krat višjo vsebnost v primerjavi s plodovi gnojenimi z mineralnimi gnojili. Vsebnost K je med vsemi analiziranimi elementi najvišja in znaša v povprečju 922 mg/L. Zanimiv je rezultat pri kontrolnih negnojenih vzorcih, kjer smo zasledili najvišjo vsebnost K (1030 mg/L), najnižjo vsebnost pa ima jabolčni sok iz jabolk, gnojenih z organskim gnojilom (893 mg/L). Na drugem mestu po vsebnosti elementov se nahaja Mg, največ ga je v vzorcih pridelanih z mineralnimi gnojili 223 mg/L. Najvišjo vsebnost Ca vsebujejo negnojena jabolka iz kontrolnega vzorca, in sicer 14,6 mg/L, najnižjo koncentracijo pa imajo plodovi gnojenih z mineralnimi gnojili, 11,6 mg/L. Iz rezultatov je razvidno, da ima gnojilo statistično neznačilen vpliv na elementno sestavo naših vzorcev, razen pri kaliju (K) in železu (Fe) je prišlo do statistično značilnih razlik.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Vpliv gnojenja na zrelostne faktorje in fizikalnokemijske parametre plodov jabolk sorte 'Gala'

Rdeča obarvanost plodov je iz vidika povpraševanja potrošnikov željen parameter. Na eni strani prispeva k atraktivnosti, po drugi, pa je pokazatelj kakovosti plodov. Lancaster in sod. (1994) navajajo, da je barva plodov zanesljiv pokazatelj kakovosti plodov, saj je v tesni povezavi z notranjo kakovostjo plodov. Naši vzorci jabolk so imeli pri obeh načinih pridelave, z uporabo mineralnih gnojil ali uporabo organskega gnojila zelo podobne vrednosti barvnih parametrov. To si lahko razlagamo, da v enakih pedoklimatskih rastnih razmerah, na zrelostne parametre jabolka gnojila nimajo značilnega vpliva. Najbolj intenzivno obarvanje so dosegli kontrolni vzorci jabolk, katerim nismo dodali dušika, kar potrjuje navedbe ostalih, da povečano gnojenje z dušikom poslabša obarvanje plodov. Razlike v barvi plodov glede na količino apliciranega gnojila prav tako niso v svoji raziskavi ugotovili Roussos in Gasparatos (2009).

Glede na višje vsebnosti dušika znotraj mineralnih gnojil KAN (27 % N) in UR (46 % N) je pričakovan podatek, da so imela jabolka gnojena z mineralnimi gnojili v povprečju višjo trdoto mesa od ostalih vzorcev, kar potrjuje trditve, da gnojenje z dušikom odloži zorenje jabolk (Unuk, 2006). Uporaba vseh gnojil je v primerjavi s kontrolo vplivala na višjo trdoto mesa plodov in glede na škrobni indeks nekoliko odložila zorenje. Mnogi navajajo, da imata organsko pridelana sadje in zelenjava višjo vsebnost topne suhe snovi kot konvencionalna, vendar iz naših meritev tega ni bilo moč zaznati. Salandanan (2009) razlaga, da se je v njihovi raziskavi pridelave melon vsebnost suhe snovi zelo razlikovala med sortami in ni bila odvisna od pogojev konvencionalne ali organske pridelave.

Intenzivneje kot je gnojenje, večja je rast plodov, mnogokrat zaradi večje vsebnosti vode v pridelku. Roussos in Gasparatos (2009) poročata, da so pri konvencionalni pridelavi jabolka dosegla višjo maso kot ekološko pridelana, kar se je pokazalo tudi pri naših meritvah plodov, povprečna masa konvencionalnega plodu je znašal (202 ± 5 g), v primerjavi s povprečno maso ekološkega jabolka (194 ± 9 g). Tudi Do Amarante in sod. (2008) ugotavljajo povprečno nižje mase pri organski pridelavi, ki naj bi bile posledica manjših celic in intercelularnih prostorov v plodu. Gnojenje z dušikom vpliva na večji pridelek, vendar prekomerno gnojenje znatno poslabša večino parametrov kakovosti plodov jabolk (Flegar, 2014). Pri obravnavi s 120 kg N/ha nismo ugotovili nobenega pozitivnega vpliva na obarvanost plodov, trdoto, škrobni indeks, vsebnost skupnih kislin, zato sklepamo, da jablana nima potrebe po tako visokih odmerkih dušika. Pridobiva ga tudi iz svojih lastnih zalog in pri procesu mineralizacije organske snovi v tleh.

Za senzorično zaznavo je pomembno razmerje med sladkorji in kislinami, ki naj bi bilo optimalno v stadiju užitne zrelosti. Pri dolgotrajnem skladiščenju imajo prednost plodovi z višjo vsebnostjo kislin. Meritve so pokazale, da je bila vsebnost skupnih kislin najvišja z gnojilom BI (5,06 g/L), najnižjo vrednost je imel kontrolni vzorec (3,96 g/L), mineralna gnojila so imela zelo podobne vrednosti skupnih kislin v plodovih, povprečne vrednosti (4,14 g/L). Višjo vsebnost kislin pri organski pridelavi citrusov navajajo Rapisarda in sod. (2005), ki je lahko obratno sorazmerna s količino dodanega dušika. Do Amarante in sod. (2008) pa navajajo nižje vrednosti skupnih kislin v organsko pridelanih jabolkih.

Štampar in sod. (2009) navajajo, da veljajo za tehnološko zrelost pri sorti 'Gala' naslednji značilni parametri: ŠI 5-6; trdota 6,8-7,0 kg/cm²; SS 11,5-12,5 %; titrabilne kisline 3,1-4,2 g/L. Naši vzorci jabolk gnojeni z mineralnim in organskim virom dušika so v povprečju dosegli naslednje vrednosti: ŠI 6,5, trdota 9,6 kg/cm², SS 12,4 %, vsebnost titrabilnih kislin pa je bila 4,4 g/L. Kot je razvidno, najbolj izstopajo v parametru trdote, ostale meritve pa so bile v značilnem okviru za sorto 'Gala'.

5.1.2 Vpliv gnojenja na vsebnost skupnega dušika

Z gnojenjem z dušikom se vsebnost beljakovin v rastlini poveča, kot tudi vsebnost amino kislin (AK). Pri tem pa gre velikokrat za povečanje le fiziološko manj pomembnih AK, kot sta glutaminska kislina ali prolin, vsebnost esencialnih aminokislin, ki so v prehrani fiziološko pomembne pa se obenem zmanjšuje. Do Amarante in sod. (2008) razlagajo, da je plodove glede načina pridelave moč ločiti po vsebnosti dušika, ki je večinoma višji v mesu in lupini plodov konvencionalne pridelave. Razlog za višje vsebnosti dušika pri konvencionalni pridelavi so uporabljena neorganska dušična gnojila, ki so v primerjavi z dušikom iz organskih gnojil veliko hitreje razpoložljiva rastlini (Rapisarda in sod., 2005).

V našem poskusu tega ni možno razbrati, saj so največ skupnega dušika vsebovali prav vzorci gnojeni z organskim gnojilom, v povprečju 0,038 g/100g skupnega dušika, sledili so vzorci gnojeni z mineralnim gnojilom (0,028 g/100g), najnižjo vsebnost skupnega dušika (0,027 g/100g) pa so imeli kontrolni, negnojeni plodovi.

Potrebe po dušiku za optimalno rast so nekje 2-5 % suhe snovi, odvisno od rastlinske vrste in razvojne stopnje organa. Visoke koncentracije dušika so lahko vzrok za porušeno razmerje plodov, ki lahko posledično izzove neželene fiziološke bolezni ali fiziološke motnje pri dozorevanju (Brence, 2013).

5.1.3 Vpliv gnojenja na sekundarne metabolite plodov

Na biosintezo sekundarnih metabolitov (flavonoidov, antocianov) ima oskrba z dušikom negativen vpliv. Mnogi navajajo, da se s povečevanjem količine dušika koncentracija

polifenolov zmanjšuje. Najvišjo povprečno vrednost skupnih fenolnih spojin (SFS) smo določili v jabolkih gnojenimi z mineralnimi gnojili (252 mg/L), najnižjo povprečno vrednost pa v negnojenih vzorcih (186 mg/L). Najvišje vsebnosti SFS so dosegla jabolka gnojena z gnojilom KAN (278 mg/L), sledijo ji vrednosti dosežene z gnojilom UR (259 mg/L), vzorci pridelani z organskim gnojilom BI so dosegli nekoliko nižjo povprečno vrednost (239 mg/L), kar je bilo pod našimi pričakovanji, saj mnogi navajajo, da so v organsko pridelanih plodovih dosežene višje vsebnosti fenolnih snovi, predvsem zaradi biotskega stresa, kateri inducira biosintezo polifenolov. Hecke in sod. (2006) so v svoji raziskavi jabolk 'Gala' in 'Zlati delišes' pridelanih po smernicah ekološke in integrirane pridelave, prišli do zaključka, da imajo plodovi pridelani na ekološki način, mnogo več fenolnih snovi.

Iz naših rezultatov vsebnosti fenolnih snovi plodov ne moremo trditi, da je možno ločevati med obema načinoma pridelave. Tudi Roussos in Gasparatos (2009) in Bizjak Bat in sod. (2012) ugotavljajo, da se vsebnost fenolnih snovi v jabolkih konvencionalne ali ekološke pridelave ne razlikuje. Kar nekaj avtorjev je prišlo celo do nasprotnih ugotovitev, kjer so imeli organsko pridelani plodovi nižje vsebnosti fenolnih snovi (Del Amor in sod., 2008). Ni pa mogoče podati jasne razlage, saj na sekundarne metabolite vpliva več faktorjev. Stracke in sod. (2009) navajajo, da imajo klimatski dejavniki zelo močan vpliv na vsebnost polifenolov.

Antioksidativni potencial (AOP) je v veliki meri odvisen od sorte jabolk, pri jabolkih z rdečo lupino je antioksidativni potencial pričakovano višji, kot pri jabolkih z zeleno rumeno lupino. Kot lahko opazimo je AOP v jabolkih tesno povezan z vsebnostjo SFS, več je SFS, višji je njegov AOP. Kot je razvidno iz rezultatov, je imela pridelava značilen vpliv na vsebnost obeh merjenih parametrov, tako AOP kot tudi SFS. Pri obeh meritvah smo v jabolkih dosegli višje vrednosti s pomočjo apliciranih mineralnih gnojil (0,269 mmol/L), nekoliko nižje vsebnosti smo izmerili s pomočjo organskega gnojila (0,245 mmol/L). Pidelava brez dodanega gnojila je dosegla najnižje vsebnosti AOP (0,220 mmol/L) in SFS (186 mg/L).

Bavec in sod. (2010) so v svoji študiji zaznali višji AOP pri organsko pridelani zelenjavi v primerjavi s konvencionalno pridelano. Stracke in sod. (2009) navajajo, da so imela v njihovi raziskavi jabolka z organskim gnojenjem 7-27 % višji AOP. Medtem ko so nekateri drugi avtorji Lamperi in sod. (2008); Bizjak Bat in sod. (2012); Knap in sod. (2014b) ugotovili, da so razlike v AOP vrednosti glede na način pridelave statistično neznačilne. Salandanan in sod. (2009) navajajo, da je za vrednost AOP in SFS v njihovi dvoletni študiji vplivala v največji meri sorta kultivarja in okoljske interakcije, manj pa uporabljena gnojila. Prav tako Faller in Fialho (2010) razlagata, da je visok AOP del prirojenega obrambnega mehanizma rastline, ki ga izzovejo stresne razmere, kot so temperaturne spremembe, izpostavljenost UV žarkom in napadi patogenih organizmov.

5.1.4 Vpliv gnojenja na maščobnokislinsko sestavo

V kožici jabolk se nahajajo voski, ki so estri višjih alkoholov in višjih maščobnih kislin. Meritve so pokazale, da vsebujejo jabolka sorte 'Gala' gnojena z različnimi vrstami gnojil, največ linolne kisline (C18:2), predvsem negnojen vzorec je izstopal z vrednostjo 52,2 ut. %. Uporaba organskega gnojila je imela vpliv na višje vsebnosti C18:0, C18:1 in C20:0.

Prevladujoče maščobne kisline v jabolkih (preglednica 17) so večkrat nenasičene MK s 55,8 ut. % od skupnih maščobnih kislin. Iz prehranskega vidika sta pomembni linolna (C18:2, n-6) s 44,2 ut. % in alfa-linolenska (C18:3, n-3) MK z 11,6 ut. %. Najbolj zastopana nasičena maščobna kislina v naši lupini jabolk gnojenimi z mineralnim in organskim virom dušika, pri vseh gnojilih in pri obeh odmerkih dodanih gnojil, je linolna kislina. Podobne rezultate so dale tudi raziskave, kot navajajo Kadunc (2005) za pečke različnih kultivarjev jabolk in za pečke šestih kultivarjev hrušk (Bižal, 2006). Omenjene raziskave so namreč pokazale, da pečke naštetih kultur vsebujejo največ linolne kisline (C18:2, n-6). Belitz (2009) navaja, da vsebujejo jabolka večinoma oleinsko, linolno, palmitinsko in stearinsko maščobno kislino. Do sedaj je bila večina opravljenih raziskav na maščobnokislinski sestavi pešk ali semenih plodov, za maščobnokislinsko sestavo lupine jabolk ni na razpolago primerljivih virov.

5.1.5 Vpliv gnojenja na razmerja stabilnih izotopov ogljika in dušika

Izotopska sestava ogljika

Gnojenje s pomočjo mineralnih gnojil zagotovi rastlini večjo preskrbo z dušikom, kot z organskim gnojilom, kar lahko vpliva na vsebnost izotopa ogljika pri poteku fotosinteze in njegovo diskriminacijo proti težjemu ^{13}C atomu (Flores in sod., 2007). Bizjak Bat in sod. (2012) so ugotovili, da je razmerje $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ močno povezano s sorto rastline. Konvencionalno pridelana jabolka naj bi imele nižje $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v pulpi kot ekološko pridelana jabolka.

Jabolka spadajo med C_3 rastline, za nastanek sladkorjev uporabljajo Calvinov cikel. Povprečna $\delta^{13}\text{C}$ vrednost v jabolčnih sokovih je -25,3‰ (AOAC, 1997). Naši vzorci so zavzemali najvišje izmerjene vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ v sladkorjih, med -26,6 ‰ in -24,6 ‰ (povprečje -25,4 ‰). Najnižje $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti v vseh vzorcih so imele meritve v jabolčni pulpi, povprečna vrednost je bila -25,9 ‰, enako povprečna vrednost smo določili v peškah -25,9 ‰. Vrsta gnojila vpliva najbolj na vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ v peškah jabolk, odmerek gnojila pa nima nobenega značilnega vpliva. Meritve $\delta^{13}\text{C}$ so najbolj učinkovite pri ugotavljanju botaničnega izvora rastlin in potvorbe živil (Ogrinc in sod., 2009), kot navajajo Kozić in sod. (1993) za določanje trsnega sladkorja ali koruznega sirupa v medu, vinu, kot tudi pri pomarančnih in jabolčnih sokovih.

Povprečna vrednost $\delta^{13}\text{C}$ sladkorjev ekološke pridelanih jabolk je $-25,3\text{‰}$, za konvencionalne pa $-25,4\text{‰}$. Vrednost $\delta^{13}\text{C}$ v peškah je pri ekoloških vzorcih znašala $-25,3\text{‰}$, medtem ko je bila vrednost pri konvencionalni pridelavi nižja, in sicer $-26,0\text{‰}$.

Analiza $\delta^{13}\text{C}$ pulpe je pokazala višjo vrednost za konvencionalno pridelana jabolka $-25,6\text{‰}$, ekološkim pa smo izmerili nižjo vrednost $-26,1\text{‰}$. Razlogi za odstopanja so različni, eden od glavnih razlogov je vpliv sprememb klimatskih razmer, ki se letno spreminjajo in vplivajo na naravne vsebnosti ogljikovih izotopov. Na nižji delež težjega izotopa ogljika lahko vpliva tudi večja mikrobna aktivnost v zemlji pri organskih gnojilih (Camin in sod., 2011).

Izotopska sestava dušika

Pri ekološkem načinu pridelave uporabljamo organska gnojila, medtem ko se pri konvencionalni pridelavi poslužujemo mineralnih gnojil. Mineralna dušikova gnojila imajo $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti od -2 do $+2\text{‰}$ (Bateman in sod., 2007) organska pa znatno višje, od 10 do 20‰ , zato smo pričakovali, da bo delež izotopa ^{15}N večji v ekološko pridelanih plodovih. Določanje razmerja $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ se je izkazalo za dobro metodo razlikovanja med obema načinoma pridelave. Tudi Rogers (2008) in Rapisarda in sod. (2005), so v študijah pokazali, da so vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v organski pridelavi višje v primerjavi z vrednostmi iz konvencionalne pridelave. Iz naših rezultatov so bile po pričakovanjih določene najnižje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v peškah ($3,4\text{‰}$) pri vzorcih gnojenih z gnojilom KAN, saj je bila v tem gnojilu tudi najnižja izmerjena vrednost $\delta^{15}\text{N}$ ($-1,1\text{‰}$). Z mineralnim gnojilom UR smo dosegli precej podobne meritve $\delta^{15}\text{N}$ v peškah, kot pri gnojenju z organskim gnojilom BI, kar gre morda pripisati komponenti gnojila, ki izhaja iz naravne oblike živalske sečnine.

Rezultati analiziranih vzorcev jabolk kažejo razlike v povprečnih vrednostih $\delta^{15}\text{N}$ glede na način gnojenja v sadovnjaku. Vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v peškah jabolk iz ekološke pridelave so v razponu od $3,0\text{‰}$ do $4,9\text{‰}$, njihovo povprečje je $4,7\text{‰}$, v primerjavi s konvencionalno povprečno vrednostjo $3,9\text{‰}$. Ta parameter se je statistično značilno razlikoval od ostalih gnojenih plodov z mineralnimi gnojili. Pri meritvah $\delta^{15}\text{N}$ v pulpi jabolk ne opazimo tako velike razlike med načini pridelave, pa vendar je pri ekoloških jabolkih dosežena višja vrednost $\delta^{15}\text{N}$ ($3,6\text{‰}$), pri konvencionalni pa je ta vrednost nekoliko nižja ($3,4\text{‰}$). Glede na naše rezultate lahko sklepamo, da vrsta uporabljenega gnojila vpliva na $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v pulpi, predvsem v peškah, medtem ko odmerek apliciranega gnojila nima zaznavnega vpliva. Nekatere študije omenjajo, da je potrebno pri konvencionalni pridelavi upoštevati, da se poleg uporabe mineralnih gnojil za izboljšanje tal dodajajo nekateri organski dodatki, kar pa lahko vpliva na višje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ tako v zemlji, kot tudi ostalih delih rastlin (Flores in sod., 2007).

Šturm in Lojen (2010) v svoji raziskavi pridelave zelenjave ugotavljata, da je ekološko pridelana zelenjava imela med $0,8$ in $6,3\text{‰}$ višje vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ v primerjavi s konvencionalno pridelano zelenjavo iste vrste. Nakano in sod. (2003) so v svoji raziskavi gnojenja paradižnika s konvencionalnimi in organskimi metodami, ugotovili dobro

korelacijo med vrednostjo ^{15}N in načinom gnojenja. Tudi Bateman in sod. (2007) so na podlagi analiz ekološko in konvencionalno pridelane solate, paradižnika in korenja ugotovili, da parameter ^{15}N lahko služi kot eden izmed indikatorjev pri ugotavljanju avtentičnosti ekološko pridelane zelenjave, podobno ugotavljata Nakano in Uehara (2007) za paradižnik, kumare, jajčevce, papriko in buče.

5.1.6 Vpliv gnojenja na elementno sestavo

Elementi v analiziranih vzorcih si sledijo po naslednjem zaporedju od najvišje koncentracije (mg/L) do najnižje: $\text{K} > \text{Mg} > \text{P} > \text{Ca} > \text{Cl} > \text{S} > \text{Rb} > \text{Fe} > \text{Mn} > \text{Zn}$. Petrović (2011) prav tako navaja da sorta 'Gala' vsebuje v povprečju največ kalija (895 mg/L), povprečna meritev naših vzorcev jabolk je bila 922 ± 85 mg/L.

Statistično značilna razlika med načini pridelave se je pokazala pri vsebnosti kalija in železa. Worthington (2001) je primerjal rezultate primerljivih študij konvencionalne in ekološke pridelave in določil več Fe (21 %), Mg (29 %) in P v organsko pridelanih rastlinah, vsebnost magnezija in kalija naj bi bila pogojena z načinom pridelave (Do Amarante in sod., 2008). Iz naših vzorcev jabolk (preglednica 20) je pri ekološki pridelavi opazna višja vsebnost S, Mn, Fe, medtem ko so v konvencionalno pridelanih plodovih najvišje vsebnosti dosegli elementi Mg, P, Cl, Zn, Rb. Jabolka brez dodanega gnojila so imela najvišjo vsebnost K in Ca. Roussos in Gasparatos (2009) navajata možnosti razlikovanja med organsko pridelanimi plodovi po vsebnosti N, P, K, Ca in Na v primerjavi s konvencionalnimi.

Knap in sod. (2014a) so ugotovili, da se vsebnost elementov v pridelkih ne razlikuje glede na način kmetovanja. Tudi ostali avtorji navajajo, da ni jasne ločbe v elementni sestavi plodov glede na način pridelave. Muršec in sod. (2004) so v svojem dvoletnem poskusu ugotovili nizko stopnjo korelacije med tlemi in plodovi glede elementne sestave (Ca, Mg, K), kar dokazuje kompleksnost razmerja med tlemi in drevesom. Za dostopnost hranil je zelo pomembna vlažnost tal (Mihelič in sod., 2010). Na splošno ne bi mogli trditi, da ima ekološko pridelano sadje višjo vsebnost analiziranih elementov.

Elementno sestavo in kakovost plodov, ni mogoče neposredno povezovati z elementno sestavo in hranili v tleh, ker na kakovost plodov vpliva še veliko drugih dejavnikov, kot so vremenske razmere, genetski potencial, agrotehnični ukrepi, obremenjenost drevesa, čas obiranja, itd. (Muršec in sod., 2004).

5.2 SKLEPI

Na podlagi opravljenega poskusa na plodovih jabolk sorte 'Gala' pridelanih z različnimi gnojili, lahko povzamemo naslednje ugotovitve:

- Jabolka gnojena z mineralnimi gnojili so dosegla višjo maso od jabolk gnojenih z organskim gnojilom.
- Večji kot je odmerek dušika, slabše je obarvanje plodov. Negnojena jabolka so bila najintenzivneje obarvana.
- Uporaba mineralnih dušikovih gnojil poveča trdoto mesa plodov ter odloži zorenje, zmanjša se razgradnja škroba.
- Na vsebnost suhe snovi vplivajo dodana mineralna gnojila, najvišjo suho snov so imela jabolka z gnojilom AD, z organskim gnojilom pridelana jabolka so imela vsebnost suhe snovi pod povprečjem vseh meritev.
- Pri vsebnosti skupnih fenolnih spojin in antioksidativnega potenciala ni razlik med organskim in mineralnim gnojenjem. V povprečju smo višje vrednosti AOP in SFS izmerili v plodovih z mineralnimi gnojili pri manjšem odmerku dušika (60 kg N/ha).
- Izmerjene vrednosti maščobnokislinske sestave kožic jabolk, so pokazala največje vsebnosti v vrednosti stearinske, oleinske in arahidonske kisline pri organsko gnojenih jabolkih.
- $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti so bile z uporabo organskih gnojil značilno višje v peškah jabolk gnojenih z organskim gnojilom (4,7 ‰), pri jabolkih gnojenih z mineralnimi gnojili je bila povprečna vrednost $\delta^{15}\text{N}$ v peškah nižja (3,9 ‰). Določitev te vrednosti se je izkazala kot dober pokazatelj razlikovanja med različno gnojenimi pridelki jabolk.
- S pomočjo $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti izmerjene v pulpi plodov ni možno ločevanje med različnimi gnojenji, saj so bile razlike med obema vrstama uporabljenih gnojil premajhne. Organsko gnojena jabolka so imela v povprečju vrednost $\delta^{15}\text{N}$ v pulpi 3,6 ‰, jabolka gnojena z mineralnimi gnojili pa nekoliko nižjo 3,4 ‰, vendar v okviru napake meritev.
- Višje vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ smo določili v izoliranih sladkorjih z uporabo organskega gnojila, vendar meritve niso dale rezultatov, s katerimi bi plodove gnojene z organskim gnojilom lahko z gotovostjo ločili od tistih, ki so bili gnojene z mineralnim gnojilom.
- Največje razlike v $\delta^{13}\text{C}$ vrednostih so bile določene v peškah.
- Rezultati meritev različno gnojenih jabolk so pokazali, da s pomočjo vsebnosti elementne sestave jabolčnega soka ni mogoče jasno razlikovati glede na vrsto uporabljena gnojila (mineralna/organska).

6 POVZETEK

Potrošnikovo zanimanje za zdravje, s pomočjo varno pridelane hrane in istočasnim obvarovanjem okolja ter spodbujanjem biotske raznovrstnosti, je v stalnem porastu. Zahteve na trgu po kakovosti jabolk se prav tako večajo. Želja vseh je kupiti kar se da zdrav in hranljiv sadež brez ostankov pesticidov in ostalih zdravju škodljivih snovi.

Z raziskavo smo želeli ugotoviti s katerimi parametri lahko ločujemo sadje pridelano na konvencionalen (z mineralnimi gnojili) ali ekološki način (z uporabo organskih gnojil). V okviru diplomske naloge smo primerjali plodove jabolk (*Malus domestica* Borkh.) glede na način gnojenja v sadovnjaku. Poskus je bil opravljen na sorti 'Gala' cepljeni na podlago M9 v poskusnem sadovnjaku Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Univerze v Mariboru (Univerzitetni kmetijski center Pohorski dvor) v rastni sezoni 2010. Jablanam smo dodali štiri različna gnojila: organsko gnojilo Biosol (BI) in tri mineralna gnojila - KAN, Urea (UR), Apneni dušik (AD). Vsako obravnavanje z gnojilom smo aplicirali v dveh količinah (60 kg N/ha oziroma 120 kg N/ha). Poskus smo izvedli tudi na negnojeni parceli, ki je služila kot kontrola.

Na obranih plodovih smo izvedli meritve izotopske sestave C v sladkorjih, pulpi in peškah, ter N v pulpi in peškah. Uporabili smo masni spektrometer za analitiko stabilnih izotopov lahkkih elementov (IRMS) s preparativnim nastavkom za tekoče in trdne vzorce ANCA-SL. Elementno sestavo jabolčnih sokov (P, S, Cl, K, Ca, Zn, Br, Rb) smo določili z rentgensko fluorescenčno spektrometrijo (TXRF). Na vzorcih smo opravili tudi ostale fizikalnokemijske analize in izmerili kakovostne parametre plodov. Merili smo obarvanost plodov, maso, trdoto, suho snov, škrobni indeks in skupne titracijske kisline. Določali smo še vsebnosti skupnih fenolnih snovi in antioksidativni potencial, vsebnost skupnega dušika (beljakovin), ter maščobnokislinsko sestavo v kožici jabolk.

Glede na predstavljene rezultate, lahko povzamemo, da med jabolki, gnojenimi z organskim in mineralnim gnojilom obstajajo statistične razlike v nekaterih parametrih. Opazne so v določenih kakovostnih parametrih in zrelostnih faktorjih. Pri gnojenju z mineralnimi gnojili vpliva uporaba lahko topnih mineralnih gnojil na večjo maso plodov, trdoto in kasnejšo razgradnjo škroba v jabolkah. S pomočjo uporabe mineralnih gnojil v sadovnjaku smo ugotovili tudi manjšo obarvanost plodov, vendar ta ni bila statistično značilno različna.

Na podlagi naših meritev skupnih fenolov in antioksidativnega potenciala ni bilo mogoče ločiti jabolka gnojena z različnimi gnojili (organski/mineralni vir dušika), kot smo predpostavljali. Vsebnost skupnih fenolov je bila najvišja pri vzorcih gnojenih z mineralnim gnojilom KAN (278 mg/L), najnižjo vsebnost so imeli negnojeni kontrolni vzorci (186 mg/L). Povprečne vrednosti SFS v plodovih z uporabo organskega gnojila so bile 239 mg/L, pri uporabi mineralnih gnojil je bila povprečna vsebnost skupnih fenolnih spojin 252 mg/L. Posledično je bil tudi AOP nižji pri plodovih gnojenih z organskim

gnojilom in je znašal 0,245 mmol/L, medtem ko je pri plodovih gnojenih z mineralnim gnojilom znašal AOP 0,269 mmol/L.

Z določanjem izotopskega razmerja $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ in $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ smo ugotovili razlike, vendar zaradi manjšega razpona rezultatov ne moremo z gotovostjo trditi, da je to metoda, za uspešno razlikovanje med načini pridelave glede na uporabljena različna gnojila. Potrdimo pa lahko domnevo, da predstavljajo višje $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti v plodovih jabolk gnojenimi z organskim gnojilom pomemben parameter pri razlikovanju med konvencionalno in ekološko pridelavo. Največja razlika v povprečni vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ je bila izmerjena v peškah, ki je višja v ekoloških plodovih (z uporabo organskega gnojila) 4,7 ‰, medtem ko je v konvencionalno pridelanih (s pomočjo mineralnih gnojil) dosegla 3,9 ‰. Vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ izmerjene v pulpi jabolk so bile v razponu med 3,0 ‰ in 4,9 ‰, razlika med povprečnima vrednostima $\delta^{15}\text{N}$ glede na vrsto uporabljena gnojila, pa ni pokazala razlike, saj se $\delta^{15}\text{N}$ vrednosti razlikujejo v okviru merilne napake ($\delta^{15}\text{N} = 3,6$ ‰ za pridelavo z organskim gnojilom; $\delta^{15}\text{N} = 3,4$ ‰ za pridelavo z mineralnimi gnojili).

Vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ so nekoliko višje v izoliranih sladkorjih in peškah vzorcev gnojenih z organskim gnojilom, medtem ko so vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ izmerjene v pulpi nekoliko nižje v primerjavi z mineralno gnojenimi jabolki. Povprečno najnižje vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ smo izmerili v pulpi jabolčnega soka -25,9 ‰, najvišje pa v izoliranih sladkorjih -25,4 ‰. Med vrstama uporabljenih gnojil je največji razpon v vrednosti $\delta^{13}\text{C}$ v peškah, in sicer so jabolka gnojena z organskim gnojilom imela vrednost -25,3 ‰, z mineralnimi gnojili pa -26,0 ‰.

Z metodo TXRF smo v vzorcih določali koncentracijo posameznih elementov. Jabolka so povprečno vsebovala največ K, Mg, P, Ca, Cl, S, ter ostale mikroelemente Rb, Fe, Mn, Zn. Rezultati so pokazali, da se vsebnost elementov v pridelkih glede na uporabljena gnojila statistično razlikuje le po vsebnosti K in Fe. Zaznati je bilo višje vsebnosti S, Ca, Mn in Fe pri gnojenju z organskim gnojilom. Pri konvencionalni pridelavi (z mineralnimi gnojili) so bile nekoliko višje vrednosti Cl, P, K in Zn, v primerjavi z ekološko pridelanimi plodovi (z uporabo organskega gnojila), vendar te razlike niso bile zadostne in statistično značilne, da bi jih lahko upoštevali pri razlikovanju med različnimi vrstami uporabljenih gnojil.

Ekološko pridelano sadje je boljše predvsem v tem, da vsebuje manj škodljivih snovi, kot so razni ostanki pesticidov in podobnih sredstev, na kemijsko sestavo pa vplivajo v veliki meri tudi drugi dejavniki. V naši raziskavi smo obravnavali le eno organsko gnojilo in tri mineralna gnojila, ter tako imeli morda premajhno število vzorcev, da bi v vseh merjenih parametrih plodov dobili reprezentativne rezultate. Zagotovo lahko trdimo, da ima gnojenje pomemben vpliv pri razvoju jabolk in nekaterih kakovostnih parametrov, sinteza organskih bioaktivnih snovi plodu pa je zelo kompleksna. Iz naših meritev ne moremo potrditi, da je imel odmerek gnojila na določen merjen parameter večji vpliv. Pomembno je zagotoviti rastlinam primerne kmetijske prakse, ki pozitivno vplivajo na sintezo primarnih in sekundarnih metabolitov in večji vsebnosti hranilnih snovi, ter imajo minimalno negativen vpliv na širše okolje.

7 VIRI

- Abbott J. A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 207–225
- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. 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: 23-32
- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. *Farmacevtski vestnik*, 48: 573-589
- Apples. 2012. Raleigh, Ford's Produce: 1 str.
<http://www.fordsproduce.com/galleries/Apples.html> (april, 2016)
- AOAC Official Method 981.09. 1997. Carbon stable isotope ratio of apple juice. V: *Official ~~Methods~~–~~methods~~ of ~~Analysis~~analysis. Vol. 2.* Cunniff P. (ed.). 16th ed. Gaithersburg, AOAC International, ~~2~~Chapter 37: 19-20
- ARSO. 2010. Podnebje: Meteorološki letopisi: Leto 2010. Ljubljana, Agencija Republike Slovenije za okolje: 1 str.
<http://meteo.arso.gov.si/met/sl/climate/tables/yearbook/2010/> (maj, 2016)
- 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, 7: 2664-2670
- 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. spp. *Vulgaris Rote Kugel*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 11825-11831
- Bavec M. 2004a. Ekološka živila – tržna priložnost v Sloveniji. V: *Varnost živil*. 22. Bitenčevi živilski dnevi, Radenci 18. in 19. marec 2004. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 153-171
- Bavec M. 2004b. Rodovitna tla in podlaga z uspešno ekološko pridelavo zelenjave. *SAD*, 15, 9: 167-195
- Bavec M. 2001. *Ekološko kmetijstvo*. Ljubljana, Kmečki glas: 448 str.
- Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P. 2009. *Food chemistry*. 4th rev. and extended ed. Berlin, Springer: 1070 str.
- 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 practice. *Food Technology and Biotechnology*, 50, 1: 107-116

Bizjak Bat K. 2016. Karakterizacija slovenskega jabolčnega soka glede na geografsko poreklo in način pridelave jabolk. Doktorska disertacija. Nova Gorica, Fakulteta za podiplomski študij: 157 str.

Bižal Ž. 2006. Vsebnost maščobnih kislin v peškah različnih kultivarjev hrušk. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 42 str.

Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 634 str.

Brence A. 2013. Gnojenje in prehrana dreves. V: Tehnološka navodila za pridelovanje jabolk. Bizjak V. (ur.). Ljubljana, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije: 25-35

Camin F., Perini M., Bontempo L., Fabroni S., Faedi W., Magnani S., Baruzzi G., Bonoli M., Tabilio MR, Musmeci S, Rossmann A., Kelly S.D., Rapisarda P. 2011. Potential isotopic and chemical markers for characterising organic fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 125: 1072-1082

Cevc M. 2003. Fiziološki in terapevtski učinki omega-3 VNMK. V: 24. Radenski dnevi, Program in zbornik prispevkov. Radenci, 26. in 27. maj 2006. Kenda M. F., Fras Z. (ur.). Ljubljana, Združenje kardiologov Slovenije: 41-42

Clark J. 2000. The mass spectrometer. Cambridge, Chemguide: 7 str.
<http://www.chemguide.co.uk/analysis/masspec/howitworks.html> (maj, 2016)

Del Amor F. M., Nevarro J., Aparicio P.M. 2008. Isotopic discrimination as a tool for organic farming certification in sweet pepper. *Journal of Environmental Quality*, 37, 1: 182-185

Del Fabro A. 2004. Naravno gnojenje za zeliščni, sadni in okrasni vrt. Ljubljana, Delo revije: 91 str.

Dermastia M. 2007. Pogled v rastline. Ljubljana, Nacionalni inštitut za biologijo: 130 str.

Do Amarante C.V.T., Steffens C.A., Mafra A.L., Albuquerque J.A. 2008. Yield and fruit quality of apple from conventional and organic production systems. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43: 333-340

Doberšek U. 2003. Določanje mineralov v medu z rentgensko fluorescenčno spektroskopijo. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 92 str.

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, 6: 561-568

- Flegar M. 2014. Vpliv gnojenja s kalcijem in dušikom na antioksidativni potencial in skupne fenole v jabolkih. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 63 str.
- Flores P., Fenoll J., Hellin P. 2007. The feasibility of using $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values for discriminating between conventionally and organically fertilized pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 14: 5740-5745
- Ghidini S., Ianieri A., Zanardi E., Conter M., Boschetti T., Iacumin P., Bracchi P. G. 2006. Stable isotopes determination in food authentication. Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma, 26: 193-204
- Godec B., Hudina M., Usenik V., Fajt N., Koron D., Solar A., Vesel V. Ambrožič Turk B., Vrhovnik I., Kodrič I. 2011. Sadni izbor za Slovenijo 2010. Ljubljana, Orbis: 15 str.
- Golob T., Doberšek U., Kump P., Nečemer M. 2005. Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. Food Chemistry, 91: 593-600
- Golob T. 2000. Vsebnost vitamina C v zelenjavi v zimskem času. Sodobno kmetijstvo, 33, 11/12: 484-485
- Guček M., Marsel J., Ogrinc N., Lojen S. 1998. Stable isotopes determinations in some fruit juices to detect added sugar. Acta Chimica Slovenica, 45, 3: 217-228
- Gvozdenović D. 1989. Od obiranja sadja do prodaje. Ljubljana, Kmečki glas: 291 str.
- Heaton T.H.E. 1986. Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere. Chemical Geology, 59: 87-102
- Hecke K., Herbinger K., Veberič R., Trobec M., Toplak H., Štampar F., Keppel H., Grill D. 2006. Sugar-, acid- and phenol content in apple cultivars from organic and integrated fruit cultivation. European Journal of Clinical Nutrition, 60: 1136-1140
- Hohn E. 1990. Quality criteria of apples. Acta Horticulturae, 285: 111-118
- Hribar J., Plestenjak A. 1993. Pentozani – motnost sokov in koncentratov. V: Ogljikovi hidrati. 15. Bitenčevi živilski dnevi, 10. in 11. junij, 1993. Plestenjak A., Žlender B., Hribar J., Zeleznik-Blatnik M. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 127-132
- Hribar J., Simčič M. 2000. Antioksidanti v sadju in vrtninah. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L., Hočevnar I. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 151-158

- Hribar J., Vidrih R. 2001. Sadje, zelenjava – Funkcionalna živila? V: Antioksidanti v živilstvu. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B. Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 231-235
- Hribar J., Vidrih R. 2009. Zelenjava, sadje in sokovi kot izvor biološko pomembnih mineralov. V: Antioksidanti v živilstvu. 26. Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana, 26. in 27. november 2009. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 171-177
- Jakopič J., Slatnar A., Štampar F., Veberič R., Simončič A. 2011. Analysis of selected primary metabolites and phenolic profile of 'Golden Delicious' apples from four production systems. *Fruits Journal*, 67, 5: 377-386
- Jazbec M., Vrabl S., Juvanc J., Babnik M., Koron D. 1995. Sadni vrt. Ljubljana, Kmečki glas: 159-179
- Jenkinson D.S., Coleman K., Harkness D.D. 1995. The influence of fertilizer nitrogen and season on the carbon-13 abundance of wheat straw. *Plant Soil*, 171, 2: 365-367
- Kadunc M. 2005. Vsebnost višjih maščobnih kislin v peckah in koži različnih kultivarjev jabolk. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 65 str.
- Klofutar C. 1992. Fizikalno kemijske lastnosti triacilglicerolov. V: Lipidi. 14. Bitenčevi živilski dnevi 1992, Ljubljana, 4. - 5. junij 1992. Klofutar C., Žlender B., Hribar J., Plestenjak A. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21
- Kmecl V. 2012. Mineralne oblike dušika. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 4 str.
http://www.kis.si/Mineralne_oblike_dusika/ (maj, 2016)
- Knap M., Nečemer M., Kump P., Potočnik K., Vidrih R. 2014a. The content of minerals in Slovenian organic and conventional produced fruits, herbs and vegetables. *Acta Agriculturae Slovenica*, 103, 2: 271-279
- Knap M., Ogrinc N., Potočnik K., Vidrih R. 2014b. Antioxidant activity in selected Slovenian organic and conventional crops. *Acta Agriculturae Slovenica*, 103, 2: 281-289
- Košir I. J., Kocjančič M., Ogrinc N., Kidrič J. 2001. Use of SNIF-NMR and IRMS in combination with chemometric methods for the determination of chaptalisation and geographical origin of wines (The example of Slovenian wines). *Analytica Chimica Acta*, 429, 2: 195:206
- Koziet J., Rossmann A., Martin G. J., Ashurst P.R. 1993. Determination of carbon-13 content of sugars of fruit and vegetable juices: A European inter-laboratory comparison. *Analytica Chimica Acta*, 271: 31-38

- Kreft I., Škrabanja V., Bonafaccia G. 2000. Temelji prehranskih in biotskih vplivov antioksidantov. 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: 33- 38
- Krišković P. 1989. Biološko pridelovanje hrane. Ljubljana, Kmečki glas: 217 str.
- Lamperi L., Chiuminatto U., Cincinelli A., Galvan P., Giordani E., Lepri L. 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
- Lancaster J.E., Grant J.E., Lister C.E., Taylor M. 1994. Skin color in apples – influenced of copigmentation and plastid pigments in shade and darkness of red color in five genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119: 63 -69
- Leskošek M. 1993. Gnojenje: za velik in kakovosten pridelek, za izboljšanje rodovitnosti tal, za varovanje narave. Ljubljana, Kmečki glas: 197 str.
- Lara M. V., Andreo C. S. 2011. C4 plants adaptation to high levels of CO₂ and to drough environments. V: Abiotic stress in plants - mechanism and adaptations. Shanker A. (ed.). Rijeka, Intech Open Science, 18: 415-428
- Lind K., Lafer G., Schloffer K., Innerhofer G., Meister H. 2001. Ekološko sadjarstvo. Ljubljana, Kmečki glas: 314 str.
- Martin G.J. 1990. The chemistry of chaptalization. *Endeavour*, 14, 3: 137-143
- Mengel K., Kirkby E.A., Kosegarten T. 2001. Principles of plant nutrition. 5th ed. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 849 str.
- Mihelič R., Čop J., Jakše M., Štampar F., Majer D., Tojnko S., Vršič S. 2010. Smernice za strokovno utemeljeno gnojenje. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 182 str.
- Muršec M., Štampar F., Lobnik F. 2004. Vpliv tal in foliarnega gnojenja s kalcijem na kakovost plodov jablane (*Malus domestica* Borkh.) 'Jonagold'. *Acta Agriculturae Slovenica*, 83, 2: 353 – 363
- Nakano A., Uehara Y. 2007. Effects of different kinds of fertilizer and application methods on ¹⁵N values of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Saturn). *Japan Agricultural Research Quarterly*, 41, 3: 219-226

- Nakano A., Uehara Y., Yamauchi A. 2003. Effect of organic and inorganic fertigation on yields, $\delta^{15}\text{N}$ values and $\delta^{13}\text{C}$ values of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Soil*, 255, 1: 343-349
- Ogrinc N. 2015. Uporaba metode stabilnih izotopov in drugih metod za določanje sledljivosti in pristnosti živil na tržišču. V: Veliki spomladanski živilski seminar, 22. april, 2015. Ljubljana, Gospodarska zbornica Slovenije: 17 str.
<https://www.gzs.si/Portals/Panoga-Kmetijska-Zivilska/7%20Nives%20Ogrinc.pdf>
(maj, 2016)
- Ogrinc N., Bat K., Košir I. J., Golob T., Kokkinofa R. 2009. Characterization of commercial Slovenian and Cypriot fruit juices using stable isotopes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 15: 6764-6769
- Ogrinc N., Kanduč. T., Nečemer M., Mazej D., Kump P. 2012. Uporaba stabilnih izotopov za določanje pristnosti in geografskega porekla prehrabnih izdelkov: mleko in mlečni izdelki. V: Trendi in izzivi v živilstvu, prehrani, gostinstvu in turizmu. 2. mednarodna konferenca, Ljubljana 16. in 17. nov. 2012. Kržin Stepišnik J. (ur.). Ljubljana, Biotehnični izobraževalni center: 120-126
- Park P. W., Goins R.E. 1994. In situ preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *Journal of Food Science*, 59, 6F:1262-1266
- Petrović B. 2011. Razlike v kemijski in izotopski sestavi konvencionalno in ekološko pridelanih jabolk. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 98 str.
- Pezdič J. 1999. Izotopi in geokemijski procesi: univerzitetni učbenik. Ljubljana, Naravoslovnotehniška fakulteta, Oddelek za geologijo: 269 str.
- Plestenjak A., Golob T. 2003. Analiza kakovosti živil. 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 102 str.
- Podgoršek J. 2011. Vpliv izbora gnojil na varovanje okolja. *Gospodarjenje z okoljem*. Ljubljana, Biteks, 20, 79: 17-20
- Požar J., Pukšič J. 2003. Hranoslovje – zdrava prehrana. Maribor, Založba Obzorja: 190 str.
- Pravilnik o integrirani pridelavi sadja. 2010. Uradni list Republike Slovenije, 20, 110: 16996-17001
- Proizvodi za varstvo in prehrano rastlin. 2012. Ruše, Agroruše: 84 str.
- 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, 7: 2664-2669

- Referenčne vrednosti za vnos hranil. 2004. Ljubljana, Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 215 str.
- Revesz K. M., Landwehr J. M., Keybl J. 2001. Measurement of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ isotopic ratios of CaCO_3 using a thermoquest finnigan gasbench II delta plus XL continuous flow isotope ratio mass spectrometer with application to devils hole core DH-11 calcite. Open File Report 01-257. Virginia, U.S. Geological Survey: 17 str.
- 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, 11: 4078-4083
- Rossmann A., 2001. Determination of stable isotope ratios in food analysis. *Food Reviews International*, 17: 347-381
- Roussos P. A., Gasparatos D. 2009. Apple tree growth and overall fruit quality under organic and conventional orchard management. *Scientia Horticulturae*, 123, 2: 247-252
- Rudan-Tasič D. 2000. Vitamin C. 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: 39-41
- Salandanan K., Bunning M., Stonaker F., Külen O., Kendall P., Stushnoff C. 2009. Comparative analysis of antioxidant properties and fruit quality attributes of organically and conventionally grown melons (*Cucumis melo* L.). *Hortscience*, 44, 7: 1825-1932
- Salobir B., Šabovič M., Terčelj M., Preložnik Zupan I., Bregar U., Prezelj M. 2008. Vpliv jabolk na antioksidativni status telesa. V: Zbornik referatov 2. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo. Krško, 31. jan.–2. feb. 2008. Hudina M. (ur.). Ljubljana, Strokovno sadjarsko društvo: 83-89
- Salobir K. 2001. Prehransko fiziološka funkcionalnost maščob. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B. Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 121-137
- Sancin V. 1988. Sadje z našega vrta. Trst, Založništvo tržaškega tiska: 376 str.
- Simčič M., Hribar J., Brodnik U. 2001. Compartmentisation and nutritional value of polyphenols and ascorbic acid in apples. V: The book of abstracts. European Scientific Symposium Molecular and genetic interactions in phytochemicals. Gozd Martuljek, Slovenija. 17. – 20. sept. 2000. Kreft I., Škrabanja V. (eds.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 203-208
- Singleton V. L., Rossi J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal for Enology and Viticulture*, 16: 144-158

- Slekovec M. 2005. Splošna in anorganska kemija. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo: 261 str.
- Souci S.W., Fachmann W., Kraut H., 2000. Food composition and nutrition tables. 6th ed. Stuttgart, Medpharm, CRC Press: 635-689
- Stangl M. 2011. Sadje z domačega vrta: vse o sortah, sajenju, oskrbi in obiranju, Ljubljana, Mladinska knjiga, 2011: 215 str.
- Stracke B. A., Rüfer C. E., Weibel F. P., Bub A., Waltz B. 2009. Three-year comparison of the polyphenol contents and antioxidant capacities in organically and conventionally produced apples (*Malus domestica* Bork. Cultivar 'Golden delicious'). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57, 11: 4598-4605
- SURS, 2015. Pridelava sadja v intenzivnih sadovnjakih in oljk v intenzivnih oljčnikih, Slovenija, letno: Jabolka, 2015. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije: 1str. http://pxweb.stat.si/pxweb/Dialog/varval.asp?ma=1502404S&ti=&path=../Database/Okolje/15_kmetijstvo_ribistvo/04_rastlinska_pridelava/01_15024_pridelki_povrsina/&lang=2 (maj, 2016)
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. Sadjarstvo. 2. dop. izd. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Štampar F., Usenik V. 1996. Nove smeri v pridelavi sadja. V: Tehnologija, hrana, zdravje. 1. slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo. Bled, 21 – 25 april 1996. Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 270-276
- Šturm M., Lojen S. 2010. Izotopska sestava dušika v ekološko in konvencionalno pridelani zelenjavi na slovenskem trgu. V: Novi izzivi v poljedelstvu 2010, Zbornik simpozija Rogaška Slatina, 2. in 3. december 2010. Kocjan Ačko D., Čeh B. (ur.). Ljubljana, Slovensko agronomsko društvo: 232-238
- Šuvak A. 2013. Vpliv dušika na vsebnost antocianov in klorofila v plodovih jabolane (*Malus domestica* Borch.). Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 34 str.
- Uno G., Storey R., Moore R. 2001. Principles of botany. New York, The McGraw Hill Companies: 240-249
- Unuk T. 2006. Analiza interakcije oveska in odmerkov dušika pri optimiranju pridelka jablan 'Zlati delišes'. Doktorska disertacija. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede: 1-40
- Veberič R., Colarič M., Štefančič M., Hudina M., Solar A., Mikulič Petkovšek M., Usenik V., Osterc G., Jakopič J. 2008. Fenolne snovi v sadju. V: Zbornik referatov 2. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško 31. januar – 2.

- februar 2008. Hudina M. (ur.). Ljubljana, Strokovno sadjarsko društvo Slovenije: 75-81
- Veberič R., Trobec M., Herbinger K., Hofer M., Grill D., Štampar F. 2005. Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars of organic and integrated production. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 85, 10: 1687-1694
- Vidrih R., Hribar J. 2002. Optimalni rok obiranja sadja. *Brdstika. Priloga tednika Kmečki glas za sadjarje in vinogradnike*, 1, 3: 4-5
- Vidrih R., Kač M. 2000. Analitika antioksidantov. 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: 101-114
- Viršček Marn M., Stopar M. 1998. Sorte jabolk. Ljubljana, Kmečki glas: 211 str.
- Vrhovšek U. 2001. Flavonoidi kot predstavniki antioksidantov. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 97-106
- Vrzel J., Ogrinc N. 2009. Uporaba izotopov pri karakterizaciji podzemnih vod in njihovih interakcijah s površinskimi vodami. Ljubljana, Odsek o oznanosti o okolju, Institut »Jožef Stefan«, *Ekolist*: 4 str.
http://www.ekolist.si/datoteke/ekolist_09/Ekolist_09_S081.pdf(marec, 2016)
- Zupan M., Grčman H., Kočevar H. 1998. Navodila za vaje iz pedologije. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 62 str.
- WHO. 2003. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. Geneva, World Health Organization: 81-90
- Worthington V. 2001. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables and grains. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 7, 2: 161-173

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Rajku Vidrihu in somentorici prof. dr. Nives Ogrinc za strokovno vodstvo in podporo pri izdelavi diplomske naloge.

Recenzentki izr. prof. dr. Nini Kacjan Maršič se zahvaljujem za hiter pregled diplomskega dela.

Zaposlenim na Katedri za tehnologije, prehrano in vino Oddelka za živilstvo gre zahvala za tehnično pomoč pri laboratorijskem delu. Prav tako hvala prof. dr. Demšar Lei za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Zahvala vsem zaposlenim Rektorskega centra Inštituta Jožef Stefan v Podgorici, ki ste pripomogli pri pridobivanju rezultatov ter Karmen Bizjak Bat za koristne informacije in napotke.

Knjižničnemu osebju, Lini Burkan Makivić in Barbari Slemenik se zahvaljujem pri pregledu zaključnega dela in urejanju literature.

Posebna srčna zahvala mojim najdražjim za vsestransko podporo in vsem prijateljem za vzpodbude ter sošolcem za prijetne spomine na študijska leta. Hvala vsem!