

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Slađana PRAĆA

**PREHRANSKE TER FIZIKALNO-KEMIJSKE
LASTNOSTI PLODOV NAVADNEGA
KOPRIVOVCA
(*Celtis australis*)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2006

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Slađana PRAĆA

**PREHRANSKE TER FIZIKALNO-KEMIJSKE
LASTNOSTI PLODOV NAVADNEGA KOPRIVOVCA
(*Celtis australis*)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**NUTRITIONAL AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF
HACKBERRY (*Celtis australis*)**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2006

POPRAVKI:

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologije rastlinskih živil in Katedri za kemijo Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Rajka Vidriha, za somentorico prof. dr. Natašo Poklar Ulrich in za recezentko prof. dr. Veroniko Abram.

Mentor: doc. dr. Rajko Vidrih

Somentorica: prof. dr. Nataša Poklar Ulrich

Recenzentka: prof. dr. Veronika Abram

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat avtorjevega lastnega raziskovalnega dela.

Slađana Prača

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn
UDK 634.6: 543.61 (043) = 863
KG navadni koprivovec /*Celtis australis*/vsebnost suhe snovi/vsebnost vode/ minerali /proteini/rastlinski pigmenti/vsebnost skupnih maščob/maščobnokislinska sestava /vlaknine/antioksidativna učinkovitost/fenolne spojine
AV PRAĆA, Slađana
SA VIDRIH, Rajko (mentor) / POKLAR ULRIH, Nataša (somentorica) / ABRAM, Veronika (recenzentka)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2006
IN PREHRANSKE TER FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI PLODOV
NAVADNEGA KOPRIVOVCA (*Celtis australis*)
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP XI, 72 s., 24 pregl., 22 slik, 64 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V diplomski nalogi smo določali prehranske in fizikalno-kemijske lastnosti plodov navadnega koprivovca (*Celtis australis*). Določali smo: pepel, surova vlakna, proteine, antioksidativno učinkovitost, vitamine in minerale (Mg, Ca, Pb, Cu, Cd, Ni, Mn, Zn, Fe, Ci, Na, K, P), vsebnost maščobnih kislin in skupnih maščob v zrelem plodu navadnega koprivovca. Ugotovili smo, da vsebujejo jedrca navadnega koprivovca 18,1 % vode ter 6,7 % maščob. Prevladajoče maščobne kisline v maščobi iz jedrc plodov navadnega koprivovca so: linolna (76,29 %), oleinska (14,18 %), stearinska (2,81 %) in palmitinska kislina (6,72 %). Prav tako smo ugotovili, da plodovi vsebujejo 4,89 % proteinov, 18,6 % reducirajočih sladkorjev, 0,78 % dušika ter določili vsebnost fenolnih spojin (od 0,2318 do 0,5885 mmol/g).

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
UDC 634.6: 543.61 (043) = 863
CX hackberry /*Celtis australis*/dry weight/water content/minerals/protein/plant pigments/total fats/fatty acids composition/fibers/ antioxidant potencial/ phenolics
AU PRAČA, Slađana
AA VIDRIH, Rajko (supervisor) / POKLAR ULRIH, Nataša (co-advisor) / ABRAM, Veronika (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2006
TI NUTRITIONAL AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF HACKBERRY (*Celtis australis*)
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 72 p., 24 tab., 22 fig., 64 ref.
LA sl
AL sl/en
AB In the graduation thesis were determined nutritional and physico-chemical properties of ripe hackberry fruits (*Celtis australis*). We have determined: dry weight, water content, crude fiber, proteins, antioxidative potencial, vitamins and minerals (Mg, Ca, Pb, Cu, Cd, Ni, Mn, Zn, Fe, Ci, Na, K, P). Ripe hackberry fruits contain 18,1 % water and 6,7 % fats. Prevailing fatty acids in the seeds of hackberry fruits are: linoleic (76,29 %), oleic (14,18 %), stearic (2,81 %) and palmitic (6,72 %) fatty acids. We have also find that seeds contain 4,89 % proteins, 18,6 % reducing sugars, 0,78 % nitrogen and phenolic compounds (from 0,2318 to 0,5885 mmol/g).

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
1.1 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 NAVADNI KOPRIVOVEC (<i>Celtis australis</i>)	3
2.1.1 Izvor in botanična razvrstitev	3
2.1.2 Morfološke in fiziološke značilnosti	4
2.1.3 Podnebne in talne zahteve	5
2.1.4 Kemijska sestava plodov	5
2.2 MAŠCOBE	6
2.3 OGLJKIKOVI HIDRATI	8
2.3.1 Vlaknine	10
2.4 PROTEINI	11
2.4.1 Vloga proteinov v živih organizmih	13
2.5 VITAMINI	14
2.6 PIGMENTI	17
2.6.1 Lutein	17
2.6.2 Klorofil in β-karoten	17
2.7 MINERALI	19
2.8 FENOLNE SPOJINE	21
2.7.1 Flavonoidi	21
3 MATERIAL IN METODE	23
3.1 PLAN DELA	23
3.2 MATERIAL	23
3.3 METODE DELA	23
3.3.1 Določanje vsebnosti vode	23
3.3.1.1 S sušenjem	23
3.3.2 Določanje vsebnosti suhe snovi	24
3.3.2.1 Z refraktometrom	24
3.3.3 Razklop pepela za določanje mineralov	24
3.3.4 Določanje vsebnosti mineralov	25
3.3.4.1 Določanje Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb in drugih mikroelementov	25
3.3.4.2 Določanje kalija in natrija	26
3.3.4.3 Določanje vsebnosti fosforja	28
3.3.5 Določanje rastlinskih pigmentov	30
3.3.5.1 Določanje vsebnosti tokoferola	30
3.3.6 Določitev vsebnosti skupnih maščob po Soxhletu	31
3.3.7 Določanje vsebnosti posameznih maščobnih kislin	32
3.3.8 Spektrofotometrično določanje skupnih fenolnih spojin z metodo po Singletonu in Rossiju	34
3.3.8.1 Princip	34

3.3.8.2 Izvedba	35
3.3.9 Določanje skupnih fenolov po Waterman in Mole-u.....	37
3.3.9.1 Princip.....	37
3.3.9.2 Izvedba	37
3.3.10 Določanje vlaknin z metodo po Scharrer-Kürschnerju.....	39
3.3.10.1 Princip.....	39
3.3.10.2 Izvedba	39
3.3.11 Določanje beljakovin z metodo po Kjeldahlu	40
3.3.11.1 Princip.....	40
3.3.11.2 Kemizem.....	40
3.3.11.3 Izvedba	41
3.3.12 Antioksidativna učinkovitost.....	41
3.3.12.1 Princip.....	41
3.3.12.2 Liofilizacija.....	42
3.3.12.3 Izvedba liofilizacije	42
3.3.12.4 Izvedba določanja antioksidativne učinkovitosti.....	43
3.3.13 Določanje vsebnosti sladkorja pred in po inverziji metoda po Luff-Schoorlu.....	45
3.3.13.1 Princip.....	45
3.3.13.2 Kemizem.....	45
3.3.13.3 Izvedba	45
4 REZULTATI.....	47
4.1 VSEBNOST VODE	47
4.2 VSEBNOST SUHE SNOVI	47
4.2.1 Določanje z refraktometrom.....	47
4.3 DOLOČANJE VSEBNOSTI MINERALOV	48
4.4 DOLOČANJE VSEBNOSTI RASTLINSKIH PIGMENTOV	52
4.5 VSEBNOST SKUPNIH MAŠČOB	53
4.6 VSEBNOST MAŠČOBNIH KISLIN	54
4.7 DOLOČANJE SKUPNIH FENOLOV	55
4.8 DOLOČANJE VLAKNIN	57
4.9 DOLOČANJE VSEBNOSTI PROTEINOV	58
4.10 ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST	58
4.11 DOLOČANJE VSEBNOSTI SLADKORJEV	61
5 RAZPRAVA IN SKLEPI.....	63
5.1 RAZPRAVA	63
5.2 SKLEPI	65
6 POVZETEK.....	66
VIRI	67

**ZAHVALA
PRILOGA**

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Kemijska sestava plodov navadnega koprivovca (Demir in sod., 2002).....	5
Preglednica 2:	Kemijska sestava plodov različnega sadja. Vsi minerali so podani v mg/100 g brezvodnega vzorca, razen J ₂ , ki je podan v µg/100 g brezvodnega vzorca (Kluthe in Rippoldsau, 2004)	6
Preglednica 3:	Količinsko in fiziološko pomembne maščobne kisline hrane, njihov fiziološki učinek in vloga (Salobir, 2001).....	8
Preglednica 4:	Vsebnost vlaknin v nekaterih živilih (Požar, 2003).....	10
Preglednica 5:	Strukturne formule AK (Aminokisline) (Aminokisline, 2004).....	12
Preglednica 6:	Nekatera splošna dejstva o posameznih vitaminih (Kač, 2001).....	15
Preglednica 7:	Pregled najpomembnejših mineralov – priporočljive dnevne količine (RDA), povprečen dnevni vnos in naravni viri (Paš, 2001).....	20
Preglednica 8:	Priprava serij standardnih raztopin (Hodnik, 1988).....	29
Preglednica 9:	Priprava vzorcev za polarno in nepolarno fazo.....	44
Preglednica 10:	Rezultati vsebnosti vode v zračno suhem in svežem vzorcu mezokarpa in jedrcov.....	47
Preglednica 11:	Osnovni statistični parametri za vsebnost suhe snovi v svežem vzorcu, ki smo jo merili z refraktometrom.....	48
Preglednica 12:	Vsebnost mineralov v jedrcih navadnega koprivovca (mg/100 g sušine) in osnovni statistični parametri (povprečje, standardna deviacija-sd, koeficient variabilnosti-KV).....	48
Preglednica 13:	Vsebnost mineralov v mezokarpu navadnega koprivovca (mg/100 g sušine) in osnovni statistični parametri (povprečje, standardna deviacija-sd, koeficient variabilnosti-KV).....	49
Preglednica 14:	Primerjava vsebnosti mineralov v mezokarpu navadnega koprivovca z vsebnostjo mineralov v mezokarpu dateljnov (mg/100 g sušine)..	51
Preglednica 15:	Vsebnosti pigmentov pri določenem volumnu vzorca, izražene kot µg/g sušine in osnovni statistični parametri (povprečje, standardna deviacija-sd, koeficient variabilnosti-KV).....	52

Preglednica 16:	Vsebnost maščob (%) v zračnosuhih jedrcih navadnega koprivovca.....	53
Preglednica 17:	Rezultati maščobnokislinske sestave jedrc navadnega koprivovca v šestih vzorcih.....	54
Preglednica 18:	Vsebnost fenolnih spojin po Singletonu in Rossiju v navadnem koprivovcu in izračun povprečja, standardne deviacije (sd) ter koeficiente variabilnosti (KV).....	55
Preglednica 19:	Vsebnost fenolnih spojin po Waterman-Mole v navadnem koprivovcu, izražena v mmol klorogenske kisline/g sveže mase plodov navadnega koprivovca.....	57
Preglednica 20:	Primerjava vsebnosti vlaknin v svežem in suhem vzorcu.....	57
Preglednica 21:	Vsebnost beljakovin v plodovih navadnega koprivovca.....	58
Preglednica 22:	Množinsko razmerje med DPPH [•] in nekaterimi antioksidanti.....	60
Preglednica 23:	Vsebnost klorogenske kisline in α-tokoferola v vzorcih, ki so bili ekstrahirani z različnimi topili.....	61
Preglednica 24:	Vsebnost reducirajočih sladkorjev.....	62

KAZALO SLIK

Slika 1:	Botanični prikaz vej navadnega koprivovca (<i>Celtis australis</i> , 2006).....	3
Slika 2:	Fotografija drevesa navadnega koprivovca.....	4
Slika 3:	Strukturna formula vitamina A (retinola), retinala in retinojske kisline, katerim je prekurzor β -karoten (http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/misc_topics/vitamina.gif).....	16
Slika 4:	Strukturna formula vitamina E (tokoferola) (Elmadfa, 2004).....	16
Slika 5:	Strukturne formule klorofila in β -karotena (Klorofil in betakaroten).....	18
Slika 6:	Strukturna formula fenola (Klofutar in sod., 1998).....	21
Slika 7:	Osnovna strukturna formula flavonoidov (2-fenil-benzopiran oz. 2-fenilkroman) (Abram, 2000).....	21
Slika 8:	Slika dvožarkovne aparature za AAS (Veber, 2005).....	26
Slika 9:	Funkcionalna shema emisijskega spektrofotometra (Veber, 2005).....	27
Slika 10:	Priprava vzorca za določanje fenolnih spojin (FSP).....	34
Slika 11:	2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH \bullet).....	41
Slika 12:	Postopek priprave vzorcev-voda kot topilo.....	43
Slika 13:	Vsebnosti mineralov v jedrcih navadnega koprivovca.....	50
Slika 14:	Vsebnosti mineralov v mezokarpu ploda navadnega koprivovca.....	50
Slika 15:	Primerjava vsenosti mineralov v navadnem koprivovcu z vsebnostjo mineralov v dateljnih.....	51
Slika 16:	Vsebnost pigmentov v vzorcu N2 in vzorcu R.....	53
Slika 17:	Prikaz maščobnokislinske sestave v šestih vzorcih jedrc navadnega Koprivovca.....	54

Slika 18:	Umeritvena krivulja za določanje skupnih fenolov po Singletonu in Rossiju (odvisnost absorbance ($\lambda=765$ nm) od masne koncentracije galne kisline).....	55
Slika 19:	Umeritvena krivulja za določanje skupnih fenoln snovi po metodi Waterman in Mole ($\lambda=746$ nm).....	56
Slika 20:	Odvisnost množine porabljenega DPPH [•] od množine askorbinske kisline (◆), α tokoferola (▲) in klorogenske kisline (■) v reakcijski zmesi.....	59
Slika 21:	Odvisnost množine porabljenega DPPH [•] od množine dehidroaskorbinske kisline (◆) in glutationa (■) v reakcijski zmesi.....	59
Slika 22:	Vpliv različnih topil na ekstrakcijo antioksidantov. Pri polarnih topilih (voda, metanol, aceton) smo rezultate izrazili s klorogensko kislino (mg/g vzorca), pri nepolarnih topilih (etanol, diklorometan) pa smo rezultate izrazili z α-tokoferolom (mg/g vzorca).....	60

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AAS	atomska absorpcijska spektrometrija
AK	aminokislina
DHA	dehidroaskorbinska kislina
DPPH [•]	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
F-C	Folin-Ciocalteau reagent
FSP	fenolne spojine
GL	galna kislina
IS	interni standard
KG	klorogenska kislina
KV	koeficient variabilnosti
LDL	lipoprotein majhne gostote
MK	maščobne kisline
SD	standardni odmik
TF	tokoferol

1 UVOD

Navadni koprivovec je drevo vrste *Celtis australis*, ki spada v družino *Ulmaceae*. Vse vrste *Celtis* so izredno cenjene zaradi kvalitete lesa in kot okrasna drevesa. Uspevajo predvsem v tropskih in toplih področjih. Koprivovec, ki raste na vzhodnem delu ZDA se imenuje *C. occidentalis*. Ima svetlozelene brstične liste s tremi vidnimi venami, ki rastejo iz steba in ima kot grah velike vijolično-črne sadeže, ki privlačijo ptice (Gilman in Watson, 1993). Skorja navadnega koprivovca je ponavadi prekrita z majhnimi izboklinami. Pogosto ga sadijo kot okrasno rastlino in doseže višino 12-30 m. Mississippi koprivec (*C. laevigata*) je manjše drevo in ga najdemo predvsem v centralni S. Ameriki. Mediteranski koprivovec ali evropski koprivovec (*C. australis*) je okrasno drevo, ki ima suličaste, travnato zelene liste in užitne plodove premora 1 cm (Demir in sod., 2002).

Pri nas najdemo navadni koprivovec na Primorskem, pod Sv. Valentynom pri Solkanu in ob reki Branici v Vipavski dolini. Sadijo ga pa tudi v ljubljanskih parkih (Brus, 1998).

Sadeži so adstringenti, lenitivi in stomahiki. Adstringenti so proteinski precipitanti omejene prodrorne moči. To pomeni, da so sposobni koagulirati proteine na površini celic, kar pa ne povzroči celične smrti in s tem povzročijo splošno krčenje tkiva. Adstringenti ustavlja krvavitev majhnih ureznin in blažijo otekline (Laptoš, 2004). Lenitivi blažijo bolečine, stomahiki pa so sredstva, ki spodbujajo izločanje želodčnih sokov in zbujojo tek. Zrele in nezrele sadeže smatrajo za medicinsko zelo pomembne surovine (Chevallier, 1996). Izvlečki iz listov in sadežev služijo za zdravljenje amenoreje, močnih menstrualnih ciklusov in notranjih krvavitev ter kolikov (Chopra in sod., 1986), (Duke in Ayensu, 1985). Prav tako služijo kot sredstvo za krčenje sluznične membrane pri diareji, griži in peptičnih razjedah (Chevallier, 1996).

Poznano je, da je oksidacijski stres, ki ga povzročijo prosti radikali, pomemben dejavnik pri razvoju artritisa, kot tudi eden glavnih vzrokov za večino najbolj kroničnih degenerativnih bolezni in staranja. Naravni antioksidanti so predvsem fenolne spojine. Od fenolnih spojin lahko kot antioksidanti učinkujejo flavonoidi, derivati cimetne kisline in kumarini. V večjih koncentracijah pogosto fenolne spojine izgubijo svojo antioksidativno učinkovitost in se začnejo obnašati celo kot prooksidanti (Abram in Simčič, 1997).

Običajno je v rastlinah od 1 do 2 % fenolnih spojin, včasih tudi več, medtem ko jih je v zrelih sadežih do 8 % (Kays, 1991). V telo vsak dan vnašamo do 1g fenolnih spojin (Abram in Simčič, 1997). Rastlinski fenoli so pomembni s senzoričnega stališča, ker prispevajo k okusu, vonju in barvi živil ter pijač (Lee, 1992).

Človek normalno zaužije dnevno med 60 in 100 g maščob (lipidov). 90 % lipidov v hrani so triacilgliceroli; večinoma tisti z dolgimi verigami maščobnih kislin (16-18 C atomov), zelo malo pa je tistih s kratkimi (2-4 C atomov) in srednjimi (6-10 C atomov) verigami. Preostalih 10 % lipidov v hrani tvorijo fosfolipidi (npr. lecitin), holesterol in njegovi estri ter (v maščobah topni) vitamini A, D, E, K (Koren, 1999).

Lipidi so shranjeni v celicah rastlin in sodelujejo pri nastajanju membran. Medcelični transport lipidov poteka v obliki majhnih agregatov, ki jih imenujemo lipoproteini. Lipidi igrajo tudi pomembno vlogo pri mnogih obolenjih, npr. aterosklerozi in žolčnih kamnih. Značilna komponenta mnogih lipidov so maščobne kisline (Klofutar in sod., 1992).

1.1 DELOVNE HIPOTEZE

Namen diplomske raziskave je bil ugotoviti prehransko in fizikalno-kemijsko vrednost plodov navadnega koprivovca.

Na začetku raziskave smo predpostavili naslednje hipoteze:

- plodovi koprivovca vsebujejo prehransko pomembne vlaknine, fenolne spojine, minerale ter karotenoide.
- jedrca plodov koprivovca vsebujejo prehransko pomembne maščobne kisline.

2 PREGLED OBJAV

2.1 NAVADNI KOPRIVOVEC (*Celtis australis*)

Drevo navadnega koprivovca preživi več kot 400 let in raste do 900 m nadmorske višine. Njegov plod je kroglast, mesnat, do 1 cm širok in z izredno velikim jedrcem (Grlič, 1986).

2.1.1 Izvor in botanična razvrstitev

Koprivovec je drevo vrste *Celtis australis*, ki spada v družino *Ulmaceae*. Raste tako rekoč po vsem Sredozemlju, najdemo ga v severni Afriki, v Mali Aziji, na Krimu, na Kavkazu in na območjih do Irana, na severu pa pride po nekaterih toplih dolinah vse do Švice. Pogosto jih sadijo kot okrasna drevesa.

Pri nas ga najdemo vse do Alp in njihovi okolici, podobno tudi na toplih mestih vzdolž pečin po vsem Kraškem robu. Znani sta tudi nahajališči pod Sv. Valentynom pri Solkanu in ob reki Branici v Vipavski dolini. Konec 19. stoletja so koprivovec botaniki navajali še na večih mestih na Primorskem, v notranjosti pa celo v okolici Celja in pri Planini pri Sevnici, vendar tam vrsta pozneje ni bila več potrjena.

Danes koprivovec v notranjosti Slovenije redko sadijo, čeprav na posamezna drevesa naletimo tudi po ljubljanskih parkih, pogostejši pa je na Primorskem. Enega največjih koprivovcev pri nas, prsni obseg njegovega debla je 260 cm, si lahko ogledamo na trgu v središču Dekanov (Brus, 1998).



Slika 1: Botanični prikaz vej navadnega koprivovca (*Celtis australis*, 2006)



Slika 2: Fotografija drevesa navadnega koprivovca

2.1.2 Morfološke in fiziološke značilnosti

Navadni koprivovec je listnato drevo, ki doseže višino od 12 do 30 m. Cveti v aprilu, plodovi pa dozorijo nekje v oktobru. Cvetovi so dvospolni in se oprasijo s pomočjo čebel. Ima svetlozelene brstične liste, ki imajo pogosto tri vidne vene, ki rastejo iz stebla na katerih so kot grah veliki sadeži, vijolično-črni, ki privlačijo ptice. Skorja drevesa je ponavadi prekrita z majhnimi izboklinami in je gladka ter svetlosiva. Močno razpoka šele pri starejših drevesih in zelo spominja na bukev.

Listi navadnega koprivovca so podolgovato jajčasti in po obliki nekoliko spominjajo na koprivove (od tod seveda njegovo ime), dolgi so do 15 cm. Odrasli listi so po peclju in po spodnji strani rahlo dlakavi, imajo pa tri enakovredne glavne žile in asimetrično listno dno. Koščičasti plodovi grahove velikosti, sprva zeleni, konec poletja porumenijo, nazadnje počrnijo, so užitni (Brus, 1998).

2.1.3 Podnebne in talne zahteve

Navadni koprivovec rad uspeva na rahli, peščeni in srednje ilovnati ter suhi zemlji. Raste lahko v izredno neplodni zemlji. Uspeva tako v kisli kot bazični ali nevtralni prsti. Nima pa rad sence oziroma senčne lege.

Kdor hoče koprivovec najti v naravi, ga mora iskati v sončnih legah na topih, suhih rastiščih, na kamnitih ali peščenih, najraje apnenčastih tleh. Je svetloljubna in počasi rastoča vrsta in kljub temu, da je doma predvsem v submediteranu, prenese tudi nekaj nižje temperature. Za pogozdovanje suhih in kamnitih kraških tal je ena najbolj primernih, a žal, premalokrat uporabljenih vrst (Brus, 1998).

2.1.4 Kemijska sestava plodov

Plodovi navadnega koprivovca so kot grah veliki, vijolično-črni z nekoliko delikatno aromo in tankim slojem sladkega mesa in imajo razmeroma veliko jedrce. Iz jedrc pridobivajo posebno olje (Jukopila, 1998).

Pri sestavi plodov navadnega koprivovca navajamo povprečne vrednosti posameznih komponent, ki smo jih izpisali iz navedenih virov.

Preglednica 1: Kemijska sestava plodov navadnega koprivovca (Demir in sod., 2002)

Komponenta	Vsebnost
Suha snov (%)	90,23
Proteini (%)	19,32
Maščobe (%)	6,70
Vlaknine (%)	4,40
Pepel (%)	15,29
Minerali	
Magnezij (Mg) (ppm)	6732,50
Kalcij (Ca) (ppm)	43975,09
Svinec (Pb) (ppm)	4,17
Baker (Cu) (ppm)	1,11
Kadmij (Cd) (ppm)	2,20
Nikelj (Ni) (ppm)	1,28
Mangan (Mn) (ppm)	22,50
Cink (Zn) (ppm)	3,46
Železo (Fe) (ppm)	21,37
Krom (Cr) (ppm)	3,11
Natrij (Na) (mg/kg)	59,52
Kalij (K) (mg/kg)	3523,66
Fosfor (P) (mg/kg)	1519,59

Preglednica 2: Kemijska sestava plodov različnega sadja. Vsi minerali so podani v mg/100 g brezvodnega vzorca (Kluthe in Rippoldsau, 2005)

	Ca	J ₂ [*]	Fe	Mg	P	K	Na	Zn	Proteini (g)	Vlaknine (g)
jabolka	7,00	2,00	0,48	6,00	11,00	144	3,00	0,12	0,34	2,00
breskev	7,00	1,00	0,48	9,00	25,00	176	1,00	0,14	0,80	2,30
marelica	17,00	1,00	0,65	10,00	20,00	280	2,00	0,13	0,90	1,90
sliva	13,00	0,10	0,40	8,00	23,00	240	2,00	0,10	0,60	2,30
dateljni	65,00	1,00	1,90	50,00	60,00	648	5,00	0,34	2,00	8,70
avokado	10,00	2,00	0,60	29,00	38,00	503	3,00	0,40	1,90	3,30

Legenda: * vrednost je podana v µg/100 g brezvodnega vzorca

2.2 MAŠČOBE

Maščobe so metabolično gorivo. Z njimi zagotavljamo od 20 do 30 % dnevnih potreb po energiji. Telesu zagotovimo tudi ustrezno količino v maščobah topnih vitaminov (A, D, E, K) ter esencialne maščobne kisline (Požar, 2003).

Pri ekstrakciji živalskega ali rastlinskega tkiva z nepolarnimi topili npr. z etrom, kloroformom ali benzenom, se raztopi določen del vzorca. Komponente topne frakcije s skupnim imenom imenujemo lipidi. Strukturno so lipidi heterogena zmes. V tem se bistveno razlikujejo od proteinov in ogljikovih hidratov, ki so strukturno enotne snovi. Med lipide uvrščamo naslednje strukturno različne snovi:

- proste karboksilne oziroma maščobne kisline
- triacilglicerole oziroma nevtralne maščobe
- fosfolipide
- glikolipide
- voske
- terpene
- steroide (Klofutar in sod., 1998).

Največji delež triacilglicerolov predstavlja maščobne kisline. Maščobne kisline vsebujejo dolgo alkilno verigo, ki vsebuje od 4 do 36 C atomov. Molekula maščobne kisline vsebuje eno samo polarno skupino tj. karboksilno skupino in dolgo nepolarno alkilno verigo. Zaradi take strukture so maščobne kisline netopne v vodi. Maščobne kisline v celicah niso proste, ampak so vedno kovalentno vezane na glicerol. S hidrolitskimi reakcijami so doslej izolirali vrsto maščobnih kislin. Kisline se med seboj ločijo v dolžini alkilne skupine in v legi dvojne vezi. Skoraj vse naravne maščobne kisline vsebujejo sodo število C-atomov. Najbolj pogosto najdemo v naravi kisline s šestnajstimi in osemnajstimi ogljikovimi atomi. Alkilna veriga kisline je lahko popolnoma nasičena, tj. vsebuje samo enojne vezi, ali pa je nenasičena in vsebuje eno ali več dvojnih vezi. V splošnem so nenasičene kisline dvakrat bolj pogoste kot nasičene kisline in to tako v rastlinskih kot živalskih lipidih. V večini nenasičenih kislin je dvojna vez med devetim in desetim ogljikovim atomom (Δ^9). Če pa vsebuje molekula maščobne kisline več dvojnih vezi,

potem so to med Δ^9 dvojno vezjo in končno metilno skupino. Kadar je v alkilni verigi več dvojnih vezi, te niso konjugirane, ampak so ločene z metilensko skupino. Dvojne vezi so v *cis*-konfiguracijski obliki, kar povzroča na mestu dvojne vezi pregib. Maščobne kislina z več dvojnimi vezmi imajo tudi ustrezno število pregibov. Tako ima npr. arahidonska kislina, ki vsebuje štiri dvojne vezi, kar štiri pregibe in je zaradi tega sorazmerno toga v primerjavi z nasičenimi maščobnimi kislinami, katere lahko zaradi proste rotacije okoli C-C vezi nastopajo v več konformacijskih oblikah.

Najbolj preprosti in najbolj pogosti naravni lipidi so triacilgliceroli, ki jih pogosto imenujemo maščobe, nevtralne maščobe ali triacilgliceridi. Triacilgliceroli so estri glicerola z maščobnimi kislinami in predstavljajo glavno komponento t.i. depot maščob, bodisi v rastlinskih ali živalskih celicah, niso pa vezane v membranah celic. Triacilgliceroli so nepolarne hidrofobne molekule, saj v svoji strukturi ne vsebujejo močno polarnih skupin. Triacilglicerole, ki vsebujejo zaestreno eno samo vrsto maščobne kislina imenujemo enostavni triacilgliceroli, kot so: tristearin, tripalmitin, triolein. Triacilgicerole, ki vsebujejo zaestreni dve ali več različnih maščobnih kislín, pa imenujemo mešani triacilgliceroli (Klofutar, 1992).

Esencialni maščobni kislini rastlinskega izvora sta linolna in linolenska. Nenasičene maščobne kisline omega-3 so dolgoverižne maščobne kisline z več dvojnimi vezmi in kaže da zmanjšujejo količino triglyceridov in holesterola v krvi ter preprečujejo zlepjanje krvnih ploščic (trombocitov). V naši običajni prehrani je teh maščobnih kislín zelo malo. Zaužitje preveč maščobnih kislín in v nepravilnem razmerju lahko vodi do težav s strjevanjem krvi ter pomanjkanjem vitamina E in ostalih vitaminov. Idealno razmerje med omega-6 maščobnimi kislinami in omega-3 maščobnimi kislinami je nekje med 5:1 do 10:1. Živila, ki vsebujejo nasičene maščobne kisline, so lahko funkcionalna živila, če so jim le te odstranjene, ostale maščobne kislíne pa so zaradi svojih ugodnih vplivov na fiziološke funkcije in na zdravje potencialno funkcionalne, z izjemo linolne (n-6) in arahidonske (n-6), ki ju je v naši prehrani običajno preveč (Salobir, 2001).

Maščobam podobne snovi ali lipoidi so lecitin, kefalin, holesterol, ergosterol, žolčne kislíne in karotenoidi. Karotenoidi so naravna rdeča in rumena rastlinska barvila. Pomemben predstavnik je betakaroten, ki je prekurzor vitamina A. Iz karotena organizem tvori vitamin A. Karotenoidi so pomembni, ker pripomorejo k skupni antioksidacijski učinkovitosti v biološkem sistemu (Požar, 2003).

Preglednica 3: Količinsko in fiziološko pomembne maščobne kisline hrane, njihov fiziološki učinek in vloga (Salobir, 2001)

vsakdanje ime	kratka oznaka	učinek, vloga
nasičene kisline - lavrinska - miristinska - palmitinska - stearinska	12:0 14:0 16:0 18:0	zvišuje raven holesterola v krvi (aterogena) najbolj aterogena aterogena pospešuje strjevanje krvi (trombogena)
enkrat nenasicičene - palmitoleinska - oljna (oleinska)	16:1 18:1	znižuje raven holesterola, ni podvržena peroksidaciji znižuje raven holesterola, ni podvržena peroksidaciji
večkrat nenasicičene - linolna - α -linolenska - γ -linolenska - dihomo γ -linolenska - arahidonska - eikozapentaenojska (EPA) - dokozaheksaenojska (DHA)	18:2n-6 18:3n-3 18:3n-6 20:3n-6 20:4n-6 20:5n-3 22:6n-3	antiaterogene esencialna m.k., predstopnja arahidonske esencialna m.k., predstopnja EPA in DHA funkcionalna pri multipli sklerozi predstopnja tkivnih hormonov n-6 vrste predstopnja tkivnih hormonov n-6 vrste predstopnja tkivnih hormonov n-3 vrste gradnik možganov, živčevja, očesne mrežnice pomembna za razvoj možganov, mrežnice

2.3 OGLJIKOVI HIDRATI

Tudi z ogljikovimi hidrati zagotavljamo organizmu potrebno energijo in sicer od 55 % do 75 % dnevnih potreb. V prehrani naj bi bilo največ 10 % enostavnih sladkorjev. Tudi vlaknine so pomembne, čeprav jih v prebavnem traktu s pomočjo encimov ne razgradimo; razgradijo jih bakterije v debelem črevesu.

Glede na število monomer delimo ogljikove hidrate na monosaharide, oligosaharide in polisaharide (Požar, 2003).

MONOSAHARIDI: (enostavni ogljikovi hidrati) so najbolj preprosto zgrajeni hidrati (ena molekula). Najpomembnejši naravni monosaharidi so pentoze in heksoze. Npr. D-riboza, D-glukoza in D-fruktoza (Klofutar in sod., 1998).

- Glukoza: nastane pri procesu fotosinteze v zelenih rastlinah. Najdemo jo v sadju, medu in nekaterih vrstah zelenjave.
- Fruktoza: je sestavina trsnega in pesnega sladkorja, najdemo jo v sadju in medu. Zmes fruktoze in glukoze imenujemo invertni sladkor, ki ga dobimo z inverzijo saharoze.
- Manoza: tvori hemicelulozo, v naravi ni prosta (Požar, 2003).

Monosaharidi so primarni oksidacijski produkti polihidroksi alkoholov. Delimo jih na aldoze in ketoze. Pri aldozah je oštevilčenje verige takšno, da ima karbonilni ogljikov atom številko 1, pri ketoza pa ogljikov atom karbonilne skupine številko 2. Po številu ogljikovih atomov v molekuli monosaharida aldoze delimo v: bioze, trioze, pentoze, heksoze, heptoze itd. (Klofutar in sod., 1998).

OLIGOSAHARIDI: Med oligosaharidi so zelo razširjeni in pomembni v prehrani disaharidi (sestavljeni ogljikovi hidrati), ki so zgrajeni iz dveh molekul monosaharidov. Disaharidi so saharoza (jedilni sladkor), maltoza in laktoza (mlečni sladkor v mleku).

- Saharoza: pridobivajo jo iz sladkorne pese in sladkornega trsa, nahaja se tudi v raznih plodovih in koreninah rastlin. Sestavljena je iz glukoze in fruktoze.
- Maltoza: je vmesni proizvod pri razgradnji polisaharidov.
- Laktoza: najdemo v mleku in mlečnih izdelkih. Sestavljena je iz glukoze in galaktoze.

POLISAHARIDI: (sestavljeni ogljikovi hidrati) so zgrajeni iz veliko molekul monosaharidov. Polisaharidi so škrob, dekstrin, glikogen (živalski škrob, rezervna snov v jetrih) in vlaknine (celuloza, hemiceluloza, pektin in lignin).

- Škrob: je v prehrani najpomembnejši polisaharid, sestavlja ga veliko molekul glukoze.
- Dekstrin: je vmesni produkt pri razgradnji škroba. Je topen v vodi in zato je lažje prebavljiv. Nastane s suhim segrevanjem škroba.
- Glikogen: (živalski škrob) je nakopičen v jetrih in mišicah. Predstavlja rezervo polisaharidov v telesu. Po potrebi ga pretvorimo v glukozo.
- Celuloza: tvori celične stene rastlin. V vodi ni topna, prebavni sokovi je ne razgradijo.
- Hemiceluloza: je v vseh rastlinskih tkivih. V vodi ni topna, vendar močno nabrekne.
- Pektin: z vodo tvori žele, ki ga lahko uporabljamo za pripravo slaščic in marmelad (Požar, 2003).

Pomembne naloge vlaknin so:

1. pospešujejo peristaltiko črevesja in prebavo ter preprečujejo zapeko (obstipacijo),
2. upočasnijo vsrkavanje hraničnih snovi skozi sluznico črevesja,
3. v vodi nabreknejo,
4. čistijo sluznico prebavnega trakta,
5. vežejo črevesne strupe,
6. upočasnijo praznjenje želodca (občutek sitosti, omogočajo vzdrževanje normalne telesne teže)

V prebavnem traktu se razgradijo škrob, dekstrin in glikogen, balastne snovi (vlaknine) pa ne. Kljub temu so izrednega pomena za naše zdravje (Požar, 2003).

Preglednica 4: Vsebnost vlaknin v nekaterih živilih (Požar, 2003)

Živilo 100 g	Vlaknine v g
črni ribez	8,7
banane	3,4
slive, suhe	16,1
zelje	2,7
kruh, graham	8,5
kruh, pšenični, beli	2,7
otrobi, pšenični	44,0
koruzni kosmiči	11,0
fižol, suh	10,3-42,7

2.3.1 Vlaknine

So sestavine živil rastlinskega izvora (celična stena rastlin), ki jih ne moremo prebaviti. V ožjem pomenu besede pravzaprav sploh niso živila, saj jih človek ne prebavlja. So kompleksni ogljikovi hidrati, vendar nimajo hranilne vrednosti in nam ne dajo energije. Kljub temu so bistveni faktor za naše zdravje. Strukturna enota, ki pogosto sestavlja vlaknine je glukoza. Večina znanstvenikov se strinja glede delitve vlaknin na topne in netopne v vodi. Ta podatek je pomemben za razumevanje različnih funkcij, ki jih opravlja v telesu. Najbolj znane v vodi topne vlaknine so: pektin, agar, guar; netopne pa: lignin, celuloza, hemiceluloza. Netopne vlaknine pospešujejo prebavo in gibanje hrane skozi prebavila ter vežejo velike količine vode. Takih razkrojimo v debelem črevesu zelo malo, izločamo jih večinoma nerazgrajene. Koristne so pri preprečevanju nastanka hemeroidov in rakastih obolenj na črevesju. Največ jih je v žitnem zrnu in zelenjavi. Topne vlaknine se v debelem črevesu razgradijo. Pri tem nastanejo maščobne kislina, ocetna kislina in razni plini. V telesu upočasnijo gibanje hrane skozi prebavila, znižujejo holesterol v krvi in krvni sladkor. Največ jih je v sadju, stročnicah in kosmičih.

Znanstveniki priporočajo, da zaužijemo vsak dan 30 g vlaknin. Po najnovejših raziskavah naj bi se količina gibala med 20 in 40 g. Večina ljudi uživa preveč mesa in sladkarjev, zato tega odmerka ni tako lahko doseči. Današnja prehrana je pripravljena iz predelanih in prečiščenih sestavin, zato vsebuje veliko manj vlaknin kot jih je potrebnih za zdravo življenje. Če želimo povečati vnos vlaknin v telo, je to potrebno storiti postopoma, in sicer za največ 5 g v 14 dneh. Sadje, zelenjava, žita ter stročnice vsebujejo po sestavi različne zvrsti prehranskih vlaknin, zato je koristno njihovo kombinirano uživanje (Benček, 2004).

Vlaknine pomagajo tudi pri hujšanju. Povečajo prostornino zaužite hrane in s tem raztegujejo želodčne in črevesne stene, preprečujejo pa tudi prezgodnje praznjenje želodca. Na tak način se pojavi občutek trajne sitosti. S tem pridobijo prebavní organi več časa za predelavo in vsrkavanje živil. Tako prispevajo vlaknine k zmanjševanju stresa v prebavi.

Vlaknine pomagajo zniževati holesterol, zmanjšajo tveganje za srčni napad, znižujejo krvni pritisk, uravnavajo krvni sladkor in pospešujejo rast prijazne črevesne flore. Pospešujejo tudi pravilno praznjenje črevesja in pomagajo črevo ohraniti čisto. Vsi ti

pozitivni učinki vlaknin so povezani med seboj in navadno je en posledica drugega (Požar, 2003).

2.4 PROTEINI

Prehranske beljakovine oskrbujejo organizem z aminokislinsimi in drugimi dušikovimi spojinami, ki so potrebne za izgradnjo telesu lastnih beljakovin in drugih metabolično akivnih substanc (Kopple, 1981). So sestavine vsake žive celice, sestavnii deli hormonov, encimov in življenjskih sokov. Z njimi zagotavljamo 10-15 % dnevnih potreb po energiji. Sestavlajo več kot 50 % suhe mase celic. To so različno velike molekule, nekatere so celo tako velike, da jih vidimo z elektronskim mikroskopom. Glede na obliko ločimo globularne (kroglaste) in fibrilarne proteine (nitaste). Osnovni sestavnii deli proteinov so aminokisline. Aminokisline so organske kisline z dvema značilnima skupinama, karboksilno (-COOH) in amino (-NH₂) skupino. Aminokisline se med sabo vežejo s peptidno vezjo, pri vezavi se odcepi voda in tvorijo peptide (Požar, 2003). Človek potrebuje dvajset aminokislin, devet aminokislin je esencialnih in sicer: histidin, izolevin, levcin, lizin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan in valin (Kopple, 1981).

Biološko vrednost beljakovin določamo z vsebnostjo esencialnih aminokislin. Biološko polnovredne beljakovine vsebujejo več esencialnih aminokislin. Več esencialnih aminokislin je v živilih živalskega izvora (mleko in mlečni izdelki, meso in mesni izdelki, jajca). Živila rastlinskega izvora tudi vsebujejo esencialne aminokisline, vendar ne vseh. Biološka vrednost živila, ki vsebuje beljakovine, je izražena z odstotki, ki nam povedo, koliko človeških beljakovin nastane iz beljakovin v živilih. Iz 100 g jajčnih beljakovin nastane 94 g človeških beljakovin, iz 100 g pšeničnih beljakovin pa nastane 35 g človeških beljakovin. Aminokisline delujejo v telesu tudi kot pufer – vzdržujejo pH (koncentracijo vodikovih ionov) v raztopinah (Požar, 2003).

Proteine delimo glede na stransko verigo (-R):

1. nepolarne stranske verige:
 - alifatska skupina (Ala, Val, Leu, Ile)
 - iminska skupina (Pro)
 - tio skupina (Met)
 - aromatska skupina (Phe, Trp)
2. polarne:
 - brez naboja – skupina ne disociira (Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln)
 - pozitivni nabolj - bazične (Lys, Arg, His)
 - negativni nabolj - kisle (Asp, Glu)
 - Phe, Trp, Tyr - z aromatskim obročem (Nelson in Cox, 2005).

Preglednica 5: Strukturne formule AK (Aminokisline) (Aminokisline, 2004)

Alanin – Ala	Arginin – Arg
Asparagin – Asn	Asparaginska kislina – Asp
Cistein – Cys	Glutamin – Gln
Glutaminska kislina – Glu	Glicin - Gly
Histidin – His	Izolevcin- Ile
Levcin – Leu	Lizin – Lys

Fenilalanin - Phe	Prolin – Pro
Serin – Ser	Treonin – Thr
Triptofan - Trp	Tirozin – Tyr
Valin – Val	Metionin – Met

2.4.1 Vloga proteinov v živih organizmih

Proteini so polimerne molekule, ki jih je moč z encimi, s kislino ali z bazo razbiti na manjše peptide oziroma na osnovne gradnike-aminokisline. V našem telesu poteka proces hidrolize zaužitih proteinov v želodcu ter v tankem črevesu (Cigič, 2001).

Po vlogi delimo proteine na: encime, transportne, rezervne, kontraktilne, strukturne, obrambne in regulacijski proteine (Lehninger in sod., 1993).

Encimi: So najbolj raznoliki in najvišje specializirani proteini s katalitično aktivnostjo. Vse kemijske reakcije organskih biomolekul v celici katalizirajo encimi. Odkritih je na tisoče različnih encimov, ki katalizirajo različne kemijske reakcije.

Transportni proteini: So proteini, ki pomagajo pri prenosu različnih snovi, kot so kisik, lipidi, aminokisline, glukoza in druge.

Živilo in rezervna snov: Rastline vsebujejo v semenih proteine, ki so potrebni za rast kaleče rastline. Ovalbumin v jajcu in kazeini iz mleka so pomembni prehranski proteini.

Kontraktilni proteini: Aktin in miozin v mišicah povzročajo koordinirano gibanje mišic. Aktin je zelo pomemben tudi v citoskeletu, ki ga imajo vse celice. Mitotelke in bički imajo tubulin, ki omogoča gibanje.

Strukturni proteini: Primeri: kolagen (fibrilaren), elastin v koži, vezivnem tkivu, keratin v nohtih, laseh, oklepih. Proteini se nahajajo v hrustancih in omogočajo trdnost.

Obrambni proteini: Sodelujejo v zaščiti organizma pred vdorom tujkov ali pred poškodbami. Zelo pomembna so protitelesa - nastanejo pod vplivom tujka (antigena) in imajo dve specifični mestni vezave, kamor se veže tujek. Tako lahko tvori verižne precipitate. Tujki so virusi, bakterije, ipd. (Lehninger in sod., 1993).

Regulacijski proteini: Pomagajo regulirati celično ali fiziološko aktivnost. Regulacijski encimi za regulacijo celičnega metabolizma; hormoni pa za koordinacijo med celicami. (Lehninger in sod., 1993).

Peptidi, ki preprečujejo strjevanje krvi: Določen fragment κ-kazeina je strukturno in funkcionalno zelo podoben fibrinogenu, proteinu, ki je vključen v proces strjevanja krvi. Ugotovili so, da posamezni peptidi iz κ-kazeina upočasnijo proces strjevanja krvi (Jolles in sod., 1986).

Bioaktivni peptidi s sposobnostjo vezave različnih mineralov: Aminokislina serin, ki je vključena v peptidno verigo, je lahko v določenih primerih fosforilirana (fosfat se zaestri z -OH skupino serina). Tako imenovane fosfopeptide, ki nastanejo z razgradnjo kazeina, so izolirali že v začetku petdesetih let prejšnjega stoletja in kmalu ugotovili, da fosfopeptidi izboljšajo resorpcijo Ca^{2+} in tako zmanjšajo možnost rahitisa pri majhnih otrocih (Mellander, 1950).

2.5 VITAMINI

Vitamini so esencialne snovi, potrebne pri presnovi ogljikovih hidratov, maščob in beljakovin. Da zadostimo dnevni potrebi po vitaminih, moramo zaužiti minimalno 400 g svežega sadja in zelenjave. V vodi topni vitamini so B in C, v maščobi topni pa A, D, E in K vitamini.

Vitamini v organizmu opravljajo različne, vendar pomembne naloge. Ščitijo organizem in so kot koencimi del biokatalizatorjev (snovi, ki pospešujejo potek biokemijskih reakcij v živih organizmih-encimi). Zaradi nepravilnega uživanja vitaminov lahko pride do hipovitaminoze, avitaminoze ter hipervitaminoze. Hipovitaminoza se pojavi, če uživamo premalo določenega vitamina, ali če imamo povečane potrebe po vitaminih (med boleznijsko in v nosečnosti). Avitaminoza se pojavi, če ne uživamo vitaminov. Hipervitaminoza pa se pojavi pri preveliki količini nekaterih vitaminov (pri vitaminih A in D) (Požar, 2003).

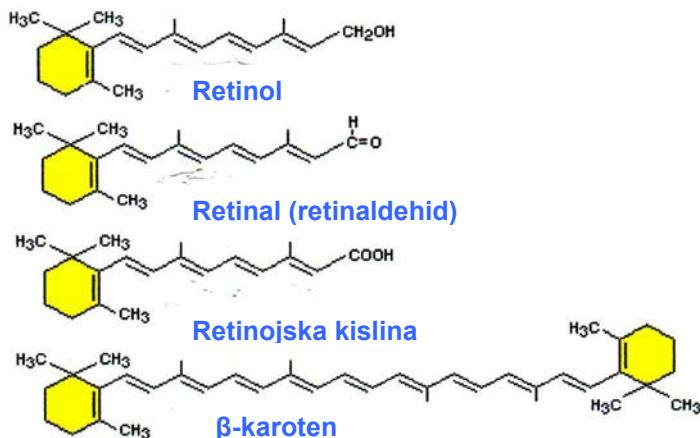
Preglednica 6: Nekatera splošna dejstva o posameznih vitaminih (Kač, 2001)

vitamin	pomen	viri
β-karoten (provitamin A)	provitamin A, antioksidant, v imunskemu sistemu (od vit. A odvisna tkiva)	Krinsky in Deneke, 1982 Bendich, 1991
biotin	v encimskih sistemih osnovne presnove (od biotina odvisni encimi (karboksilaze) imajo ključne funkcije v glukoneogenezi, pri razgradnji štirih esencialnih AK (metionina, izolevcina, treonina, valina) in pri biosintezi MK).	Vitamins, 1997 Referenčne vrednosti za vnos hrani, 2004
folna kislina	koencim osnovne presnove	Vitamins, 1997
niacin	koencima NAD^+ in NADP^+ , v presnovi lipidov	Altschul s sod., 1955 Vitamins, 1997
pantotenska kislina	del koencima A	Vitamins, 1997
A	za normalno rast, vid in razvoj	Vitamins, 1997
B ₁ (tiamin)	koencim (tiaminopirofosfat) osnovne presnove	Vitamins, 1997
B ₁₂ (kobalamin)	v sintezi mnogih proteinov	Vitamins, 1997
B ₂ (riboflavin)	v dihalni verigi (prenos elektronov)	Vitamins, 1997
B ₆ (piridoksin)	koencim osnovne presnove, presnova steroidov	Vitamins, 1997 Compton in Cidkowski, 1986
C	v osnovni presnovi, imunskemu sistemu, antioksidant	Vitamins, 1997 Bendich, 1991
D	absorpcija kalcija, razvoj kosti, rast, v imunskemu sistemu	Vitamins, 1997 Norman s sod., 1991
E	antioksidant (prevencija)	Vitamins, 1997
K	pri strjevanju krvi, presnova kalcija	Vitamins, 1997

Omenili bi predvsem vitamin A in vitamin E, ker smo v diplomski raziskavi plodov navadnega koprivovca ugotovili, da plodovi navadnega koprivovca vsebujejo izjemno veliko količino tokoferolov in β-karotena, ki je prekurzor vitamina A.

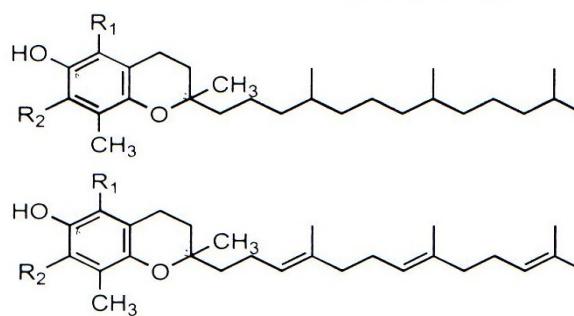
Vitamin A je potreben za rast, imunski sistem in razvoj celic in tkiv najrazličnejših vst. V obliku svojega aktivnega metabolita retinojske kisline regulira rast in izgradnjo kože in sluzni ter s tem tudi njihovo delovanje. Poleg tega je aldehid vitamina, retinal, pomemben za vid. Alkohol vitamina A, retinol, ki predstavlja strogo homeostatistično urejeno transportno obliko v krvi, je verjetno udeležen pri spermatogenezi (testisovi kanalčki) (Biesatski, 1997). Vitamin A naj bi ščitil pred nastankom raka. Njegovo pomanjkanje v prehrani se odraža z izgubo teže in upočasnitvijo rasti pri mladih ljudeh in živalih, očesnih boleznih in nočno slepoto. Poveča se splošna izpostavljenost infekcijam. Vitamina A ne najdemo v rastlinah, vendar je strukturno povezan s karotenom, ki se pretvori v vitamin A v jetrih. Dobri viri A vitamina so mlečni izdelki, margarina, sladek krompir, korenje, rdeča

paprika, čili, leča, solata, brokoli, paradižnik, basilika, koriander, marelice, melone, papaje, guave, peteršilj... (Vitamin A, 2000).



Slika 3: strukturna formula vitaminina A (retinola), retinala in retinojske kisline, katerim je prekurzor β -karoten (Vitamin A, 2006)

Vitamin E – Pod izrazom vitamina E je zbrana skupina kemijskih spojin, ki imajo vse v molekuli sistem obroča (kromanski obroč) z eno prosto ozioma eno zaestreno -OH-skupino ter eno nasičeno ali nenasičeno izoprenoidno stransko verigo (16 C-tomov). Po številu in porazdelitvi metilnih (-CH₃) skupin na kromatskem obroču razlikujemo med α -, β -, γ -, in δ -tokoferoli. Tokoferole, ki nastopajo v naravi sintetizirajo samo rastline. Tokoferoli delujejo kot sistem zaščite pred kopičenjem reaktivnih kisikovih spojin (radikal, prosti radikal) in tako predvsem preprečujejo peroksidacijo večkratno neničenih MK v membranskih lipidih. Zavirajo nastajanje oksidiranega LDL v plazmi, ki je pomemben faktor tveganja aterioskleroze. V tej funkciji ga podpirajo neencimski (npr. vitamin C, β -karoten) in encimski sistemi (npr. glutationperoksidaze, ki vsebujejo selen). Vitamin E vpliva na sintezo eikozanoidov in na imunski sistem, na razmerje holesterola in fosfolipidov v membranah ter ima pomembno vlogo pri celičnem dihanju (Elmadfa, 2004).



Slika 4: Strukturna formula vitamina E (tokoferola) (Elmadfa, 2004)

V naravi najdemo štiri vrste tokoferolov:

- α -tokoferol, $C_{29}H_{50}O_2$ je 5,7,8-trimetiltokol ($R_1=CH_3$, $R_2=CH_3$) – največja aktivnost vitamina E
- β -tokoferol $C_{28}H_{48}O_2$ je 5,8-dimetiltokol ($R_1=CH_3$, $R_2=H$)
- γ -tokoferol $C_{28}H_{48}O_2$ je 7,8-dimetiltokol ($R_1=H$, $R_2=CH_3$)
- δ -tokoferol $C_{27}H_{46}O_2$ je 8-metiltokol ($R_1=H$, $R_2=H$)

Glavni viri vitamina E so rastlinska olja, oreščki, jajčni rumenjak, margarina, parmezan, soja, zrnje koruze, pšenice, riž, avokado, olive, korenje, oves, rdeča paprika, pastinak, paradižnik, vodna kreša... (Vitamin E, 2000).

2.6 PIGMENTI

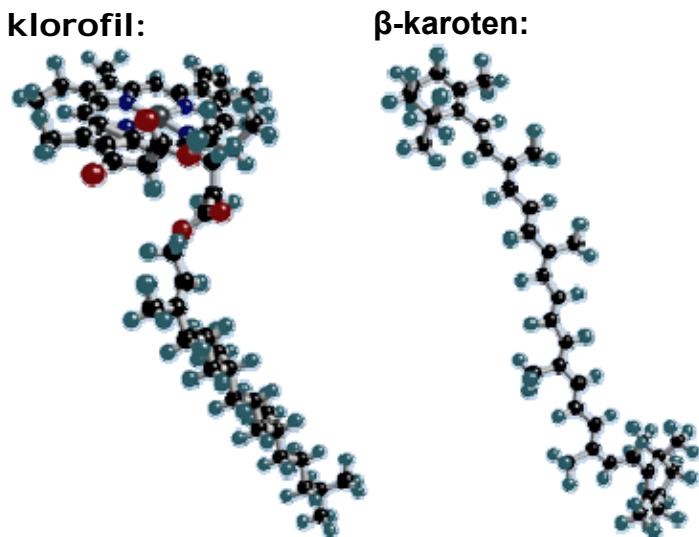
Nastajanje barvil v plodovih je genetsko določeno, zunanji dejavniki pa določajo le do katere mere se bodo barvila razvila. Barva plodov se z zrelostjo spreminja in se uporablja kot parameter za določanje stopnje zrelosti sadja (Kays, 1991). V nadeljevanju bomo omenili le pigmente, katere smo v naši raziskavi zasledili v plodovih navadnega koprivovca.

2.6.1 Lutein

Lutein je karotenoid s kemijsko formulo $C_{40}H_{56}(OH)_2$, ki se nahaja v sadju in zelenjavi. Poleg tega je zelo močan antioksidant. Največja koncentracija luteina v človeškem telesu je v očesni mrežnici. Molekula luteina je zgrajena tako, da so atomi ogljika povezani med seboj v sistemu konjugiranih dvojnih vezi. Lutein najdemo v jajčnem beljaku, daje pa rumeno barvo listom in pelodu. Lutein deluje kot filter sončne svetlobe, ki absorbira nevarne UV žarke. Študije so pokazale, da bi morali zaužiti 5 obrokov špinače, če bi žeeli zaužiti 6 mg luteina. Veliko konzumiranje luteina zmanjšuje tveganje obolenja starostne slepote za 57 % v primerjavi s tistimi osebami, ki ne zaužijejo dovolj zelenjave, ki vsebuje lutein (Kulier, 2006).

2.6.2 Klorofil in β -karoten

Vir zelene barve je v rastlinah klorofil, jesenskih barv pa karoten (slika 5). V zelenih rastlinah se s pomočjo klorofila ogljikov dioksid pretvarja v organske snovi (preko vmesnih stopenj v glukozo); sprošča se kisik. Rastline fotokemično vežejo 0,12 % sončne energije, ki pride na zemljo. Na vsakem m^2 zelene listnate površine nastane na soncu iz CO_2 1g sladkorja (Klorofil in betakaroten, 2001).



Slika 5: Strukturne formule klorofila in β -karotena (Klorofil in betakaroten, 2001)

Klorofili iz spektra bele svetlobe absorbirajo rdeče, modre in vijolične komponente. Del spektra, ki pa se odbije, naše oko zaznava kot zeleno obarvanje. Klorofili so tetrapirolova barvila, ki imajo v molekulih 4 enote pirola, sklenjene v porfinski obroč. V notranjosti je s koordinacijsko vezjo pripet ion magnezija. Najpomembnejša med klorofili sta **klorofil a** in **klorofil b**. Molekuli teh klorofilov se med seboj razlikujeta po skupinah na pirolovem obroču. Molekula klorofila a ima pripeto metilno (-CH₃) skupino, molekula klorofila b pa aldehidno (-CHO) skupino. Ker je metilna skupina manj polarna kot aldehidna, je klorofil a bolje topen v nepolarnih topilih kot klorofil b. Na osnovi različne polarnosti lahko ti dve barvili ločimo z metodo kromatografije. V molekulah klorofila deluje tetrapirolni obroč z Mg²⁺ ionom kot polarna glava. Molekule naravnih klorofilov imajo na D-obroču porfirina estrsko vezano dolgo verigo alkohola fitola, ki deluje kot nepolarni rep in omogoča topnost v maščobah. Zaradi preprostega gibanja elektronov jih lahko porfirinski obroč sprejema ali oddaja. Tako lahko elektroni prehajajo na druge molekule in jih s tem reducirajo (Klorofili, 2006).

Nekaj tednov pred obiranjem sadja se začne klorofil razgrajevati. Pot razgrajevanja ni še točno znana. Izgubo povezujejo z aktivnostjo encima klorofilaze (le-ta razgradi klorofil do brezbarvnega fitola), encimsko oksidacijo ter fotodegradacijo, do katere pride pod vplivom svetlobe in kisika. Na degradacijo pa vpliva tudi sprememba pH (Kays, 1991).

β -karoten: β -karoten spada v skupino karotenoidov in ima dve bistveni funkciji:

- iz β -karotena (provitamin A) lahko nastane preformiran vitamin A
- kot antioksidativna snov lahko kot skoraj vsi drugi karotenoidi ščiti pred oksidativnimi okvarami.

β -karoten je mogoče v nespremenjeni obliki zaužiti s hrano ter se v različnih tkivih (tanko črevo, jetra, pljuča) pretvoriti v vitamin A. β -karoten se poleg drugih rastlinskih barvil pojavlja v skoraj vseh rastlinskih živilih. Zato je težko razmejiti delež β -karotena, ki se ne aktivira kot provitamin A, v njegovem biološkem učinku in s tem esencialnosti za človeka. Zaradi rezultatov različnih epidemiloških študij postaja vse bolj verjetno, da karotenoidi,

neodvisno od svojih značilnosti kot A provitamini, zmanjšujejo tveganje obolenja za rakom na pljučih, požiralniku in želodcu (Flagg in sod., 1995).

2.7 MINERALI

Mineralne snovi so anorganske spojine, ki gradijo kostno tkivo in zobe. Uravnavajo osmotski tlak v organizmu. Tudi mineralne snovi so esencialne in zaščitne snovi. Makroelementi so: H, C, O, N, P, K, Na, Mg, Ca, S in Cl (Požar, 2003). Makroelementov človek potrebuje več kot 50 mg/dan. Poleg makroelementov so pomembni tudi mikroelementi (Fe, J, F, Zn, Se, Cu, Mn, Cr, Mo, Co, Ni), katerih vsebnost v tkivu znaša manj kot 50 ppm in katerih esencialnost je pri človeku eksperimentalno dokazana v količini manj kot 50 mg/dan) in elementi v sledovih (Al, Sb, As, Ba, Bi, Pb, B, Br, Cd, Cs, Ge, Li, Hg, Rb, Sm, Si, Sr, Tl, Ti, W), katerih zauživanje s hrano po sedanjem stanju spoznanj očitno pokriva potrebe živali in ljudi, kajti do očitnih pojavov pomankanja še ni prišlo) (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004). Pregled najpomembnejših elementov mineralov prikazuje preglednica 7.

Minerali so nujno potrebni za vzdrževanje ravnotežja celičnih tekočin, nastanek krvnih in kostnih celic, pravilno delovanje živčevja, reguliranje mišičnega tonusa in aktivnosti mišic, med drugimi tudi srčne mišice. Pomankanje nekaterih mineralov lahko povzroči resne motnje v metabolizmu. Zelo znan in lahko opazen primer je pojav golšavosti, ki nastane zaradi pomankanja joda (Paš, 2001).

Posebej bi omenila kalij, ker so raziskave diplomskega dela pokazale, da je v mezokarpu navadnega koprivovca največ kalija. Pri odraslih znaša dnevni vnos kalija s srednjeevropsko prehrano 50-720 mmol, kar vstreza 2-3 g kalija na dan oz. 2-3 mmol/100 kcal. Ta količina v običajnih življenskih pogojih zadošča. Obilen vnos kalija znižuje krvni pritisk. Pomankanje kalija pa povzroča nevromuskularne simptome, kot so oslablost skeletne muskulature, popustitev tonusa gladkega mišičja vse do ohromitve črevesa in motenj delovanja srca (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Preglednica 7: Pregled najpomembnejših elementov mineralov – priporočljive dnevne količine (RDA), povprečen dnevni vnos in naravni viri (Paš, 2001)

elementi mineralov	RDA	povprečni dnevni vnos	naravni viri
B	*	0,35-0,42 mg	sir, ribe, temna listnata zelenjava, sezamovo seme
Ca	1200 mg	743 mg	sir, ribe, temna listnata zelenjava, sezamovo seme
Cr	50-200 µg	25 µg	kvas, cela semena, nerafinirani trsni sladkor, piščanče meso, školjke, polži, koruzno olje
Co	3-4 µg	**	vsa temna listnata zelenjava, školjke, jetra, mleko, rdeče meso
Cu	1,5-3,0 mg	1,2 mg	goveja jetra, drobovina, školjke, suhe slive, mandlji, stročnice, temna listnata zelenjava
F	*	**	mleko, korenje, česen, morski sadeži, fluorirana pitna voda
Fe	15 mg	10 mg	banane, suhe slive, rozine, cela ržena zrna, orehi, alge, leča, drobovina, rdeče meso, ostrige, surove školjke
Ge	*	**	česen, aloa, gabez, alge, ginseng, vodna kreša
I	150 µg	250 µg	morski sadeži, morske alge, olje iz ribjih jeter, jajčni rumenjak, meso citrusov, česen
K	3500mg	2500mg	zelena listnata zelenjava, banane, paradižnik, vodna kreša, cela zrna
Li	*	**	morski sadeži, morske alge
Mg	350 mg	329 mg	mineralna voda, listnata zelenjava
Mn	2,0-5,0 mg	2,7 mg	žitna zrna, oreščki, špinača, pesa, brstični ohrov, alge
Mo	50-250 µg	109 µg	rjavi riž, proso, ajda, stročnice, listnata zelenjava, žitarice
Na	0,5 g	5,0 g	morska sol, alge, školjke, korenje, ledvice
P	*	1500 mg	mlečni izdelki, žitarice, semena in oreščki, jajca, ribe, perutnina
Se	70 µg	108 µg	pšenični kalčki, otrobi, alge, česen, morski sadeži
Si	*	329 mg	lanena semena, oves, oreščki, semena, jabolka
V	10-60 µg	**	ribe
Zn	15-19 mg	8,6 mg	kvasna biomasa

Legenda: *vrednost ni določena, **ni podatka

2.8 FENOLNE SPOJINE

Fenolne spojine so najbolj razširjeni antioksidanti v naši prehrani in so razdeljene na več načinov. Eden najbolj enostavnih je razdelitev na dve veliki skupini: flavonoide in neflavonoide. Flavonoidi prispevajo 2/3 in neflavonoidi (predvsem fenolne kisline) 1/3 dnevnega vnosa polifenolov. Številne epidemiološke študije kažejo povezavo med uživanjem hrane in pijač, ki vsebujejo veliko flavonoidov in zmanjšanjem nastanka mnogih bolezni modernega življenja, ki jih povzroča oksidativni stres (Vrhovšek, 2001).

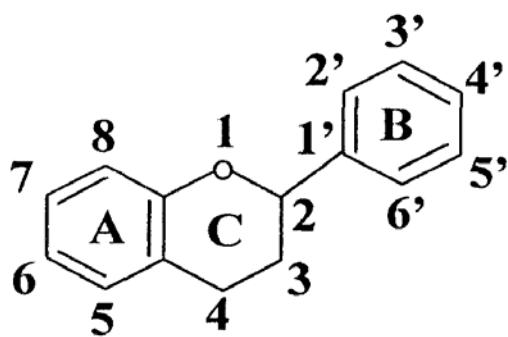
Fenolne spojine imenujemo vse tiste spojine, ki imajo najmanj en aromatski obroč in najmanj eno ali več –OH skupin direktno vezanih na aromatski obroč (slika 6). V naravi so običajne spojine z več –OH skupinami in zato se je zanje uveljavilo tudi drugo ime – fenolne spojine ali polifenoli, če ima spojina več fenolnih obročev (Abram in Simčič, 1997), (Strack, 1997).



Slika 6: Strukturna formula fenola (Klofutar in sod., 1998)

2.7.1 Flavonoidi

Flavonoidi so fenolne spojine zgrajene iz 15 C-atomov, osnovno spojino flavon sestavlja struktura, ki jih označujemo s C₆C₃C₆ (slika 7). Med flavonoide spadajo spojine, ki se razlikujejo po oksidacijski stopnji heterocikličnega C₃ obroča, kot tudi po različnih substituentih na obročih A, B ali C.



Slika 7: Osnovna strukturna formula flavonoidov (2-fenil-benzopiran oz. 2-fenilkroman) (Abram, 2000)

Do sedaj je poznanih več kot 5000 različnih flavonoidov. V naravi so flavonoidi običajno glikozilirani, kar pomeni, da imajo vezane različne monosaharide (glukoza, galaktoza, arabinoza, ramnoza), ali pa tudi daljše verige na obroč (Abram in Simčič, 1997).

Nesladkorni del molekule imenujemo aglikon. Aglikoni imajo 2-fenil-benzopiranski (2-fenilkromanski) skelet, razlikujejo pa se v oksidacijski stopnji piranovega obroča. Delimo jih na flavone, flavonole, flavonone, dihidroflavonole, flavan-3,4-diole, antocianidine, izoflavone, neoflavone, kalkone, dihidrokalkone in avrone. Flavonoidi so zelo razširjeni rastlinski pigmenti. Dajejo barvo cvetovom, plodovom in redkeje listom. Rumeni flavonoidi so kalkoni, auroni in nekateri flavonoli, rdeči, vijolični ali modri so antocianini. Nekateri absorbirajo bližnjo UV svetlobo: to "barvo" vidijo le žuželke, ki oprasujejo cvetove. Flavonoidi tudi ščitijo rastline pred poškodbami celic in tkiv z UV – žarki (Jovanovic in sod., 1997).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 PLAN DELA

Načrtovali smo prehransko in fizikalno-kemijsko sestavo v plodovih navadnega koprivovca, ki so bili obrani v Istri.

Opravili smo naslednje fizikalno-kemijske analize: določanje vsebnosti vode, suhe snovi, mineralov, vitaminov, maščob, posameznih maščobnih kislin, skupnih fenolov, vlaknin, proteinov, antioksidativne aktivnosti in sladkorjev. Vsako analizo smo izvedli v treh ponovitvah.

3.2 MATERIAL

V diplomsko raziskavo smo vključili plodove navadnega koprivovca (*Celtis australis*), ki so bila nabранa v Istri (Marasi) oktobra 2004. Raziskave na plodovih navadnega koprivovca smo delali od oktobra 2004 do marca 2005. Del plodov navadnega koprivovca smo v času raziskovalnega dela shranjevali v hladilniku, drugi del pa v zamrzovalniku. Vse analize so bile opravljene na plodovih, ki so bili shranjeni v hladilniku, razen pri analizi za določanja skupnih fenolov, smo uporabili tudi plodove iz zamrzovalnika.

3.3 METODE DELA

3.3.1 Določanje vsebnosti vode

3.3.1.1 S sušenjem

Vodo smo določili s sušenjem v sušilniku pri 50-60 °C približno 16 ur. Vmes smo večkrat premešali in na koncu pustili vzorec še 2 uri na sobni temperaturi ter stehtali. Tako smo dobili zračno suh vzorec, ki smo ga zdrobili s tekočim dušikom, (mezokarp plodov navadnega koprivovca) oz. z mlinčkom Iskra, Braun (jedrca navadnega koprivovca) ter zopet sušili v sušilniku pri temperaturi 105 °C do konstantne mase.

Tehtice smo predhodno sušili in jih nato ohladili v eksikatorju ter natančno stehtali (a). Vanje smo zatehtali okoli 5 g našega vzorca ter mase (b) zabeležili na 4 decimalke natančno. Tehtice z vzorci smo postavili v sušilnik, ki je bil ogret na 105 °C ter vzorce sušili do konstantne mase. Po končanem sušenju smo tehtice skupaj z vzorci ponovno ohladili v eksikatorju in jih stehtali (c). Vsebnost vode smo izračunali po formuli 1 (Plestenjak in Golob, 2000).

...(1)

$$\% \text{ vode v zračno suhem vzorcu} = 100 - ((c-a) * 100 / b)$$

a = masa tehtiča (g)

b = masa vzorca pred sušenjem (g)

c = masa tehtiča in vzorca po sušenju (g)

$$\% \text{ vode v svežem vzorcu} = A + B - A*B/100$$

A = delež izgubljene vode med zračnim sušenjem (%)

B = vsebnost vode v zračno suhem vzorcu (%)

3.3.2 Določanje vsebnosti suhe snovi

3.3.2.1 Z refraktometrom

Vsebnost suhe snovi smo določali v mezokarpu navadnega koprivovca z digitalnim refraktometrom proizvajalca ATAGO PR-1. Refraktometer smo umerili z destilirano vodo na 0,00 % suhe snovi. Nato smo senzor osušili in nanj kapnili vzorec mezokarpa navadnega koprivovca, ki smo ga predhodno pripravili tako, da smo plodove olupili in dodali vodo v razmerju 1:1, ker vzorec vsebuje veliko suhe snovi. Vzorec mezokarpa smo zmleli in homogenizirali s homogenizatorjem ultra-turraxom pri $20\ 000\ \text{min}^{-1}$ 3 minute. Na refraktometru smo odčitali vsebnost suhe snovi v %.

3.3.3 Razklop pepela za določanje mineralov

Vzorec, ki smo ga pripravili za določanje vode, smo naprej uporabili za razklop pepela za določanje mineralov. V stehtan žarilni lonček smo dodali cca 5 g homogenizirano zdrobljenega vzorca mezokarpa navadnega koprivovca (naredili smo tri ponovitve) in v drugi zatehtan žarilni lonček cca 5 g homogeno zdrobljenega vzorca jedrc navadnega koprivovca (naredili smo dve ponovitvi) ter jih na plamenu nad gorilnikom previdno poogleneli. Pooglenel ostanek smo žarili v peči pri temperaturi $550 - 600\ ^\circ\text{C}$, dokler nismo dobili pepela. Po žarjenju smo lončke ohladili v eksikatorju in jih ponovno stehtali. Vsebnost pepela v zračno suhem vzorcu smo izračunali po formuli 2 (Plestensjak in Golob, 2000).

...(2)

$$\% \text{ pepela v zračnosuhem vzorcu} = a / b * 100$$

a = masa pepela (g)

b = natehta vzorca (g)

Vsebnost pepela v svežem obroku smo izračunali po formuli 3 (Plestenjak in Golob, 2000).

...(3)

$$\% \text{ pepela v zračnosuhem vzorcu} = (\% \text{ pepela v zračni sušini} * \text{delež suhe snovi}) / (100 - B)$$
$$B = \text{vsebnost vode v zračno suhem vzorcu (\%)}$$

Ko smo stehtali količino pepela (cca 0,2 g), smo ga kvantitativno prenesli v 50 mL čašo, dodali 3 mL HCl kislino 1:1, 2 mL vode in izparevali do suhega na vodni kopeli. Nato smo dolili 5 mL HNO₃ 1:1 in segrevali 15 minut. Po tem času smo vso vsebino kvantitativno z destilirano vodo prenesli v 100 mL merilno bučko in dopolnili do oznake. Vzorce za določanje pepela v jedrcih smo še prefiltirali in filtrat uporabili za določanje vsebnosti mineralov.

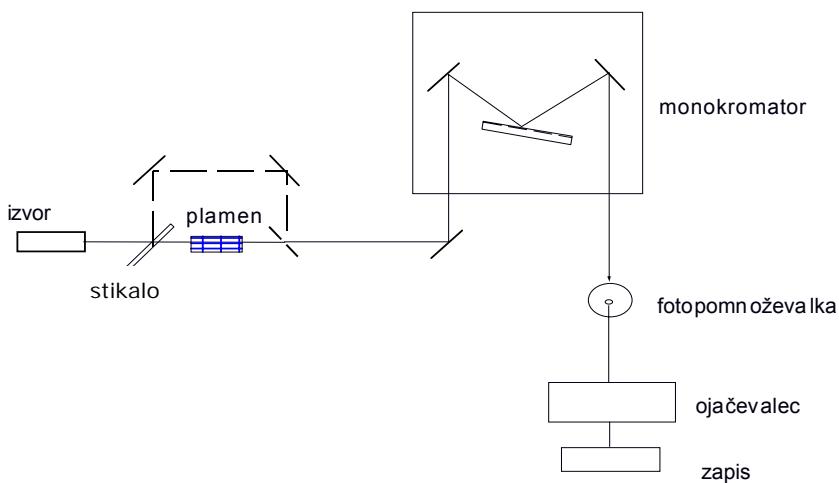
3.3.4 Določanje vsebnosti mineralov

V vzorcih smo določali naslednje minerale: Mg, Ca, Pb, Cu, Cd, Ni, Mn, Zn, Fe, Cr, Na, K in P.

Vsi minerali so bili določeni z atomsko absorpcijsko spektroskopijo razen K in Na, ki pa sta bila določena s plamensko fotometrijo. Analize so bile opravljene v Centru za pedologijo in varstvo okolja na Oddelku za agronomijo, Biotehniške fakultete.

3.3.4.1 Določanje Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb in drugih mikroelementov

Makro- in mikroelemente v rastlinskem materialu smo določali v raztopini po kislinskem razklopu pepela z atomsko absorpcijsko spektrometrijo (AAS) na aparatu Perkin – Elmer 1100B (slika 9). Elemente smo določali s plamensko AAS, če pa so bile koncentracije merjenih elementov pod mejo detekcije plamenske AAS, smo jih pred merjenjem koncentrirali z ustreznim ekstrakcijskim postopkom ali merili absorpcijo posameznih elementov z elektrotermično atomsko absorpcijsko spektrometrijo. Meje detekcije so bile podane orientacijsko in veljajo za opisani postopek.



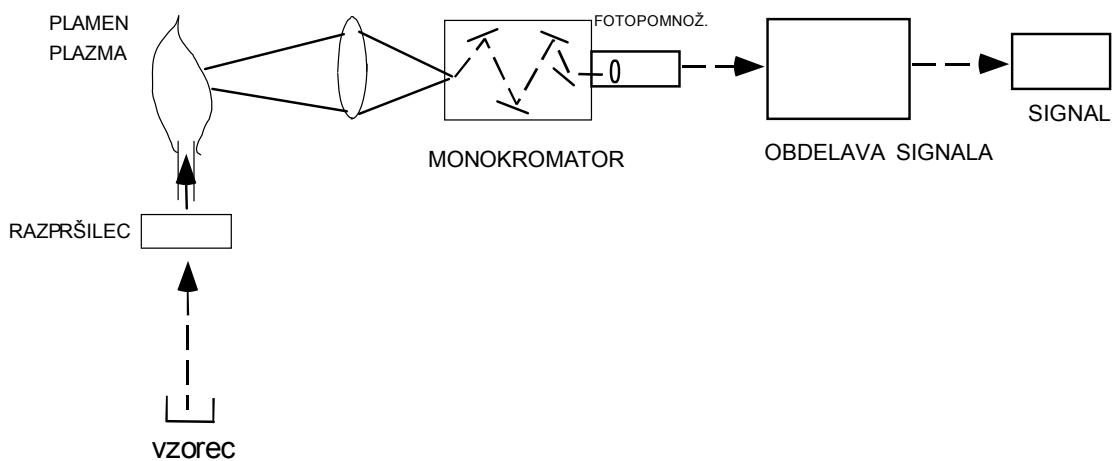
Slika 8: Slika dvožarkovne aparature za AAS (Veber, 2005)

Pri merjenju z AAS se lahko srečamo s pojavom interference, ki je lahko spektralna, fizikalna ali kemijska. Spektralna interference je prekrivanje absorpcijskih in emisijskih črt oziroma trakov in je manj pogosta. Fizikalna in kemijska interference sta bolj pogosti, vendar smo se njunemu vplivu izognili s pravilno izdelanimi umeritvenimi krivuljami. Te smo pripravili tako, da je bila sestava raztopin vzorcev in standardnih raztopin za umeritvene krivulje čim bolj podobna. Kemijskim interferencam smo se izognili tudi s separacijo elementa, ki smo ga določali od osnove ali z dodatkom sredstva za kompleksiranje. Prisotnost velike koncentracije soli bi lahko povzročila nespecifično absorpcijo zaradi sisanja svetlobe. V takem primeru bi uporabili korekcijo ozadja ali izbrali drugo valovno dolžino, kjer nespecifična absorpcija ne bi bila kritična. Pri visokih temperaturah predvsem v plamenu N₂O / acetilen lahko nastane ionizacijska interference. Tej se izognemo tako, da raztopinam vzorcev in standardov dodamo v prebitku element, ki lahko ionizira.

Kemijska interference je kritična tudi pri elektrotermični atomski absorpcijski spektrometriji. Sestava vzorca lahko bistveno vpliva na absorpcijski signal. Zato je nujno kontrolirati vpliv osnove za vsak tip vzorcev. Zelo kritična je tudi nespecifična absorpcija, to interference kompenziramo s korekcijo ozadja (Hodnik, 1988).

3.3.4.2 Določanje kalija in natrija

Kalij in natrij smo določali iz osnovnega filtrata s pomočjo plamenske emisijske spektroskopije, to je plamenske fotometrije na plamenskem fotometru, Iskra, FLAPHO 40. Za merjenje vsebnosti kalija smo osnovni filtrat 10-krat razredčili, vsebnost natrija, smo merili v nerazredčenem vzorcu, vsebnost fosforja smo določali spektrofotometrično.



Slika 9: Shema plamenskega emisijskega spektrometra (Veber, 2005)

Pribor in reagenti:

- plamenski fotometer, Iskra, FLAPHO 40
- merilne bučke
- pipete
- matična standardna raztopina za natrij
- matična standardna raztopina za kalij
- serija standardov: z ustreznim razredčenjem matične standardne raztopine smo si pripravili standardne raztopine za umeritveno krivuljo v koncentracijskem območju:
 - za natrij od $2 \mu\text{g} / \text{mL}$ ($0,2 \text{ mL}$ razredčili na 100 mL)
 - do $50 \mu\text{g} / \text{mL}$ (5 mL razredčili na 100 mL)
 - za kalij od $5 \mu\text{g} / \text{mL}$ ($0,5 \text{ mL}$ razredčili na 100 mL)
 - do $100 \mu\text{g} / \text{mL}$ (10 mL razredčili na 100 mL)

Plamen: butan-propan

Zrak: 1,5 atm.

Postopek:

Za umerjanje aparata smo uporabili nakisano deionizirano vodo (uporabili smo kislino v enakem razmerju, kot smo ga uporabili za pripravo raztopine za razklop), s katero smo uravnali galvanometer v ničelni položaj in najvišji standard, s katerim smo uravnali iglo na 100. To smo ponovili 2-3 krat. Nato smo odčitavali emisijske vrednosti serije vseh standardov in nato še preiskovanih filtratov. Iz vrednosti odčitkov serije standardnih raztopin smo narisali standardno umeritveno krivuljo in z nje odčitali koncentracije za preiskovane vzorce. Količino natrija in kalija smo izračunali po formuli 4 (Hodnik, 1988).

...(4)

Za razkroj smo uporabili zračno suh vzorec:

$$\mu\text{g K ali Na / g suhe snovi} = \frac{a \cdot b \cdot d \cdot 100}{c} \% \text{ sušine}$$

a = odčitek iz umeritvene krivulje

b = razredčitev matične raztopine

c = zatehta za pripravo matične raztopine

d = razredčitev pri merjenju

3.3.4.3 Določanje vsebnosti fosforja

Spektrofotometrično se fosfor v filtratu določa z razvijanjem rumene barve. Ortofosforna kislina v reakciji z amon-vanadatom in amon-molibdatom v prisotnosti solitrne kisline daje heteropolikislinski kompleks rumene barve. Ker obstaja določena korelacija med intenziteto nastale barve in koncentracijo fosforja v raztopini, je možno določanje vsebnosti slednjega preko absorpcije svetlobe oziroma preko absorpcijske spektrofotometrije. Pri tem pa je treba upoštevati, da je absorpcija svetlobe odvisna od koncentracije raztopine, debeline sloja raztopine in uporabljenih valovnih dolžin.

Pribor in reagenti:

- merilne bučke
- pipete
- UV/VISspektrometer, Perkin Elmer Lambda 2
- matična standardna raztopina: zatehtali smo 4,394 g KH_2PO_4 p.a. in z destilirano vodo dopolnili do oznake, tako da smo dosegli koncentracijo 1000 $\mu\text{g P/mL}$
- reagenčna zmes (V-M) za razvijanje rumene barve iz raztopin A : B : C = 1 : 1 : 1.

Raztopina A: 333,3 mL HNO_3 (konc.) + destilirana voda do 1 L.

Raztopina B: 2,5 g amon-vanadata (NH_4VO_3) + 500 mL vrele vode, ohladili, dodali 20 mL HNO_3 (konc.) in dopolnili do 1L z destilirano vodo. To je 0,25 % NH_4VO_3 .

Raztopina C: 50 g amon-molibdata ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$) raztopili v vroči vodi, po ohladitvi dopolnili z destilirano vodo do 1 L.

Priprava standardnih raztopin: V 50 mL merilne bučke smo dali v vsako po 15 mL (V-M) reagenta. Nato smo dodali osnovno standardno raztopino, ki je vsebovala 1000 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5$ /mL po spodnji preglednici in z deionizirano vodo dopolnili do oznake. (preglednica 8) (Hodnik, 1988).

Preglednica 8: Priprava serij standardnih raztopin (Hodnik, 1988)

serije standardnih raztopin	koncentracija standardne raztopine ($\mu\text{g P/mL}$)	volumen standarne raztopine (1000 $\mu\text{g P}_2\text{O}_5/\text{mL}$)
1	0	0
2	2	0,1
3	5	0,25
4	10	0,5
5	20	1
6	30	105
7	40	2
8	60	3
9	80	4
10	100	5

Postopek:

V 50 mL bučko smo odpipetirali 5 mL vzorca, dodali 15 mL V-M reagenta in dopolnili do oznake z destilirano vodo. Po eni uri smo merili na spektrofotometru pri 436 nm, Photo cell blu, v kivetki debeline 1 cm. Med merjenjem smo odčitali absorbanco za serijo standardnih raztopin in preiskovanih filtratov. Iz vrednosti absorbanc serije standardnih raztopin smo narisali umeritveno krivuljo, pri čemer smo na absciso nanašali koncentracije fosforja in na ordinato odčitano absorbanco. V določenem območju koncentracij (1-50 $\mu\text{g P/mL}$) sta ti dve količini linearno odvisni. Iz umeritvene krivulje smo odčitali koncentracije za preiskovane vzorce in izračunali vsebnosti fosforja, v $\mu\text{g P/g}$ suhe snovi ali v %. Količino fosforja smo izračunali po formuli 5 (Hodnik, 1988).

...(5)

Zatehtali smo zračno suh vzorec:

$$\mu\text{g P/g z.s.} = a \cdot b \cdot 1000 / c \cdot \% \text{ sušine}$$

a = odčitek iz umeritvene krivulje

b = razredčitev matične raztopine

c = zatehta za pripravo matične raztopine (g)

3.3.5 Določanje rastlinskih pigmentov

Vzorce za analizo pigmentov smo pripravili v laboratoriju Katedre za aplikativno botaniko, ekologijo in fiziologijo rastlin Oddelka za agronomijo, Biotehniške fakultete, po metodi, ki so jo opisali Tausz in sod. (2003).

0,1 g zmletega liofiliziranega vzorca smo ekstrahirali s 5 ml hladnega acetona. Pri tem smo uporabili homogenizator ultra-turrax (Janke & Kunkel GmbH & co). Homogenizirali smo 20 sekund na ledu. Sledilo je centrifugiranje 5 minut pri 4200 min^{-1} pri sobni temperaturi. Supernatant smo prefiltrirali skozi 0,45 μm membranski filter (RC-Vliesverstärkt filter, Sartorius AG) v vzorčno stekleničko za analizo. Ves postopek ekstrakcije smo izvedli v zatemnjem prostoru.

Kromatografski pogoji:

HPLC sistem: Spectra-Physics (črpalka P 4000 SpectraSYSTEM, avtomatski podajalnik vzorcev AS 1000 SpectraSYSTEM)

detektor: UV-VIS Spectra Focus

kolona: Spherisorb ODS2 5U (5 μm , 250 x 4,6 mm)

predkolona: Spherisorb ODS2 5U (5 μm , 7,5 x 4,6 mm)

volumen injiciranja: 20 μl

mobilna faza: A: acetonitril/voda/metanol=100/10/5 (v/v/v)

B: aceton / etilacetat= 2/1 (v/v)

gradient: linearni gradient od 10 % B do 75 % B v osemnajstih minutah, nato od 75 % do 70 % v sedmih minutah in od 70 % do 100 % v petih minutah

pretok mobilne faze: 1 mL/min

termostat kolone: Mistral tip 880, Spark Holland

T kolone: 5 °C

T avtomatskega podajalnika vzorcev: 4 °C

detekcija: 440 nm

trajanje analize: 30 min

operacijski sistem: OS/2 standard ed. IBM (SYSLEVEL 5050)

Koncentracije pigmentov smo izračunali po metodi eksternega standarda. Uporabili smo naslednje standarde: neoksantin, anteraksantin in violaksantin proizvajalca DHI Water & Environment, lutein, α -karoten in β -karoten proizvajalca Sigma, ZDA, zeaksantin proizvajalca Applichem, Nemčija.

3.3.5.1 Določanje vsebnosti tokoferola

Metodo uporabljen za analizo tokoferola je opisal Tausz in sod. (2003). Ekstrakte za analizo tokoferola smo pripravili v laboratoriju Katedre za aplikativno botaniko, ekologijo in fiziologijo rastlin Oddelka za agronomijo, Biotehniške fakultete, na enak način kot ekstrakte za analizo rastlinskih pigmentov. Analize so bile izvedene v istem laboratoriju.

Kromatografski pogoji :

HPLC sistem: Spectra-Physics (črpalka P 4000 SpectraSYSTEM, avtomatski podajalnik vzorcev AS 1000 SpectraSYSTEM)
detektor: fluorescenčni detektor SpectraSYSTEM FL 2000
kolona: Spherisorb ODS2 5U (5 µm, 250 x 4,6 mm)
predkolona: Spherisorb ODS2 5U (5 µm, 50 x 4,6 mm)
volumen injiciranja: 20 µL
mobilna faza: metanol
pretok mobilne faze: 1 mL/min
T kolone: sobna temperatura
T avtomatskega podajalnika vzorcev: 4 °C
detekcija: ekscitacija 295 nm, emisija 325 nm
trajanje analize: 30 min

Koncentracije tokoferola smo izračunali po metodi eksternega standarda. Uporabili smo standarde proizvajalca Sigma, ZDA.

3.3.6 Določitev vsebnosti skupnih maščob po Soxhletu

Metoda po Soxhletu temelji na hidrolizi vzorcev (jedrca navadnega koprivovca-homogeno zdrobljena) s klorovodikovo kislino, ekstrakciji maščob s petrom etrom in tehtanju dobljenih maščob.

V stekleno čašo smo zatehtali cca 6 g homogenizirano zdrobljenega vzorca, dodali 100 mL destilirane vode in 80 mL koncentrirane HCl. Tako pripravljen vzorec smo 30 minut, pokrit z urnim steklom, ob mešanju s stekleno palčko segrevali na gorilniku. Opisani postopek hidrolize povzroči sprostitev vezanih lipidov in s tem možnost ekstrakcije in detekcijo le teh. Po končani hidrolizi smo še vroč zmes filtrirali in spirali z vročo destilirano vodo. Eluat smo preiskušali z AgNO_3 do negativne reakcije na Cl^- ione oz. do takrat, ko se oborina ni več pojavila.

Po filtraciji ostanejo maščobe kvantitativno na filter papirju. Filter papir smo prenesli na urno steklo in ga sušili pri 105 °C približno eno uro. V primeru, da filtrnega papirja in filtrata ne sušimo, v Soxhletovi aparaturi ne pride do pravilne oz. zadostne ekstrakcije maščob. V nasprotnem primeru, ko pa se zgodi, da je filtrni papir presuh, pa lahko pri nadaljevanju postopka papir poči pri čemer lahko pride do izgube filtrata. Merilo za pravilno posušen filtrni papir so postavljeni strokovni sodelavci z dolgoletnimi izkušnjami s Katedre za tehnologijo rastlinskih živil, in sicer na otip filtrnega papirja.

Po sušenju smo dali osušen filtrni papir s filtratom v ekstrakcijski tulec, ga pokrili z vato ter tulec namestili v ekstrakcijski nastavek Soxhletovega aparata. Na spodnji del nastavka smo pritrdirili ustrezno bučko, ki smo jo predhodno posušili, ohladili in stehtali (b). Na zgornjem delu ekstrakcijskega nastavka smo na vzorec dodali zadostno količino topila

petroletra. Ekstrakcija je potekla tri ure. Po končani ekstrakciji smo preostanek topila odparili, bučke z ekstrahirano maščobo pa sušili eno uro v sušilniku pri temperaturi 105 °C. Sledilo je ohlajevanje bučk v eksikatorju ter tehtanje (c). Skupno količino maščob v vzorcu smo izračunali po formuli 6 (Plestenjak in Golob, 2000).

...(6)

$$\% \text{ maščobe v zračno suhem vzorcu} = (c-b) * 100 / a$$

a = masa vzorca (g)

b = masa bučke (g)

c = masa bučke in ekstrahiranih maščob (g)

Izračun vsebnosti maščob v svežem vzorcu (%):

% maščob v brezvodnem vzorcu = (% maščob v zračni sušini * % suhe

snovi)/(100-B)

B = vsebnost vode v zračno suhem vzorcu (%)

3.3.7 Določanje vsebnosti posameznih maščobnih kislin

Pri določanju vsebnosti maščobnih kislin smo uporabili metodo, ki v eni stopnji omogoča ekstrakcijo lipidov iz vzorca, transmetilacijo lipidov in ekstrakcijo metilnih estrov maščobnih kislin (MEMK).

Metilni estri maščobnih kislin so bolj hlapni kot odgovarjajoče maščobne kisline, so manj polarni ter se manj oksidirajo. Zaradi naštetih lastnosti predstavljajo prednost pri kromatografski analizi, saj dajejo pravilnejše rezultate in lepše vrhove na kromatogramu (Sempore in Bezard, 1996).

V vialo smo zatehtali okoli 50 mg zdrobljenega homogeniziranega vzorca ter zatehtali 100 µL raztopine internega standarda (IS), ki smo jo že poprej pripravili iz natančno odtehtane količine internega standarda, kateremu smo dodali mešanico metanola in heptana. Kot interni standard smo uporabili heptadekanojsko kislino (17:0).

Masa IS v vsaki viali je bila od 1 do 1,5 mg, točno količino pa smo izračunali iz skupne količine IS in mase raztopine, ki smo jo odpipetirali v določeno vialo. Po dodatku IS smo dodali v vsako vialo še 3,2 ml mešanice reagentov, ki so jo sestavljali metanol, heptan, benzen, 2,2-dimetoksipropan in H₂SO₄ v razmerju 37:36:20:5:2. Viale smo neprodušno zaprli in jih 60 minut segrevali na vodni kopeli pri 80 °C. Zmes v vialah smo ohladili in iz nastale heptanske plasti na vrhu vzeli 1 mL raztopine metilnih estrov ter jo prenesli v vialo na plinskem kromatografu (Garcés in Mancha, 1993).

Na plinskem kromatografu smo najprej kot referenčni standard analizirali standardno raztopino metilnih estrov višjih maščobnih kislin in določili retencijске čase. Po končani analizi vzorcev smo s pomočjo internega standarda iz kromatografskih vrhov izračunali količino posamezne maščobne kisline.

Pogoji na plinskem kromatografu:

Plinski aparat: Agilent Technologies 6890N

- kolona: SUPELCO – SPB PUFA; 30 m X 0,25 mm X 0,2 µm
- detektor: FID
- temperatura kolone: 210 °C
- temperatura detektorja: 260 °C
- temperatura injektorja: 250 °C
- tlak na injektorju: 31,6 psi
- nosilni plin: He, pretok: 1 mL/min
- pretok N₂: 45 mL/min
- pretok H₂: 40 mL/min
- pretok zraka: 450 mL/min
- volumen injiciranja: 1,0 µL
- program za obdelavo podatkov: GC Chem Station

Vsebnost posameznih maščobnih kislin preračunanih na suhi vzorec smo izračunali po formuli 7.

...(7)

$$C \text{ (mg / 100 g)} = (A_i * F_{Ai} * m_{IS} * 100) / (A_{IS} * F_{Ai17} * m_{vz})$$

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

A_i = površina vrha posamezne maščobne kisline

F_{AI} = koeficient posamezne maščobne kisline

m_{IS} = masa internega standarda (g)

A_{IS} = površina internega standarda

F_{AI17} = koeficient posamezne maščobne kisline

m_{vz} = masa vzorca (g)

Koncentracijo internega standarda smo izračunali z enačbo 8.

...(8)

$$C_{IS} = 0,4886 \text{ g / 19,75 g metanola}$$

Maso internega standarda smo izračunali po formuli 9.

...(9)

$$m_{IS} = m * 0,4886 / 19,75$$

m = masa vzorca (g)

3.3.8 Spektrofotometrično določanje skupnih fenolnih spojin z metodo po Singletonu in Rossiju

Za določanje skupnih fenolnih spojin v plodovih navadnega koprivovca, smo v raziskavi uporabili dve metodi, kateri smo tudi med seboj primerjali. Prva metoda je metoda po Singletonu in Rossiju, druga pa metoda po Waterman in Mole-u.

3.3.8.1 Princip

Fenolne spojine absorbirajo predvsem svetlobo UV spektra in vidnega spektra. Zato lahko odčitano vrednost absorbance pri primerni valovni dolžini uporabimo za oceno koncentracije skupnih fenolov, skupnih antocianov, obarvanih antocianov, delež antocianov v obarvani obliki, skupnih hidroksicimetnih kislín in ekvivalenta kavne kislíne (Košmerl in Kač, 2004).

Za določanje skupnih fenolnih snovi v našem vzorcu smo dodali v vzorec Folin-Ciocalteaujev reagent, ki v alkalni raztopini (dodatek natrijevega karbonata) reducira fenolne spojine. Absorbanco obarvanega reakcijskega produkta smo izmerili pri valovni dolžini 765 nm. Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin smo izračunali iz umeritvene krivulje in rezultat izrazili v mg galne kislíne na liter. Galna kislina smo uporabili kot standardno referenčno spojino za določanje skupnih fenolnih spojin. Galna kislina vezana na glukozo, predstavlja del hidrolizabilnih taninskih molekul. Zaradi polifenolne strukture tanine uvrščamo med antioksidante. Kemijo je galna kislina 3,4,5-trihidroksibenzojska kislina z molsko maso 170,12 g/mol. Ta spektrofotometrična metoda je nespecifična, saj z njo določimo število vseh hidroksilnih (-OH) skupin, ki so prisotne v vzorcu, tudi potencialne skupine fenolov, ki se lahko oksidirajo (Košmerl in Kač, 2004).

Reagent Folin-Ciocalteau sestavlja natrijev volfram, natrijev molibdat in litijev sulfat. Slednji preprečuje obarvanje reagenta. Dodatek natrijevega karbonata je potreben za alkalnost reakcijske zmesi. V prisotnosti fenolatnega aniona poteče redukcija molibdata in volframata. Reducirani molekuli volframata in molibdata sta modro, nereducirani pa rumeno obarvani (Ough in Amerine, 1988).

Za merjenje absorbance smo uporabili spektrofotometer, katerega delovanje temelji na merjenju absorpcije elektromagnetenega valovanja. To valovanje je oblika energije, ki se z veliko hitrostjo širi skozi prostor. Okarakteriziramo ga z valovno dolžino, frekvenco, amplitudo, hitrostjo,... Elektromagnetno valovanje lahko obravnavamo tudi kot tok diskretnih delcev energije-fotonov. Energija fotonov je odvisna od frekvence valovanja.

Glede na energijo oz. valovno dolžino razdelimo elektromagnetno valovanje v več področij. Za kemijske analize sta pomembna ultravijolično in področje vidne svetlobe. Absorbanca je proporcionalna koncentraciji snovi, ki absorbira svetlobo določene valovne dolžine in je osnova kvantitativne uporabe absorpcijske spektrometrije. Pri merjenju absorbance moramo upoštevati sisanje svetlobe (del svetlobe se odbija od sten absorpcijskih kivet, del se absorbira v stene kivet, sisanje svetlobe na trdnih delcih v raztopini). V praksi to upoštevamo, tako da primerjamo jakost svetlobnega žarka, ki prehaja skozi kiveto z vzorcem in jakost žarka, ki prehaja skozi enako kiveto napolnjeno s topilom (Perkavac in Veber, 1982).

3.3.8.2 Izvedba

REAGENTI:

- galna kislina (p.a.), Sigma, Kitajska
- Folin-Ciocalteaujev reagent (p.a.), Fluka, Švica
- 20 % raztopina natrijevega karbonata
- deionizirana voda

APARATURA:

Spektrofotometer: UV-160 A, Schimadzu

UMERITVENA KRIVULJA:

Osnovno raztopino galne kisline smo pripravili tako, da smo v 100 mL bučko natehtali 500 mg galne kisline, nato dodali 10 mL absolutnega etanola ter razredčili do oznake z deionizirano vodo. Iz tako pripravljene osnovne raztopine smo z ustreznim razredčevanjem pripravili različne koncentracije standardnih raztopin galne kisline: v 100 mL bučko smo odpipetirali od 0 do 10 mL osnovne raztopine ter z deionizirano vodo razredčili do oznake. S tem smo dobili končne koncentracije od 0-500 mg galne kisline na liter v standardnih raztopinah.

Iz vsake merilne bučke smo odpipetirali po 1 mL standardne raztopine galne kisline v 100 mL merilno bučko, dodali približno 60 mL deionizirane vode, premešali raztopino in dodali 5 mL razredčenega Folin-Ciocalteaujevega reagenta v razmerju 1:2. Raztopino smo zopet premešali in najpozneje po 8 minutah dodali 15 mL 20 % raztopine natrijevega karbonata. To smo premešali ter dopolnili z deionizirano vodo do oznake. Raztopino smo pustili stati točno 2 uri pri 20 °C. Pred merjenjem smo raztopino spet premešali, prelili v kiveto in izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu (koncentracija 0 mg galne kisline / 1) pri 765 nm na UV-VIS spektrofotometru.

Iz izmerjenih absorbanc raztopine galne kisline smo narisali umeritveno krivuljo in sicer odvisnost absorbance obarvanih raztopin od masne koncentracije galne kisline (mg/L) ter izračunali enačbo premice.

Priprava vzorca:

Vzorec smo pripravili tako, da smo k cca 15 g vzorca dodali cca 50 g 10 % etanola ter homogenizirali z ultra-turraxom pri $20\ 000\ \text{min}^{-1}$ 3 minute. Vzorec smo ekstrahirali 16 ur pri sobni temperaturi in prefiltrirali skozi grob filter papir ter ustrezzo razredčili. Razredčitev je bila pripravljena tako, da smo 10 mL ekstrakta dodali 60 mL deionizirane vode. Iz merilne bučke smo odpipetirali 1 mL standardne raztopine v 100 mL merilno bučko, dodali približno 60 mL deionizirane vode, raztopino premešali in dodali 5 mL razredčenega Folin-Ciocalteujevega reagenta. Raztopino smo ponovno dobro premešali in po 30 sekundah (najkasneje po 8 minutah) dodali 15 mL 20 % raztopine natrijevega karbonata. Nato smo še premešali in dopolnili z deionizirano vodo do oznake. Raztopino smo pustili stati točno 2 uri pri temperaturi 20 °C. Pred merjenjem smo raztopino spet premešali, prenesli v kiveto in izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu (koncentracija 0 mg galne kisline / L) pri 765 nm na UV-VIS spektrofotometru.

S pomočjo izmerjene absorbance raztopine vzorcev, smo iz enačbe premice izračunali koncentracijo galne kisline. Vsebnost galne kisline (mg)/ 100 g sveže mase mezokarpa navadnega koprivovca smo izračunali po formuli 10.

...(10)

$$X = C * 25\ \text{mL} / 1000\ \text{mL}$$

$$Y = X * 100\ \text{g} / 40\ \text{g}$$

C = koncentracija galne kisline v mg / L

X = koncentracija galne kisline (mg/25 mL metanola) (odčitamo iz krivulje)

Y = vsebnost galne kisline (mg/100 g) svežega mezokarpa navadnega koprivovca

3.3.9 Določanje skupnih fenolov po Waterman in Mole-u

3.3.9.1 Princip

Določitev skupnih fenolov temelji na spektrofotometrični metodi z uporabo Folin-Ciocalteau-jevega (F-C) reagenta, ki vsebuje natrijev fosfomolibdat in natrijev wolframat (Waterman in Mole, 1994). Absorbanco nastalega modrega kompleksa smo merili pri valovni dolžini 746 nm (A_{746}) (Lee, 1992). V alkalni raztopini se fenolne spojine oksidirajo s F-C reagentom, pri čemer se pojavijo modro obarvane spojine. Če se absorbanca linearno spreminja s koncentracijo, velja Beer-Lambertov zakon.

Za umeritveno krivuljo smo uporabili različne koncentracije klorogenske kislina. Vse spektrofotometrične meritve smo opravili na spektrofotometru Hewlett-Packard, model HP-8453.

3.3.9.2 Izvedba

REAGENTI:

- Folin-Ciocalteau reagent (p.a.), Fluka, Švica
- Klorogenska kislina (1,3,4,5-tetrahidroksicikloheksankarboksilna kislina 3-(3,4-dihidroksicinamat)

UMERITVENA KRIVULJA:

Umeritveno krivuljo smo pripravili tako, da smo najprej pripravili raztopino klorogenske kislina v 50 % metanolu (v/v) s koncentracijo 1 mmol / L. Iz te raztopine smo pripravili razredčene raztopine, ki so vsebovale od 2-200 nmol klorogenske kislina. Vse raztopine smo z destilirano vodo razredčili na 2,75 ml in jim dodali še 0,5 mL F-C reagenta in 0,5 mL 20 % raztopine Na_2CO_3 . Vse meritve za umeritveno krivuljo smo izvedli v treh ponovitvah. Absorbanco obarvanih raztopin smo izmerili pri 746 nm.

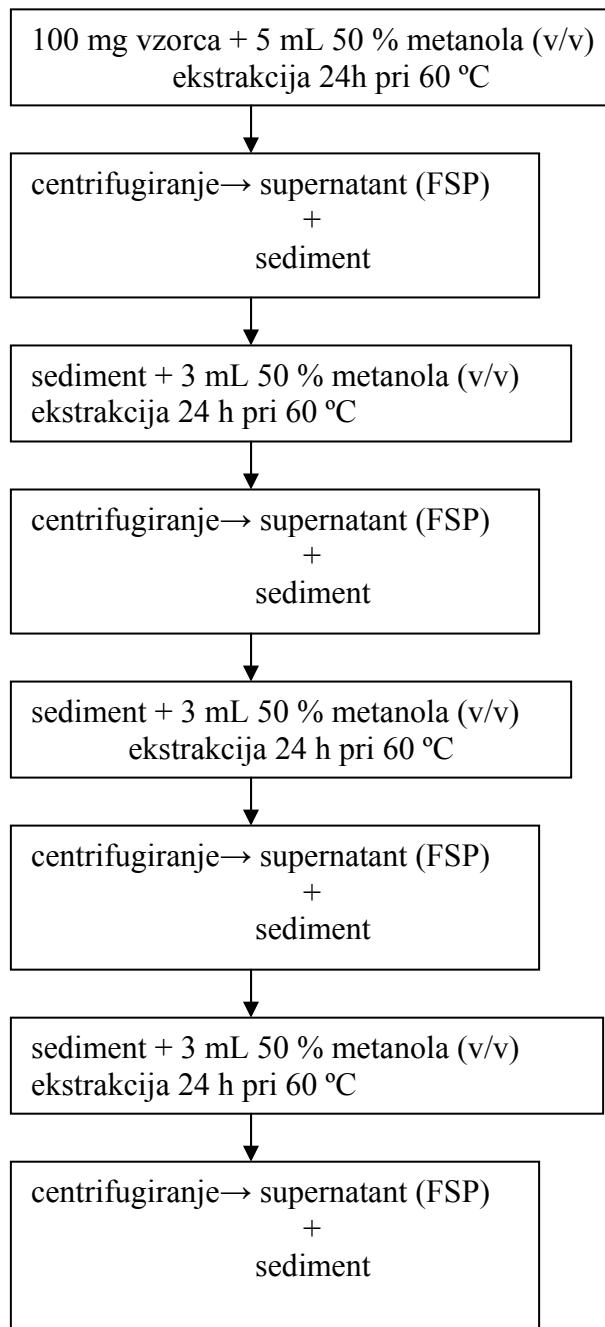
Iz izmerjene absorbance smo narisali umeritveno krivuljo in sicer odvisnost absorbance od masne koncentracije klorogenske kislina (mg/L) ter izračunali enačbo premice.

Priprava vzorca:

Na razpolago smo imeli vzorec plodov navadnega koprivovca, ki so bili hranjeni cca 4 mesece v hladilniku in vzorec plodov navadnega koprivovca, ki so bili enak čas hranjeni v zamrzovalniku. Vsak vzorec smo liofilizirali in izvedli analize v treh ponovitvah.

V stekleničke s pokrovom na navoj smo na analitski tehtnici zatehtali približno 100 mg vzorca mezokarpa navadnega koprivovca, zabeležili točno maso, mu dodali 5 mL 50 % metanola (v/v) in jih tesno zaprli s pokrovčki. Sledila je ekstrakcija vzorca 24 ur pri 60 °C v sušilniku. Da bi bila ekstrakcija čim bolj temeljita, smo vzorce v stekleničkah večkrat premešali. Po 24 urni ekstrakciji smo vzorec centrifugirali 5 minut pri 13000 min^{-1} ter

ločili supernatant, v katerem smo določali fenolne spojine, preostalemu sedimentu pa smo zopet dodali 3 mL 50 % metanola (v/v) ter ponovno ekstrahirali (24 ur, 60 °C) in centrifugirali.



Slika 10: Priprava vzorca za določanje fenolnih spojin (FSP)

Vsebnost fenolnih spojin smo merili vsak dan posebej in jo izrazili kot mmol klorogenske kisline na maso vzorca. Ekstrahirali smo štiri dni po navedenem postopku (slika 10). Vse vsebnosti fenolnih spojin smo sešteli, da smo dobili skupno vsebnost fenolnih spojin v

vzorcu. Pri tem smo upoštevali razredčitev, maso vzorca in volumen uporabljenega ekstrakta.

3.3.10 Določanje vlaknin z metodo po Scharrer-Kürschnerju

3.3.10.1 Princip

Segrevanje vzorca v mešanici za razklop, filtriranje skozi filtrirni lonček, sušenje, tehtanje.

3.3.10.2 Izvedba

PRIBOR:

- 250 mL bučka z brušenim zamaškom
- filtrirni lonček (guč 3)
- presesalna buča
- 25 mL valj

REAGENTI:

- Scharrer Kürschnerjev-reagent (S-K):
 75 mL 70 % ocetne kisline, Merck, Nemčija
 + 5 mL konc. HNO_3 , Merck, Nemčija
 + 2 g triklorocetne kisline, Merck, Nemčija
- Etanol, Merck, Nemčija
- Eter, Merck, Nemčija

V 250 mL bučko smo odtehtali 1 g zračno suhega vzorca, dodali 25 mL S-K- reagenta in segrevali pod povratnim hladilnikom 30 minut. Vmes smo večkrat premešali. Medtem smo posušili filtrirni lonček, obložen s filtrirnim papirjem, ohladili in stehtali. Še vrelo raztopino po segrevanju smo kvantitativno prefiltrirali skozi filtrirni lonček s pomočjo vakuumskih črpalk. Izpirali smo z vročim reagentom, vročo destilirano vodo, nato z alkoholom in končno še z etrom. Sušili smo v sušilniku pri 105 °C do konstantne mase, ohladili in stehtali. Vsebnost vlaknin v zračno suhem vzorcu smo izračunali po formuli 11 (Plestenjak in Golob, 2000).

...(11)

$$\% \text{ vlaknin v zračno suhem vzorcu} = (b / a) * 100$$

b = masa vlaknin (g)

a = masa vzorca (g)

Vsebnost vlaknin v svežem vzorcu smo izračunali po formuli 12 (Plestenjak in Golob, 2000).

...(12)

$$\begin{aligned}\% \text{ vlaknin v svežem vzorcu} &= (\% \text{ vlaknin v zračnosuhem vzorcu} * \% \text{ suhe snovi}) / (100 - B) \\ B &= \% \text{ vode v zračno suhem vzorcu}\end{aligned}$$

3.3.11 Določanje beljakovin z metodo po Kjeldahlu

3.3.11.1 Princip

Metoda temelji na določanju beljakovin posredno preko dušika (ob upoštevanju, da je ves dušik, prisoten v živilu, beljakovinski). Za preračunavanje dušika v beljakovine uporabljamo ustrezne faktorje.

Vzorec razklopimo z mokrim sežigom s pomočjo mešanice kislin ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$), vodikovega peroksida, katalizatorja in visoke temperature. Z destilacijo z vodno paro ob dodatku močne baze sprostimo NH_3 , ki ga lovimo:

- v prebitek borove kisline in nato titriramo amonijev borat s standardno raztopino klorovodikove kisline ali
- v določeno količino kisline znane koncentracije; prebitek kisline pa titriramo z bazo znane koncentracije (Plestenjak in Golob, 2000).

3.3.11.2 Kemizem

- (1) $\text{N} \text{ (živilo)} \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- (2) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + 2\text{NaOH} \rightarrow \text{Na}_2\text{SO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NH}_3$
- (3) $\text{NH}_3 + \text{H}_3\text{BO}_3 \rightarrow \text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$
- (4) $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3 + \text{HCl} \rightarrow \text{NH}_4\text{Cl} + \text{H}_3\text{BO}_3$

Če enačbi (3) in (4) združimo:



Iz te enačbe sledi:

1 mol HCl = 1 mol N = 14 g N
1 mL 0,1 M HCl = 0,0014 g N
(Plestenjak in Golob, 2000).

3.3.11.3 Izvedba

PRIBOR:

- Tecator blok
- sežigne epruvete
- destilacijska enota
- 250 mL erlenmajerice
- bireta

REAGENTI:

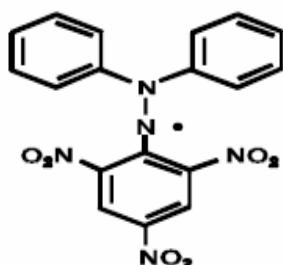
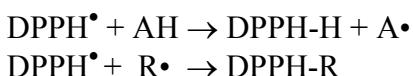
- konc. H_2SO_4 + konc. H_3PO_4 (100 + 5)
- H_2O_2 (33%)
- katalizator (selen + K_2SO_4)
- nasičena razt. H_3BO_3 (cca 3,5 % razt.)
- Tashiro indikator (4 deli 0,1 % etanolne raztopine metilrdečega in 1 del 0,1 % etanolna raztopina metilmordrega. Hranimo v temni steklenici največ 3 mesece. Preskok barve je iz zelene v vijoličasto modro).

3.3.12 Antioksidativna učinkovitost

Antioksidativno učinkovitost smo merili z reagentom 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH $^\bullet$).

3.3.12.1 Princip

Prosti radikal 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH $^\bullet$) je topen v raztopinah organskih topil kot sta metanol ali etanol. Raztopina radikala, ki ima absorpcijski maksimum pri 517 nm, je vijolično obarvana. Redukcija radikala:



Slika 11: 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH $^\bullet$)

Reducirana oblika radikala (DPPH-H) ne absorbira pri 517 nm, kar pomeni, da prisotnost antioksidantov povzroči zmanjšanje absorbance pri 517 nm (Brand-Williams in sod., 1995). Radikal DPPH[•] je uporaben za določevanje antioksidativne učinkovitosti različnih antioksidantov tako v polarnih kot v nepolarnih topilih.

3.3.12.2 Liofilizacija

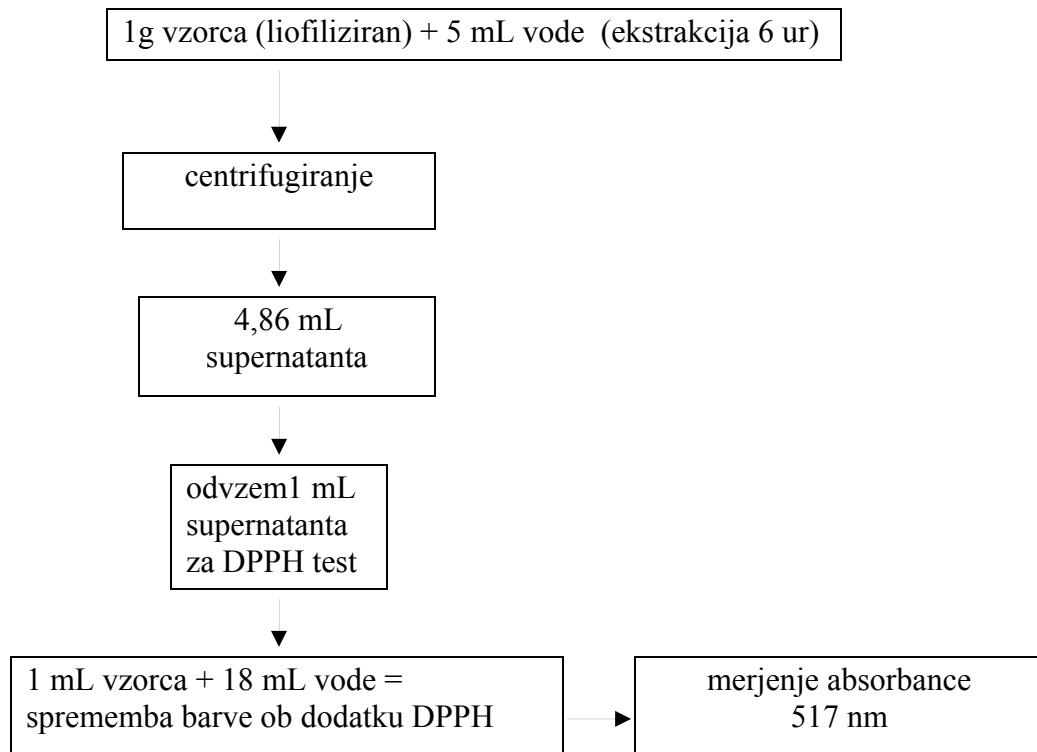
Liofilizacija je vakuumsko sušenje oziroma odstranjevanje vode (ledu) iz zamrznjenega vzorca direktno s sublimacijo. Pri tem načinu sušenja je bistvenega pomena režim oziroma hitrost zamrzovanja v posameznih fazah postopka, saj ta določa kinetiko tvorbe kristalov. Ekstracelularna in intracelularna tvorba kristalov ledu močno vplivata na obseg poškodb na celičnih membranah in drugih celičnih strukturah (Smole-Možina, 1996).

Postopek liofilizacije poteka v dveh fazah:

1. Zmrzovanje materiala pri -15 do -50 °C, v nekaterih primerih tudi pri -70 °C. Da se zmrzovanje izvede čim hitreje, brez mehanskih poškodb celic, mora biti material v čim tanjšem sloju. Hitrost zmrzovanja je odvisna od hladilnega medija, prenosa toplote in fizikalnih lastnosti proizvoda, ki se zmrzuje.
2. Sušenje zmrznjenega materiala v vsakem vakuumu pri nizki temperaturi – takšni, da temperatura proizvoda ne preseže 30 °C. Posušeni proizvod vsebuje do 3 % preostale vlage in ohranja visoko biološko aktivnost. Je visoke kakovosti, ker sušenje poteka brez zraka (Marić, 1996).

3.3.12.3 Izvedba liofilizacije

V tehtiče smo na analitski tehnicni zatehtali približno 2 g zamrznjenega mezokarpa navadnega koprivovca, zabeležili maso in jih postavili v liofilizator. Zagnali smo program, ki vzorec najprej ohladi na -20 °C. Nato pade tlak na 0,370 mbar. V naslednjih fazah se temperatura postopoma dviguje, najprej iz -20 °C na -10 °C, nato na 0 °C, sledi dvig temperature do +10 °C in nazadnje do +15 °C, ko tlak pade do skoraj popolnega vakuuma. Celoten postopek traja 22 ur. Po liofilizaciji smo vzorce še enkrat stehtali in jih uporabili za ekstrakcijo z različnimi topili (slika 12).



Slika 12: Postopek priprave vzorcev – voda, kot topilo

3.3.12.4 Izvedba določanja antioksidativne učinkovitosti

REAGENTI:

- DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil), Sigma, ZDA
- 50 mmol/L acetatni pufer (NaOAc), pH 5,5
- etanol 96 %, Merck, Nemčija
- metanol, Merck, Nemčija
- voda
- aceton, Merck, Nemčija
- diklorometan, Merck, Nemčija

Umeritvene krivulje z reagentom DPPH[•]: Na analitski tehnici smo zatehtali 4,0 mg DPPH[•] in ga ob mešanju z magnetnim mešalom raztoplili v 20 ml etanola oz. metanola. Etanol smo uporabili, kadar smo določali antioksidativno učinkovitost v nepolarni fazi, metanol pa za določanje antioksidativnega potenciala v polarni fazi. Pripravili smo standardne raztopine askorbinske kisline raztopljene v destilirani vodi s koncentracijo $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol/L, klorogenske kisline raztopljene v 10 % metanolu (v/v) s koncentracijo $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol/L, α -tokoferola raztopljenega v etilacetatu s koncentracijo $2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/L. V 1,5 mL

mikrocentrifugirke smo odpipetirali od 0-250 µL standardnega vzorca in do 250 µL dopolnili s topilom, dodali 250 µL reagenta DPPH[•] in dopolnili do končnega volumna 1250 µL z etanolom za nepolarne vzorce oz. metanolom za polarne vzorce. Pripravljene vzorce smo dobro premešali in po 30 minutah merili absorbanco na spektrofotometru pri 517 nm. Maksimalno absorbanco smo izmerili vzorcu, kateremu nismo dodali standarda. Od maksimalne absorbance smo odštevali ostale meritve in po enačbi Beer-Lambertovega zakona izračunali množino porabljenega reagenta DPPH[•] v odvisnosti od množine dodanega standarda.

Beer-Lambertov zakon: $\Delta A = \varepsilon \cdot \Delta c \cdot l$

$$n_{DPPH_2} = c \cdot V_{\text{reakcijske zmesi}}$$

$$\Delta c = \Delta A / l \cdot \varepsilon$$

$$n = \frac{\Delta A \cdot V}{\varepsilon \cdot l}$$

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

$$\varepsilon = 12000 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

ΔA ustreza razlici absorbance med referenčno raztopino, kateri je dodan samo DPPH[•] in raztopino kjer je poleg DPPH[•] še antioksidant, ε je molarni absorpcijski koeficient DPPH[•] pri 517 nm, c je koncentracija nastalega DPPH₂, l je dolžina poti svetlobe skozi vzorec. Vrednost ε v metanolu ali etanolu pri 517 nm je v literaturi navedena med 11600 in 12500 l/(mol·cm). Ker v literaturi ni nedvoumnega podatka o molarnem absorpcijskem koeficientu DPPH[•], smo izbrali povprečno vrednost literurnih podatkov in predpostavili, da je $\varepsilon_{517 \text{ nm}}$ enak 12000 l·mol⁻¹·cm⁻¹ (Molyneux, 2004).

Vzorci: Polarno in nepolarno fazo smo analizirali posebej. Za polarno fazo smo v 1,5 mL mikrocentrifugirkah zmešali 250 µL reagenta DPPH[•] raztopljenega v metanolu s koncentracijo 4 mg/20mL, 750 µL metanola in 250 µL polarne faze. Mešanico smo dobro premešali na stresalniku za epruvete. Po 20 minutah smo vzorce centrifugirali 5 minut pri 14000 min⁻¹ in po 30 minutah merili absorbanco pri 517 nm. Nepolarno fazo smo pripravljali enako, le da smo uporabljali DPPH[•] raztopljen v etanolu in dodali na 750 µL metanola enako količino etanola. Meritve smo opravljali na treh vzporednih vzorcih. Pri vsaki seriji meritve smo opravili še tri meritve, v katere smo namesto vzorca dodali topilo. Te meritve so podale največjo absorbanco in so nam omogočale izračun porabljenje množine reagenta DPPH[•].

Preglednica 9: Priprava vzorcev za polarno in nepolarno fazo

nepolarna faza	polarna faza
250 µL vzorca	30 µL vzorca + 220 mL NaOAC
750 µL etanola	750 µL metanola
250 µL DPPH v etanolu (4,5 mg/20 mL)	250 µL DPPH

3.3.13 Določanje vsebnosti sladkorja pred in po inverziji metoda po Luff-Schoorlu

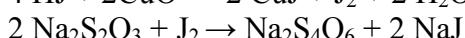
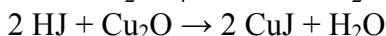
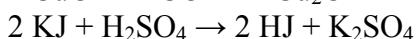
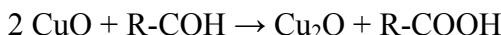
3.3.13.1 Princip

Metoda je namenjena za določanje reducirajočih in nereducirajočih sladkorjev v vzorcu. Je zanesljiva pri vsebnosti nad 5 g saharoze na liter. Glukoza in fruktoza sta reducirajoča sladkorja, saharozu pa je nereducirajoč sladkor.

Plodove navadnega koprivovca smo predhodno olupili (5 g) in mezokarp homogenizirali z vodo do 50 g s pomočjo ultra-turraxa. Nato smo ga očistili s pomočjo Carrez raztopine, katera vsebuje kovinske ione, ki nase vežejo nečistoče, in ga z Luffovim reagentom segrevali do vrenja. Pri tem se reducirajoči sladkorji oksidirajo, dvovalentni ion bakra iz Luffovega reagenta pa reducira do enovalentnega bakrovega iona. Iz raztopine se izloči kot netopen bakrov (I) oksid, ki reagira z HJ in sproščeni J₂ se v prisotnosti žveplove kislne titrimetrično določimo s pomočjo Na-tiosulfata. Ob upoštevanju slepega vzorca lahko iz tabel za porabljeni ml raztopine Na-tiosulfata odčitamo odgovarjajoče količine sladkorjev. Za določanje nereducirajoče saharoze je potrebna predhodna inverzija (Matissek in sod., 1989).

3.3.12.2 Kemizem

Luffov reagent vsebuje kompleksno raztopino bakrovega (I) oksida (CuO), ki se ob prisotnosti reducirajočih sladkorjev reducira v bakrov (II) oksid (Cu₂O).



3.3.13.3 Izvedba

REAGENTI:

- žveplova(VI) kislina (25 %), Merck, Nemčija
- solna kislina (32 %), Merck, Nemčija
- ocetna kislina (96 %), Merck, Nemčija
- kalijev hidroksid (30 %), Kemika, Hrvaška
- Carrez I (kalijev ferocianid-150 g/L)
- Carrez II (cinkov sulfat-300 g/L)
- Luffov reagent (50 g citronske kisline se raztopi v 50 mL, 143,7g bezvodnega Na-karbonata pa v 350 mL mlačne vode. Po ohladitvi se obe raztopini previdno

premeša in doda raztopina 25 g bakrovega sulfata v 100 mL vode. Vse skupaj se dopolni do 1 litra z vodo in filtrira.)

- kalijev jodid (30 g na 100 mL vode), Merck, Nemčija
- škrobovica (1 g na 100 mL vode), Merck, Nemčija
- NaS_2O_3 (0,1 M), Merck, Nemčija
- fenolftalein (0,1 g fenolftaleina se raztopi v 60 % etanolu do 100 mL), Riedel, Hannover

Čiščenje vzorca po Carrezu:

Glede na vsebnost sladkorjev smo odpipetirali 25 mL vzorca v 250 mL merilno bučko (1. razredčitev), dodali 150 mL vode in 5 mL Carrez I. Po premešanju smo dodali še 5 mL Carrez II. Po ponovnem premešanju smo dopolnili z vodo do oznake, premešali in po 10 minutah filtrirali skozi grob filter papir (Bogenpapier, 58x58 cm).

Določanje reducirajočih sladkorjev pred inverzijo:

Za določanje sladkorjev naj razredčeni vzorec ne bi vseboval več kot 50 mg reducirajočih sladkorjev. Zato smo od primerno razredčenega filtrata (2. razredčitev) odpipetirali 25 mL v 300 mL erlermajerico, v katero smo predhodno odpipetirali 25 mL Luffove raztopine. Vsebino v erlermajerici smo hitro segreli po priključitvi na povratni hladilnik do vrenja. Po 10 minutnem vrenju smo vsebino hitro ohladili pod tekočo vodo. Nato smo dodali 10 mL raztopine kalijevega jodida in previdno, med mešanjem, 25 mL žveplove(VI) kisline. Po dodatku 2 mL škrobovice, smo vzorec titrirali z raztopino NaS_2O_3 do preskoka v rumenkasto barvo.

Na isti način smo pripravili slepi vzorec, pri katerem smo namesto vzorca uporabili 25 mL vode, katero smo z Luffovim reagentom segreli. Iz razlike med titracijama vzorca in slepega vzorca smo dobili porabljen volumen raztopine Na-tiosulfata.

Inverzija:

25 mL filtriranega vzorca, po čiščenju s Carrezom in 2. razredčitvi, smo odpipetirali v 100 mL merilno bučko, dodali 50 mL vode in 5 mL koncentrirane solne kisline. Bučko smo segrevali do temperature 67 °C do 70 °C (5 minut). Po končani inverziji smo vzorec v bučki ohladili pod tekočo vodo na temperaturo 20 °C, nevtralizirali s KOH ali NaOH (30 %) in dodali nekaj kapljic fenolftaleina. Nato smo dodajali ocetno kislino po kapljicah do preskoka barve iz rožnate v brezbarvno. Bučko smo z deionizirano vodo dopolnili do oznake in 25 mL tako invertiranega vzorca uporabili za določanje sladkojev.

4 REZULTATI

4.1 VSEBNOST VODE

Jedrcem navadnega koprivovca smo pred ostalimi raziskavami najprej s sušenjem določili vsebnost vode, ker smo v nadaljnjih raziskavah podajali nekatere rezultate preračunane na suho snov. Merjenje je potekalo pri določanju vode v mezokarpu navadnega koprivovca v treh paralelkah, pri jedrcih navadnega koprivovca pa z dvema paralelkama. Eksperimentalno smo ugotovili, da jedrca navadnega koprivovca s sušenjem vsebujejo v povprečju 18,1 % vode.

Preglednica 10: Rezultati vsebnosti vode v zračno suhem in svežem vzorcu mezokarpa in jedrcov

vzorec	vsebnost vode v zračno suhem vzorcu (%)	vsebnost vode v svežem vzorcu (%)
1 mezokarp	37,5	89,0
2 mezokarp	37,3	88,5
3 mezokarp	35,0	82,3
4 jedrca	18,8	41,1
5 jedrca	17,4	37,8
povprečna vrednost vode v mezokarpu	36,6 ± 1,39	86,6 ± 3,73
Povprečna vrednost vode v jedrcih	18,1 ± 0,98	39,5 ± 2,33
koeficient variabilnosti (%) za meso	3,80	4,31
koeficient variabilnosti (%) za jedrca	5,47	5,91

Razlika v vsebnosti vode se je verjetno pojavljala, zaradi različne zrelosti plodov.

4.2 VSEBNOST SUHE SNOVI

4.2.1 Določanje z refraktometrom

Vzorec pripravili tako, da smo plodove olupili in mezokarpu dodali vodo v razmerju 1:1, ker vsebuje veliko suhe snovi. Vzorec mezokarpa smo zmleli in homogenizirali z homogenizatorjem. Na refraktometru smo odčitali vsebnost suhe snovi v %. Merjenje je prav tako potekalo v treh paralelkah in smo dobili naslednje rezultate:

Preglednica 11: Osnovni statistični parametri za vsebnost suhe snovi v svežem vzorcu, ki smo jo merili z refraktometrom

vzorec	vsebnost suhe snovi v svežem vzorcu (%)
1	51,0
2	51,1
3	51,2
povprečna vrednost s.s. (mg/100g)	51,1 ± 0,1
koeficient variabilnosti (%)	0,2

Z refraktometrom smo določili, da je povprečna vsebnost suhe snovi v mezokarpu navadnega koprivovca 51,1 %.

4.3 DOLOČANJE VSEBNOSTI MINERALOV

Minerale smo določali v mezokarpu in jedrcih navadnega koprivovca in rezultate podali kot vsebnost mineralov v mg na 100 g sušine, oziroma pri visokih vsebnostih mineralov v g na 100 g sušine. Določali smo jih z atomsko absorpcijsko spekroskopijo razen Na in K, ki pa sta bila določena s plamensko fotometrijo in P, ki je bil določen spektrofotometrično.

Preglednica 12: Vsebnost mineralov v jedrcih navadnega koprivovca (mg/100 g sušine) in osnovni statistični parametri (povprečje, standardna deviacija-sd, koeficient variabilnosti-KV)

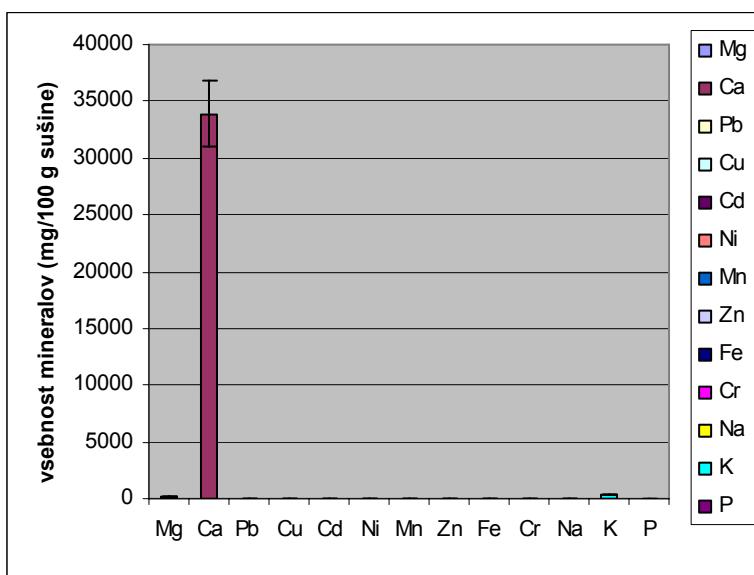
vzorec (jedrca)	Zn (mg/100 g sušine)	Fe (mg/100 g sušine)	Cr (mg/100 g sušine)	Na (mg/100 g sušine)	K (mg/100 g sušine)	P (mg/100 g sušine)
1	1,86	5,84	1,14	43,04	410,36	4,63
2	1,61	4,82	1,08	38,19	393,35	4,60
povprečje	1,73±0,18	5,33±0,71	1,11±0,04	40,62±3,43	401,86±12,03	4,61±0,02
KV (%)	10,42	13,43	3,79	8,44	2,99	0,44

vzorec (jedrca)	Mg (mg/100 g sušine)	Ca (g/100 g sušine)	Pb (mg/100 g sušine)	Cu (mg/100 g sušine)	Cd (mg/100 g sušine)	Ni (mg/100 g sušine)	Mn (mg/100 g sušine)
1	195,93	31,89	0,80	0,49	0,15	0,78	12,63
2	191,92	35,94	0,75	0,46	0,16	1,16	13,10
povprečje	193,92±2,8	33,92±2,86	0,78±0,04	0,47±0,02	0,16±0,003	0,97±0,26	12,87±0,33
KV (%)	1,46	8,44	4,89	4,11	1,96	27,25	2,56

Preglednica 13: Vsebnost mineralov v mezokarpu navadnega koprivovca (mg/100 g sušine) in osnovni statistični parametri (povprečje, standardna deviacija-sd, koeficient variabilnosti-KV)

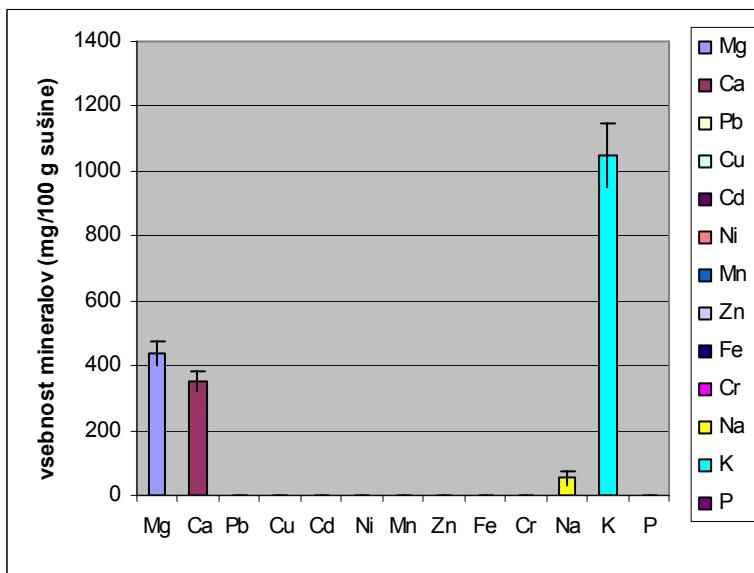
vzorec (mezokarp)	Zn (mg/100 g sušine)	Fe (mg/100 g sušine)	Cr (mg/100 g sušine)	Na (mg/100 g sušine)	K (g/100 g sušine)	P (mg/100 g sušine)
1	0,32	1,06	0,22	50,00	1159,00	2,31
2	0,34	1,05	0,22	72,75	974,30	2,07
3	0,59	0,76	0,22	34,72	1013,00	1,82
povprečje	0,42±0,15	0,96±0,17	0,22±0,004	52,49±19,14	1,05±0,97	2,07±0,25
KV (%)	36,03	17,65	2,00	36,46	9,29	12,01

vzorec (mezokarp)	Mg (mg/100 g sušine)	Ca (mg/100 g sušine)	Pb (mg/100 g sušine)	Cu (mg/100 g sušine)	Cd (mg/100 g sušine)	Ni (mg/100 g sušine)	Mn (mg/100 g sušine)
1	468,54	366,51	0,62	0,44	0,15	0,22	0,11
2	448,94	376,03	0,64	0,24	0,16	0,22	0,25
3	393,94	318,84	0,62	0,40	0,15	0,22	0,24
povprečje	437,14±38,67	353,79±30,64	0,62±0,01	0,36±0,11	0,16±0,003	0,22±0,004	0,20±0,08
KV (%)	8,85	8,66	1,93	30,00	1,93	1,94	38,36



Slika 13: Vsebnosti mineralov v jedrcih navadnega koprivovca

S slike 13 je razvidno, da imajo jedrca navadnega koprivovca izjemno visoko vsebnost Ca (33,92 g/100g sušine), ki je bistveno višja od ostalih mineralov.



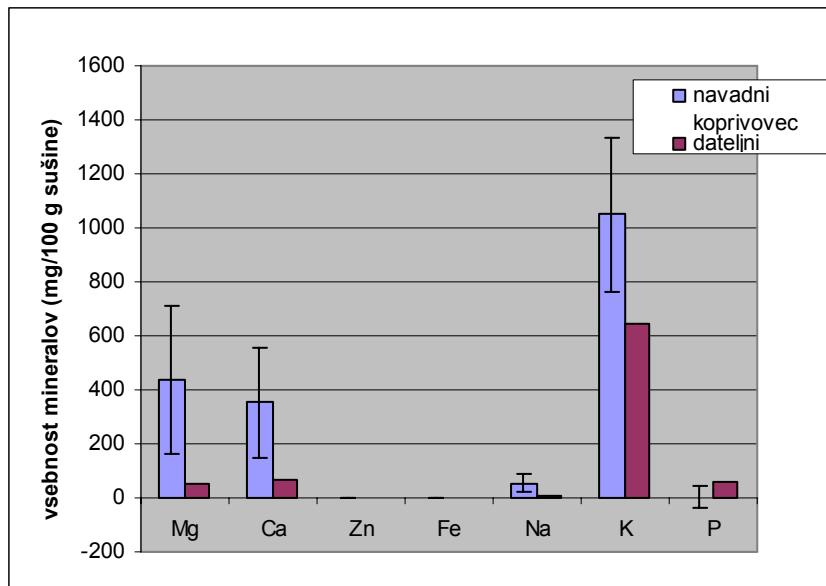
Slika 14: Vsebnosti mineralov v mezokarpu ploda navadnega koprivovca

S slike 14 je razvidno da je v mezokarpu navadnega koprivovca največ K (1,05 g/100 g sušine), ki mu sledijo Mg (437 mg/100 g sušine), Ca (354 mg/100 g sušine) in Na (53 mg/100 g sušine).

Če primerjamo vsebnost mineralov v mezokarpu navadnega koprivovca z vsebnostjo mineralov v mezokarpu dateljnov, ki so po teksturi zelo podobni plodovom navadnega koprivovca, vidimo, da ima mezokarp navadnega koprivovca znatno višjo količino K, Mg, Ca, Na, medtem, ko pa ima nekoliko nižjo količino Fe in P.

Preglednica 14: Primerjava vsebnosti mineralov v mezokarpu navadnega koprivovca z vsebnostjo mineralov v mezokarpu dateljnov (mg/100 g sušine)

	Ca	Fe	Mg	P	K	Na	Zn
navadni koprivovec	353,79	0,96	437,14	2,31	1048,77	50,00	0,42
dateljni	65,00	1,90	50,00	60,00	648	5,00	0,34



Slika 15: Primerjava vsebnosti mineralov v navadnem koprivovcu z vsebnostjo mineralov v dateljnih

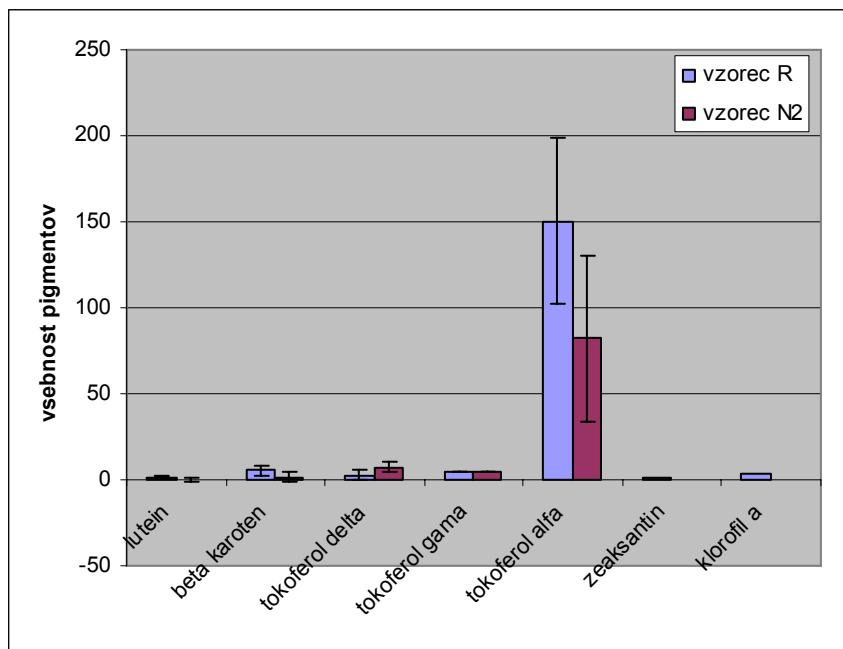
4.4 DOLOČANJE VSEBNOSTI RASTLINSKIH PIGMENTOV

Plodove navadnega koprivovca smo olupili in mezokarp razdelili na dva dela. Prvi vzorec mezokarpa smo zmleli s pomočjo tekočega dušika, drugega pa smo homogenizirali z ultraturraxom. Pri obeh vzorcih smo imeli kvečjemu tri ponovitve. Prvi vzorec smo označili, kot vzorec N2 in drugega, kot vzorec R.

Preglednica 15: Vsebnosti pigmentov pri določenem volumnu vzorca, izražene kot µg/g sušine in osnovni statistični parametri (povprečje, standardna deviacija-sd, koeficient variabilnosti-KV)

pigment/št. vzorcev	vzorec N2 µg/g sušine	vzorec R µg/g sušine
Lutein		
1	0,3480	1,4078
2	0,3475	1,4410
3	0,3978	
povprečje	0,36+0,03	1,42+0,02
KV (%)	7,93	1,65
β-caroten		
1	2,0051	6,1548
2	1,5526	5,0033
3	1,5854	
povprečje	1,71+0,25	5,58+0,81
KV (%)	14,72	14,59
tokoferol delta (δ)	7,2650	2,7967
tokoferol gama (γ)	4,9077	4,9431
tokoferol alfa (α)	82,0039	150,1260
Zeaksantin		
1		0,7692
2		0,7180
povprečje	/	0,74+0,04
KV (%)		4,87
Klorofil a		3,7103

Iz preglednice 15 je razvidno, da plod navadnega koprivovca vsebuje največ α-tokoferola. Vzorec R (kjer za homogenizacijo vzorca nismo uporabljali tekočega dušika) vsebuje 150,13 µg/g sušine α-tokoferola, vzorec N2 (kjer smo za homogenizacijo vzorca uporabili tekoči dušik) pa 82 µg/g sušine α-tokoferola.



Slika 16: Vsebnost pigmentov v vzorcu N2 in vzorcu R

Boljšo homogenizacijo smo dosegli z ultra-turraxom, saj so bile vsebnosti vseh pigmentov višje kot pri vzorcu, ki je bil homogeniziran z tekočim dušikom.

4.5 VSEBNOST SKUPNIH MAŠČOB

Vsebnost maščob v vzorcih jedrc smo določili z ekstrakcijo po Soxhletu, kjer smo kot topilo uporabili petroleter. Vsebnost maščob v jedrcih smo izrazili na suh vzorec, kar zmanjšuje napako zaradi sprememb vsebnosti vlage v jedrcih kot posledico izpostavljanja vzorcev različno vlažnim okoljem. Merjenje je potekalo v treh paralelkah. Povprečna vsebnost maščob v jedrcih navadnega koprivovca znaša 6,7 %.

Preglednica 16: Vsebnost maščob (%) v zračno suhih jedrcih navadnega koprivovca

vzorec	vsebnost maščob (%)
1	6,97
2	5,67
3	7,33
povprečje maščob	6,66\pm0,87
KV (%)	13,12

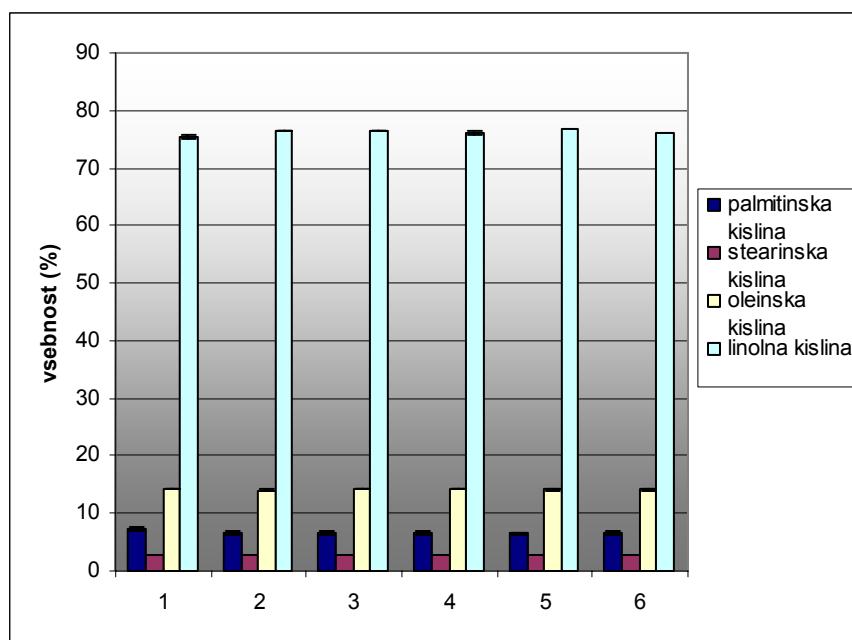
4.6 VSEBNOST MAŠČOBNIH KISLIN

Meritve so potekale v šestih paralelkah s tremi ponovitvami.

Preglednica 17: Rezultati maščobnikislinske sestave jedrc navadnega koprivovca v šestih vzorcih

vzorec	palmitinska kislina C16:0 (%)	stearinska kislina C18:0 (%)	oleinska kislina C18:1 (%)	linolna kislina C18:2 (%)
1	7,35	2,86	14,23	75,55
2	6,74	2,85	14,00	76,42
3	6,47	2,76	14,27	76,50
4	6,70	2,80	14,30	76,20
5	6,45	2,79	14,13	76,63
6	6,65	2,79	14,14	76,42
povprečje deleža MK (%)	$6,74 \pm 0,33$	$2,81 \pm 0,04$	$14,19 \pm 0,12$	$76,25 \pm 0,39$
koeficient variabilnosti (%)	4,83	1,34	0,77	0,5

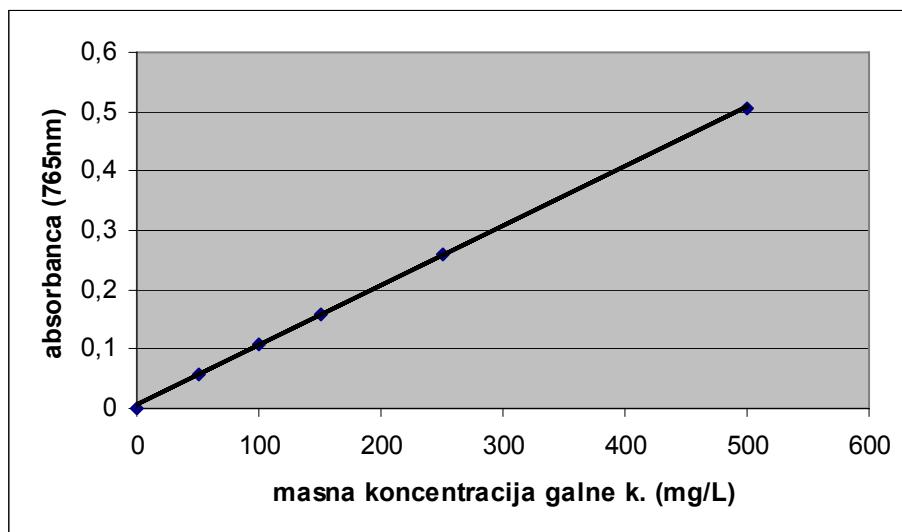
Iz preglednice 17 je razvidno, da jedrca navadnega koprivovca vsebujejo največ linolne kislino (76,25 %), ki je zelo pomembna maščobna kislina. Glede na ta podatek, lahko uvrščamo maščobo iz jedrc navadnega koprivovca v skupino maščob z največjim deležem linolne maščobne kislino. Sledijo ji oleinska (14,19 %), palmitinska (6,74 %) in stearinska kislina (2,81 %). Njihova vsebnost je tudi prikazana na grafu (slika 16).



Slika 17: Prikaz maščobnikislinske sestave v šestih vzorcih jedrc navadnega koprivovca

4.7 DOLOČANJE SKUPNIH FENOLOV

4.7.1 Fenolne spojine smo iz mezokarpa navadnega koprivovca ekstrahirali z etanolom. V ekstraktih smo nato spektrofotometrično določili vsebnosti fenolnih spojin. Po opisani metodi Singletona in Rossija smo izdelali umeritveno krivuljo (slika 17).



Slika 18: Umeritvena krivulja za določanje skupnih fenolov po Singletonu in Rossiju (odvisnost absorbance ($\lambda=765$ nm) od masne koncentracije galne kisline (mg/L))

Enačba premice:

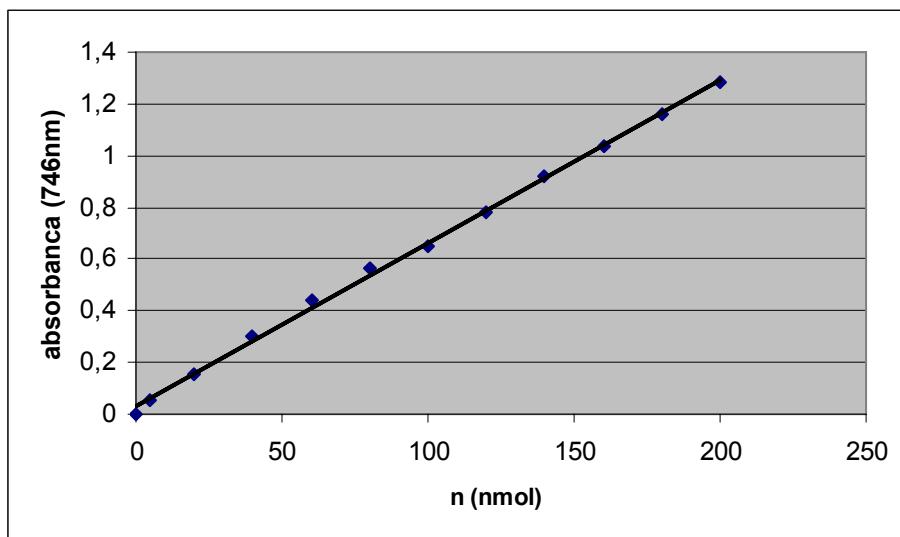
$$y = 0,001x + 0,0057 \\ R^2 = 0,9996$$

Iz enačbe premice smo izračunali koncentracijo skupnih fenolnih snovi izraženo kot mg galne kisline na L vzorca. Vsebnost fenolnih spojin smo še izrazili v mmol galne kisline na g sušine in dobili v povprečju 0,283 mmol GL/g sveže mase plodov, fenolnih spojin.

Preglednica 18: Vsebnost fenolnih spojin po Singletonu in Rossiju v navadnem koprivovcu in izračun povprečja, standardne deviacije (sd) ter koeficiente variabilnosti (KV)

A	C (mg/L)	vsebnost (mmol GL/g)
0,456	674,1	0,264
0,491	737,1	0,288
0,48	758,1	0,297
povprečje	723,10 ± 71,59	0,283 ± 0,017
KV (%)	3,80	6,045

4.7.2 Koncentracijo skupnih fenolov smo določali spektrofotometrično po metodi, ki temelji na oksidaciji s Folin-Ciocalteujevim reagentom. Po opisani metodi Waterman in Mole smo izdelali umeritveno krivuljo (slika 19). Iz preglednice 19 je vidno, da imajo plodovi, ki so bili hranjeni v zamrzovalniku več fenolnih spojin, kot plodovi, ki so bili hranjeni od samega začetka v hladilniku. Plodovi so bili hranjeni cc. 4 mesece tako v hladilniku, kot v zamrzovalniku.



Slika 19: Umeritvena krivulja za določanje skupnih fenolnih snovi po metodi Waterman in Mole

Enačba premice:

$$y = 0,0063x + 0,0317 \\ R^2 = 0,9983$$

Iz enačbe premice smo izračunali vsebnost skupnih fenolnih snovi izraženo kot mmol klorogenske kislino na g sveže mase navadnega koprivovca. Skupne fenole smo v vseh vzorcih izmerili v treh ponovitvah in izračunali povprečje. Ker smo vzorec ekstrahirali 4 dni in vsak dan določili vsebnost skupnih fenolov izraženih s klorogensko kislino, smo sešteli vse izračunane vsebnosti fenolnih spojin in določili skupno vrednost fenolov v svežem mezokarpu navadnega koprivovca (preglednica 19).

Preglednica 19: Vsebnost fenolnih spojin po Waterman-Mole v navadnem koprivovcu, izražena v mmol klorogenske kisline na g sveže mase plodov navadnega koprivovca

dnevi	A vsebnost (mmol KG/g)	B vsebnost (mmol KG/g)
1	0,1524	0,3045
2	0,0334	0,1673
3	0,0248	0,0727
4	0,0211	0,0441
Vsota	0, 2318	0,5885

Legenda: A- vzorci iz hladilnika, B- vzorci iz zamrzovalnika

Plodovi navadnega koprivovca, ki so bili hranjeni v zamrzovalniku pri -20°C 0,5885 mmol KG/g sveže mase vzorca, plodovi hranjeni v hladilniku pri 4°C pa 0,2318 mmol KG/g sveže mase vzorca.

4.8 DOLOČANJE VLAKNIN

Vsebnost vlaknin v vzorcu smo določali po metodi Scharrer-Kürschner, tako za sveže vzorce kot zračno suhe vzorce. Določanje vlaknin v mezokarpu navadnega koprivovca smo opravili v treh ponovitvah.

Preglednica 20: Primerjava vsebnosti vlaknin v svežem in suhem vzorcu

vzorec	vlaknine v suhem vzorcu (%)	vlaknine v svežem vzorcu (%)
1	13,16	7,88
2	14,31	8,51
3	12,71	6,85
povprečna vrednost vlaknin (mg/100g)	$13,39 \pm 0,83$	$7,75 \pm 0,84$
KV (%)	6,16	10,82

Če rezultat primerjamo s preglednico 2, vsebuje mezokarp navadnega koprivovca 13,4 % vlaknin, medtem ko vsebujejo ostali sadeži bistveno nižjo količino vlaknin. Dateljni imajo 8,7 % vlaknin.

4.9 DOLOČANJE VSEBNOSTI PROTEINOV

Vsebnost beljakovin smo določali po Kjeldahlu v mezokarpu navadnega koprivovca, v treh ponovitvah. Povprečna vrednost vsebnosti beljakovin je 4,9 % v navadnem koprivovcu (preglednica 21), medtem ko je vsebnost beljakovin v dateljnih 2,0 % (preglednica 2).

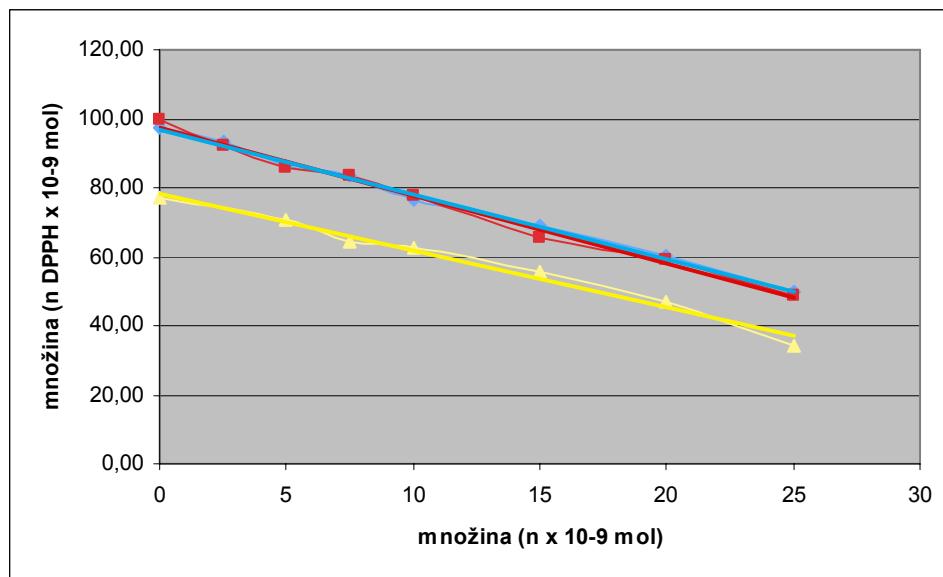
Preglednica 21: Vsebnost beljakovin v plodovih navadnega koprivovca

vzorec	vsebnost proteinov v vzorcu (%)
1	5,00
2	4,79
3	4,91
povprečna vrednost proteinov (mg/100g)	4,90 ± 0,11
KV (%)	2,15

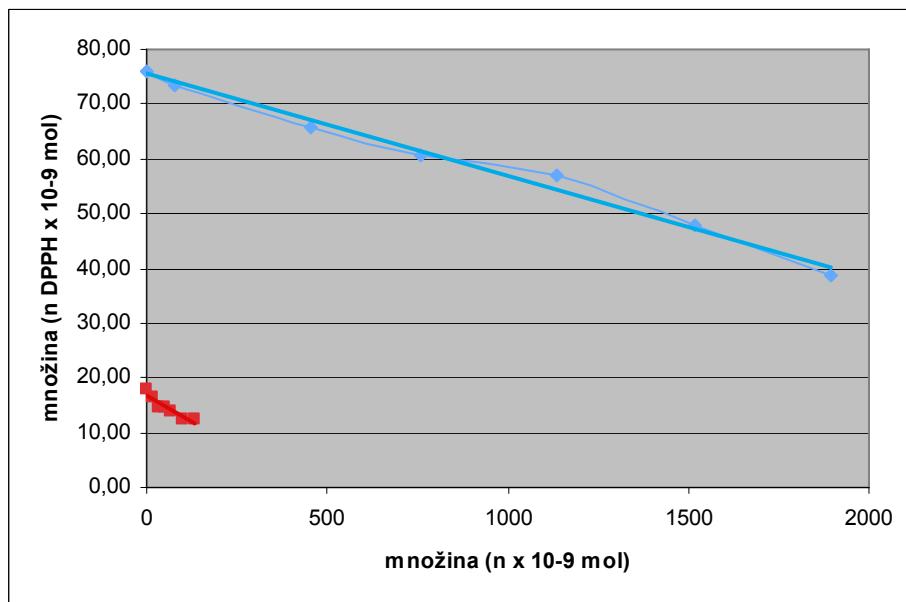
4.10 ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST

Pripravili smo umeritvene krivulje izbranih antioksidantov s prostim radikalom DPPH[•] ter preverili ustreznost reagentov za nadalnje določanje vsebnosti polarnih in nepolarnih antioksidantov.

Na grafu (slika 20) je podana množina porabljenega DPPH[•] v kivetih v odvisnosti od množine dodane askorbinske kisline, α-tokoferola, klorogenske kisline ter na grafu (slika 21) dehidroaskorbinske kisline in glutationa. Absolutna vrednost naklona premic nam poda število molov DPPH[•], ki oksidira mol antioksidanta. Mol askorbinske kisline reducira 1,85 mola DPPH[•], mol α-tokoferola 1,65 mol DPPH[•] in mol klorogenske kisline 1,92 mola DPPH[•]. Antioksidativno učinkovitost v sistemu z DPPH[•] smo določali tudi za dehidroaskorbinsko kislino (DHA) in glutation (GSH). Slednja praktično ne reducirata DPPH[•], saj smo določili, da je molarno razmerje med porabljenim DPPH[•] in dehidroaskorbinsko kislino le 0,0192, glutation pa 0,0393. To pomeni, da DHA in GSH reagirata z DPPH[•] približno 100x slabše kot askorbinska kislina oz. klorogenska kislina (preglednica 22). Zaradi zanemarljive reaktivnosti DHA ter GSH se je test z reagentom DPPH[•] izkazal kot primeren za spremljanje stabilnosti klorogenske kisline v kompleksnih mešanicah antioksidantov.



Slika 20: Odvisnost množine porabljenega DPPH[•] od množine askorbinske kisline (◆), α -tokoferola (▲) in klorogenske kisline (■) v reakcijski zmesi

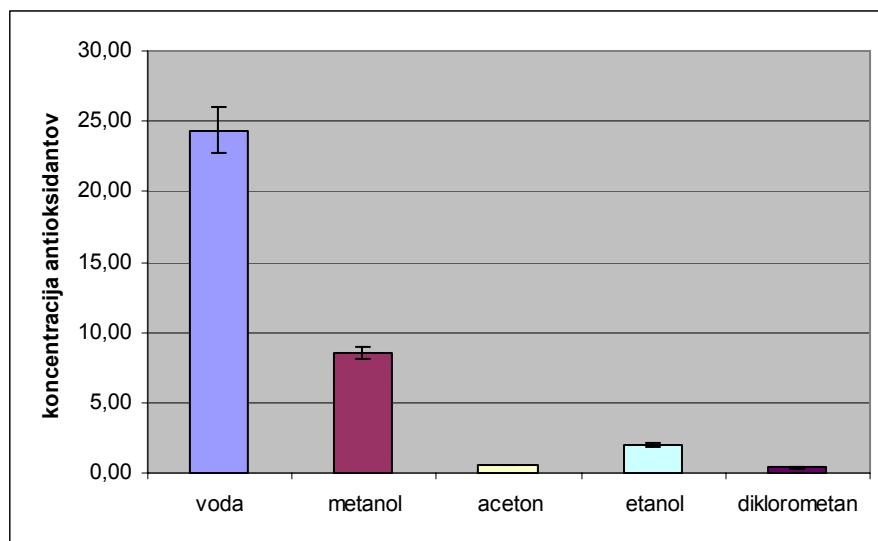


Slika 21: Odvisnost množine porabljenega DPPH[•] od množine dehidroaskorbinske kisline (◆) in glutationa (■) v reakcijski zmesi

Preglednica 22: Množinsko razmerje med DPPH[•] in nekaterimi antioksidanti

POLARNI	razmerje DPPH [•] /antioksidant (mol/mol)
askorbinska kislina ($C_6H_8O_6$)	1,85
dehidroaskorbinska kislina ($C_6H_6O_7$)	0,0192
klorogenska kislina ($C_{16}H_{18}O_9$)	1,92
glutation ($C_{10}H_{17}N_3O_6S$)	0,0393
NEPOLARNI	
α -tokoferol ($C_{29}H_{50}O_2$)	1,65

Vzorec smo ekstrahirali z različnimi topili in sicer: voda, metanol, aceton, etanol in diklorometan. Po ekstrakciji in centrifugiraju, smo označili volumen dobljenega supernatanta in določali učinkovitost antioksidantov v polarnih in nepolarnih topilih (slika 22).



Slika 22: Vpliv različnih topil na ekstrakcijo antioksidantov. Pri polarnih topilih (voda, metanol, aceton) smo rezultate izrazili s klorogensko kislino (mg/g vzorca), pri nepolarnih topilih (etanol, diklorometan) pa smo rezultate izrazili z α -tokoferolom (mg/g vzorca)

Iz razlik absorbanc povprečij treh meritev za referenčno raztopino in vzorcev smo izračunali množino reduciranega DPPH[•].

Primer izračuna, kjer smo uporabljali vodo kot topilo:

$$\Delta A = 0,852 - 0,441 = 0,411$$

Iz znanega povprečnega klorogenskega koeficiente DPPH[•] in razlike absorbanc smo izračunali množino reduciranega DPPH[•], ki je enaka množini nastalega DPPH₂.

$$n_{DPPH} = (0,411/12000 \text{ L}^{-1} \times \text{mol}^{-1} \times \text{L}) \times 0,00125 = 42,8 \times 10^{-9} \text{ mol}$$

Ker vemo kakšno je razmerje med moli reduciranega DPPH[•] in oksidirano klorogensko kislino (preglednica 22), lahko izrazimo antioksidante v testirani raztopini kot ekvivalente klorogenske kisline.

$$n_{klorog.k v kiveti} = 42,8 \times 10^{-9} \text{ mol} / 1,92 = 22,3 \times 10^{-9} \text{ mol klorogenske kisline}$$

Iz znanih razredčitev (upoštevamo, da je gostota vseh raztopin in suspenzij približno 1,0 g/mL) lahko izrazimo ekvivalentno maso klorogenske kisline na g vzorca.

Razredčitve vzorcev smo upoštevali v nadalnjih izračunih. Za vzorec je tako vsebnost klorogenske kisline na g vzorca:

$$n_{klorog.k v vzorcu} / \text{g vzorca} = 22,3 \times 10^{-9} \text{ mol} \times (180/30) \times (4860/100) = 6,87 \times 10^{-5} \text{ mol/g}$$

$$m_{klorog.k v vzorcu} / m_{vzorcu} = 6,87 \times 10^{-5} \text{ mol} \times 354,3 \text{ g/mol} \times 1000 = 24,33 \text{ mg/g}$$

Preglednica 23: Vsebnost klorogenske kisline in α -tokoferola v vzorcih, ki so bili ekstrahirani z različnimi topili

	voda (mg/g)	metanol (mg/g)	aceton (mg/g)	etanol (mg/g)	diklorometan (mg/g)
klorogenska kislina	24,33	8,51	0,55		
α tokoferol				2,00	0,38

4.11 DOLOČANJE VSEBNOSTI SLADKORJEV

Porabljeni volumni NaS₂O₃ pri titraciji služijo za odčitek odgovarjajoče količine reducirane sladkorje ter z upoštevanjem uporabljenih razredčitve lahko izračunamo odgovarjajočo količino reducirajočih sladkorjev v g/L v vzorcu. Količino saharoze se izračuna tako, da se od skupne količine reducirajočih sladkorjev po inverziji, odšteje količina reducirajočih sladkorjev pred inverzijo in pomnoži z 0,95.

Preglednica 24: Vsebnost reducirajočih sladkorjev

vzorec	reducirajoči sladkorji (g/100 g sušine)
1	18,5
2	18,6
povprečna vrednost	18,55 ± 0,07

Vsebnost nereducirajočih sladkorjev pa znaša 1,755g/100 g sušine.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Plodovi drevesa navadnega koprivovca (*Celtis australis*) so po okusu podobni dateljem, vendar imajo glede na velikost plodu izjemno veliko jedrce. Plodovi, ki smo jih uporabljali v raziskovalni nalogi so bili obrani oktobra 2004 v Istri. Nas je zanimala predvsem fizikalno-kemijska ter prehranska vrednost tega zanimivega in pri nas slabo znanega sadeža.

Opravili smo vrsto raziskav, ki so zajemale določanje vsebosti vode, suhe snovi, mineralov, vitaminov, fenolnih spojin, vlaknin, maščob, maščonih kislín, beljakovin, sladkorjev ter določanje antioksidativne učinkovitosti.

S stališča medicine je že dokazano, da so sadeži astringentni, lenitivi in stomahiki. Zreli in nezreli sadeži se smatrajo za medicinsko zelo pomembne surovine (Chevallier, 1996). Izvlečki iz listov in sadežev služijo za zdravljenje amenoreje, močnih menstrualnih ciklusov in notranjih menstrualnih krvavitev ter kolikov (Chopra, Nayar in Chopra, 1986), (Duke in Ayensu, 1985). Prav tako služijo kot sredstvo za krčenje sluznične membrane pri diareji, griži in peptičnih razjedah (Anonymous, 2001), (Chevallier, 1996).

Eksperimentalno smo ugotovili, da v povprečju mezokarp plodov navadnega koprivovca vsebuje $36,6 \% \pm 1,4 \%$ in jedrca $18,1 \% \pm 1,0 \%$ vode (preglednica 10). Do razlik v vsebnosti vode prihaja verjetno zaradi različne dozorelosti plodov.

Prav tako smo ugotovili, da sadeži navadnega koprivovca vsebujejo $(51,1 \pm 0,1) \%$ suhe snovi (preglednica 11), $(6,7 \pm 0,9) \%$ maščob (preglednica 16), $(13,4 \pm 0,8) \%$ vlaknin (preglednica 20), $(4,9 \pm 0,1) \%$ beljakovin (preglednica 21) ter $(18,6 \pm 0,07) \%$ reducirajočih sladkorjev (preglednica 25).

V nalogi smo fenolne spojine določali kar z dvema metodama in sicer z metodo po Singletonu in Rossiju ter metodo po Waterman in Mole-u. Pri prvi metodi smo absorbanco obarvanega reakcijskega produkta izmerili pri valovni dolžini 765 nm. Masno koncentracijo skupnih fenolnih spojin smo izračunali iz umeritvene krivulje in rezultat izrazili v mg galne kislino na liter. Galno kislino smo uporabili kot standardno referenčno spojino za določanje skupnih fenolnih spojin (Singleton in Rossi, 1965). Izračunali smo, da plodovi navadnega koprivovca vsebujejo 723,1 mg galne kislino/liter ekstrahiranega vzorca navadnega koprivovca (preglednica 18).

Pri drugi metodi smo absorbanco obarvane raztopine merili pri valovni dolžini 746 nm. Za izvedbo umeritvene krivulje smo uporabili raztopino klorogenske kislino. Vse spektrofotometrične meritve smo opravili na spektrofotometru Hewlett-Packard, model HP-8453 (Waterman in Mole, 1994). Izračunali smo, da plodovi navadnega koprivovca ki so bili zamrznjeni, vsebujejo 0,5885 mmol KG/g sveže mase plodov, plodovi, ki pa so bili enak čas shranjeni v hladilniku pa 0,2318 mmol KG/g sveže mase plodov navadnega koprivovca, fenolnih snovi izraženih s klorogensko kislino (preglednica 19).

Rezultate obeh metod smo skušali primerjati, zato smo v prvem primeru spremenili rezultat, ki je bil podan v mg galne kisline/l vzorca v mmol galne kisline/g svežega vzorca in dobili, da plodovi navadnega koprivovca vsebujejo 0,283 mmol GL /g sveže mase plodov.

Maščobne kisline v jedrcih navadnega koprivovca smo določili po načinu opisanem v Materialih in metodah. Poskus smo izvedli v šestih paralelkah, vzorec vsake paralelke pa je bil trikrat injiciran (ponovitev) v plinski kromatograf. Jedrca navadnega koprivovca vsebujejo naslednje maščobne kisline: linolna 76,25 %, oleinska 14,19 %, palmitinska 6,74 % in stearinska maščobna kislina 2,81 %. Ugotovili smo, da jedrca navadnega koprivovca vsebujejo izredno visok delež linolne maščobne kisline (preglednica 17).

V vzorcih smo določali naslednje minerale: Mg, Ca, Pb, Cu, Cd, Ni, Mn, Zn, Fe, Cr, Na, K ter P in ugotovili, da jedrca navadnega koprivovca vsebujejo največ Ca 33,92 g/100 g sušine (slika 13), mesnatih del navadnega koprivovca pa vsebuje največ K 1048,76 mg/100 g sušine, ki mu sledijo Mg 437 mg/100 g sušine, Ca 354 mg/100 g sušine in Na 53 mg/100 g sušine (slika 14).

Za določevanje antioksidativne aktivnosti smo uporabili test, ki temelji na redukciji prostega radikala DPPH[•] (Brand-Williams in sod., 1995). Z DPPH[•] lahko določamo tako polarne kot nepolarne antioksidante. Izbrali smo antioksidante kot so askorbinska kislina, dehidroaskorbinska kislina, klorogenska kislina, α -tokoferol in glutation ter določili molsko razmerje pri reakciji med DPPH[•] in ustreznim antioksidantom. Ker pa smo z predhodno analizo kromatografsko določili, da plod navadnega koprivovca ne vsebuje C vitamina, smo antioksidante podajali kot ekvivalente klorogenske kisline in α -tokoferola. Molsko razmerje za klorogensko kislino je 1,92; α -tokoferola 1,65; dehidroaskorbinska kislina in glutation pa praktično ne reagirata z DPPH[•] (preglednica 22). V diplomski nalogi so opisani postopki homogenizacije, ekstrakcije in samih meritev, ki omogočajo hitro in enostavno določitev vsebnosti klorogenske kisline in α -tokoferola v vzorcih.

5.2 SKLEPI

Na osnovi opravljenega dela lahko povzamemo naslednje sklepe:

- Plod navadnega koprivovca vsebuje 51,1 % suhe snovi,
- 13,4 % prehransko pomembnih vlaknin,
- 4,9 % beljakovin,
- 18,6 % reducirajočih sladkorjev in
- 6,7 % maščob.
- Jedrca navadnega koprivovca vsebujejo velik delež n-6 maščobnih kislin (linolna kislina) 76,25 %. Prisotnost te kisline ni v skladu s sodobnimi prehranskimi priporočili glede razmerja vnosa maščobnih kislin v organizem, ki naj bi bilo v prid večjim količinam n-3 maščobnih kislin.
- Zaradi izjemno visoke vsebnosti linolne kisline, lahko uvrščamo maščobo v jedrcih navadnega koprivovca v skupino maščob, ki vsebujejo največje količine linolne maščobne kisline.
- Plodovi navadnega koprivovca ne vsebujejo vitamina C, vsebujejo pa vitamin E, lutein, zeaksantin, karoten in klorofil. Največ je α -tokoferola, ki ima aktivnost vitamina E in ščiti nenasiciene maščobe pred oksidacijo.
- Mezokarp navadnega koprivovca vsebuje največ kalija (1048,76 mg/100 g sušine).
- Skupna količina fenolnih spojin v plodovih navadnega koprivovca je znašala 0,264 mmol galne kisline/g svežega vzorca, oz. 0,5885 mmol KG/g zamrznjenega vzorca, v plodovih, ki so bili enak čas shranjeni v hladilniku pa 0,2318 mmol KG/g svežega vzorca, fenolnih snovi.
- V plodovih navadnega koprivovca je največji delež polarnih antioksidantov.
- Plodovi navadnega koprivovca so v primerjavi z dateljni izredno bogat vir mineralov, vlaknin in proteinov.
- Mezokarp navadnega koprivovca uporablja za pripravo likerja.
- Jedrca navadnega koprivovca uporablja za pripravo posebnega olja.

6 POVZETEK

Navadni koprivovec je drevo (*Celtis australis*), ki spada v družino *Ulmaceae*. Vse vrste *Celtis* so izredno cenjene po kvaliteti lesa in kot dekorativna drevesa. Pri nas ga najdemo na območju vsega alpskega udora in v njegovi okolici, podobno tudi na toplih mestih vzdolž pečin po vsem Kraškem robu. Ima svetlozelene brstične liste, katera imajo pogosto tri vidne vene, ki rastejo iz steba, na katerih so kot grah veliki sadeži, vijolično-črne barve. Skorja je ponavadi prekrita z majhnimi izboklinami. Pogosto ga sadijo v drevoredi in doseže višino 12-30 m.

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti prehransko in fizikalno-kemijsko vrednost plodov navadnega koprivovca, ki je dokaj neznana in premalo raziskana vrsta, kljub svoji razširjenosti po Sloveniji.

Opravili smo vrsto raziskav, ki so zajemale določanje vsebosti vode, suhe snovi, mineralov (Mg, Ca, Pb, Cu, Cd, Ni, Mn, Zn, Fe, Cr, Na, K in P), vitaminov, fenolnih spojin, vlaknin, maščob, maščobnih kislin, beljakovin, sladkorjev ter določanje antioksidativne učinkovitosti.

Eksperimentalno smo ugotovili, da v povprečju meso plodov navadnega koprivovca vsebuje $36,6\% \pm 1,4\%$ in jedrca $18,1\% \pm 1,0\%$ vode (preglednica 10). Do razlik v vsebnosti vode prihaja verjetno zaradi različne dozorelosti plodov. Prav tako smo ugotovili, da sadeži navadnega koprivovca vsebujejo $(51,1 \pm 0,1)\%$ suhe snovi (preglednica 11), $(6,7 \pm 0,9)\%$ maščob (preglednica 16), $(13,4 \pm 0,8)\%$ vlaknin (preglednica 20), $(4,9 \pm 0,1)\%$ beljakovin (preglednica 21) ter $(18,6 \pm 0,07)\%$ reducirajočih sladkorjev (preglednica 25).

Plodovi navadnega koprivovca imajo v primerjavi z dateljni večji delež vlaknin, mineralov in proteinov.

VIRI

- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmacevtski vestnik, 48: 573-589
- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20.Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32
- Aminokisline. 2004. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. (november 2004) http://www.farmadrustvo.si/gradivo_p/Biokemija/predavanja/Aminokisline.doc (oktober 2005): 1 str.
- Altschul R., Hoffer A., Stephen J.D. 1955. Influence of nicotinic acid on serum cholesterol in man. Archives of Biochemistry and Biophysics, 54: 558-559. Cit. po: Kač M. 2001. Vitamini – nekatere kemijsko in živilsko zanimive opombe. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 79-88
- Benček M. 2004. Vlaknine v prehrani. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. (december 2004) <http://www.virtuni.net> (7.nov. 2005): 7str.
- Bendich A. 1991. Beta-carotene and immune response. Proceedings of the Nutrition Society, 50:263-274. Cit. po: Kač M. 2001. Vitamini – nekatere kemijsko in živilsko zanimive opombe. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 79-88
- Biesalski, H. K. 1997. Vitamin A und Retinoide. V: Vitamine. Physiologie. Pathophysiologie, Therapie. Biesalski H.K., Schrezenmeir J., Weber K., Weiß H. (eds.). Stuttgart, Thieme Verlag: 3-33
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie/Food Science and Technology, 28: 25-30
- Brus R. 1998. Spoznajmo drevesa: Navadni koprivovec. Gea, 6, 6: 38-39
- Celtis australis*. 2006. European hackberry (*Celtis australis*) from Thomé, Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz (1885) (February 2006) <http://en.wikipedia.org/wiki/Hackberry> (February 2006): 1 str.
- Chevallier A. 1996. The encyclopedia of medical plants. London, Dorling Kindersley. Cit. po: Demir F., Dogan H., Ozcan M., Haciseferogullari H. 2002. Nutritional and physical properties of hackberry (*Celtis australis* L). Journal of Food Engineering, 54, 241-247

- Cigič B. 2001. Bioaktivni peptidi v prehrani. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 109-119
- Chopra R. N., Nayar S. L., Chopra I.C. 1986. Glossary of Indian Medicinal Plants (Including the Supplement). Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi. Cit. po: Demir F., Dogan H., Ozcan M., Haciseferogullari H. 2002. Nutritional and physical properties of hackberry (*Celtis australis* L). Journal of Food Engineering, 54, 241-247
- Demir F., Dogan H., Ozcan M., Haciseferogullari H. 2002. Nutritional and physical properties of hackberry (*Celtis australis* L). Journal of Food Engineering, 54, 241-247
- Duke J. A., Ayensu E. S. 1985. Medicinal Plants of China Reference Publications. Cit. po: Demir F., Dogan H., Ozcan M., Haciseferogullari H. 2002. Nutritional and physical properties of hackberry (*Celtis australis* L). Journal of Food Engineering, 54, 241-247
- Elmadfa I. 2004. Ernährungslehre. Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co: 121-123
- Flagg E.W., Cates R.J., Greenberg R.S. 1995. Epidemiologic studies of antioxidants and cancer in humans. Journal of the American College of Nutrition, 14: 419-427
- Garces R., Mancha M. 1993. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. Analytical Biochemistry, 211: 139-143
- Gilman E.F., Watson D.G. 1993. Mediterranean hackberry (*Celtis australis*). Fact Sheet ST-137, a series of the Environmental Horticulture Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainesville, University of Florida: <http://edis.ifas.ufl.edu/ST137> 3 str.
- Grlič L. 1986. Enciklopedija samoniklog jestivog bilja. Zagreb, ITRO August Cesarec, OOUR Izdavačka djelatnost: 86-86
- Hodnik A. 1988. Kemične analize talnih vzorcev, rastlinskih vzorcev in odcednih vod. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 81-86
- Jolles P., Levy-Toledano S., Fiat A.M., Soria C., Gillessen D., Thomaidis A., Dunn F.W., Caen J.B. 1986. Analogy between fibrinogen and casein. European Journal of Biological Chemistry, 158: 379-384
- Jovanovič S.V., Simic M.G., Steenken S., Yuhikiko H. 1997. Antioxidant properties of flavonoids: reduction potencials and electron transfer reactions of flavonoid radicals. V: Flavonoids in health and disease. Rice-Evans C.A., Parker L. (eds.). New York, Marcel Dekker: 137-161

Jukopila A. 1998. Ladonja. Istarska danica. Pazin, 1999 : 190-191

Kač M. 2001. Vitamini – nekatere kemijsko in živilsko zanimive opombe. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 79-88

Kays S. J. 1991. Postharvest physiology of perishable plant products. New York, Van Nostrand Reinhold: 126-532

Klofutar C. 1992. Fizikalno kemijske lastnosti triacil glicerolov. V: Lipidi. 14. Bitenčevi živilski dnevi 92, Ljubljana, 4-5 junij 1992. Klofutar C., Žlender B., Hribar J., Plestenjak A. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-16

Klofutar C., Šmalc A., Rudan-Tasič D. 1998. Laboratorijske vaje iz kemije. 3. izd. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 268-270

Klorofil in betakaroten. 2001. Ljubljana, Slovenski kemijski portal. (november 2001) <http://www.fkkt.org/molekula/klorofil.asp> (oktober 2005): 1str.

Klorofili. 2006. Ljubljana, Gimnazija Vič (januar 2006) www.gimvic.org/projekti/timko/2003/2c/naravnabarvila/klorofili.htm (januar 2006): 1 str.

Kluthe B., Rippoldsau B. 2004. Prodi 5.0 Euro. Software fur Ernährungs und Diätberatung. Hausach, Nutri-Science GmbH: Software CD-ROM

Kopple J.D., Swendseid M.E. 1981. Effect of histidine intake on plasma and urine histidine levels, nitrogen balance and N tau-methylhistidine excretion in normal and chronically uremic men. Journal of the American College of Nutrition, 111: 931-942

Koren A. 1999. Presnova, termoregulacija, prebava. 1. izd. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 86-91

Košmerl T., Kač M. 2004. Osnovne kemijske analize mošta in vina. V: Laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 97-102

Krinsky N.I., Deneke S.M. 1982. Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids. Journal of the National Cancer Institute, 69: 205-210. Cit. po: Kač M. 2001. Vitamini – nekatere kemijsko in živilsko zanimive opombe. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 79-88

- Kulier I. 2006. Lutein-supliment za dobar vid. Koprivnica, Coolinarika (februar 2006)
http://www.coolinarika.net/zdravlje/nutricionizam/lutein_suplement_za_dobar_vid/doziranje_i_sporedni_ucinci/ (februar 2006): 1str.
- Laptoš T. 2004. Adstringenti. Ljubljana, Fakulteta za farmacijo. (november 2004)
http://www.farmadrustvo.si/gradivo_p/Farmacevtska%20kemija%20i/predavanja/fark1astringenti.doc (oktober 2005): 2str.
- Lee C.Y. 1992. Phenolic compounds. V: Encyclopedia of food science and technology. Vol.3. Hui Y.H. (ed.). New York, John Wiley & Sons, Inc.: 2055-2061
- Lehninger A.L., Nelson D.L., Cox M.M. 1993. Principles of biochemistry. 2nd ed. New York, Worth Publishers: 117, 134-135, 198-198
- Marić V. 1996. Izbor, priprava in shranjevanje industrijskih biokultur. V: Biotehnologija: osnovna znanja. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 643-644
- Matissek R., Scnepel F.M., Steiner G. 1989. Lebensmittel-Analytik. Stuttgart, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg: 126-131
- Meisel H. 1998. Overview on milk derived peptides. International Dairy Journal, 8: 363-373
- Mellander O. 1950. The physiological importance of the casein phosphopeptide calcium salts. Acta Society Medicine Uppsala, 55:247-255. Cit. po: Cigič B. 2001. Bioaktivni peptidi v prehrani. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 109-119
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26, 2: 211-219.
- Nelson D.L., Cox M.M. 2005. Lehninger's principles of biochemistry. 4th ed. New York, Worth Publishers: 79-79
- Norman A.W., Bouillon R., Thomasset M. 1991. Vitamin D, gene regulation, structure function, Analogues and Clinical Application. New York, Water de Gruyter:1991 str. Cit. po: Kač M. 2001. Vitamini – nekatere kemijsko in živilsko zanimive opombe. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 79-88
- Paš M. 2001. Minerali v funkcionalnem prehranjevanju. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67-77

- Perkavac J., Veber M. 1982. Uvod v spektrometrijo. Delovno poročilo. Ljubljana, Kemijski inštitut Boris Kidrič: 1-6
- Plestenjak A., Golob T. 2000. Analiza kakovosti živil. 2.izd. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 102 str.
- Požar J. 2003. Hranoslovje-zdrava prehrana. Maribor, Založba Obzorja: 190 str.
- Referenčne vrednosti za vnos hrani. 2004. Ljubljana, Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 215 str.
- Salobir K. 2001. Prehransko fiziološka funkcionalnost maščob. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001, Ljubljana, 8-9 november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 121-135
- Sempore B.G., Bezard J.A. 1996. Analysis of neutral lipids: Fatty acids. V: Handbook of food analysis. Vol. 1. Nollet L.M.L. (ed). New York, Marcel Dekker: 331-395
- Smole-Možina S. 1996. Izbor, priprava in shranjevanje industrijskih biokultur. V: Biotehnologija: osnovna znanja. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 360-363
- Strack D. 1997. Phenolic metabolism. V: Plant biochemistry. Dey P. M., Harborne J.B. (eds.). San Diego, Academic Press: 387-416
- Ough C.S., Amerine M.A. 1988. Methods for analysis of musts and wines. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons, Inc.:196-221
- Tausz M., Wonisch A., Grill D., Morales D., Jimenez M.S. 2003. Measuring antioxidants in tree species in natural environment: From sampling to data evaluation. Jurnal of Experiment Botany, 54: 1505-1510
- Veber M. 2005. Atomska absorpcijska spektrometrija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemisko tehnologijo (juli 2005) <http://www.fkkt.uni-lj.si/si/?112> (november 2005): 1 str.
- Vitamin A. 2000. Ljubljana, Slovenski kemijski portal. (april 2000) <http://www.fkkt.org/molekula/vitamina.asp> (oktober 2005): 1str.
- Vitamin A. 2000. Fort Collins, Colorado State University (avgust 2000) http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/misc_topics/vitamina.gif (november 2005): 1str.
- Vitamin E. 2000. Ljubljana, Slovenski kemijski portal. (maj 2000) <http://www.fkkt.org/molekula/vitamine.asp> (oktober 2005): 1str.
- Vrhovšek U. 2001. Flavonoidi kot predstavniki antioksidantov. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 97-105

Zoecklein B.W., Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S. 1994. Wine analysis and production. New York, Chapman & Hall: 328-331

Waterman P.G., Mole S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Oxford, Blackwell Scientific Publications: 238 str.

ZAHVALA

Najlepše se zahvaljujem mentorju doc. dr. Rajku Vidrihu za izredno strokovno in tehnično pomoč pri izvedbi diplomskega dela.

Zahvaljujem se tudi somentorici prof. dr. Nataši Poklar Ulrih in recenzentki prof. dr. Veroniki Abram za strokovno pomoč ter vse koristne nasvete in pripombe.

Pri izvajanju praktičnega dela in za neprecenljivo pomoč hvala Mateji Vidmar univ.dipl.ing. s Katedre za kemijo, asistentki Sonji Čerpič s Katedre za tehnologije rastlinskih živil, Andreji Hodnik univ.dipl.ing. in Svetlani Gogič s Centra za pedologijo in varstvo okolja. Hvala Barbari Slemenik in Ivici Hočevan za nepopisno strpnost in izredno pomoč pri posredovanju literature ter navajanju virov.

Zahvaljujem se vsem sošolkam, sošolcem, prijateljem in sorodnikom, ki so mi kakorkoli pomagali pri nastanku diplomskega dela in tudi pri samem študiju.

Posebna hvala staršem, sestri, bratu in Daliborju, ki so me skozi vsa študijska leta spodbujali in podpirali.

Hvala vsem!

PRILOGE

Priloga A: DOLOČANJE VODE

Stehtali smo tehtiče in mezokarp ter jedrca plodov navadnega koprivovca. Mezokarp navadnega koprivovca smo zmleli s pomočjo tekočega dušika, da smo dobili homogen vzorec, jedrca pa s pomočjo mlinčka ISKRA.

vzorec	mezokarp (g) pred sušenjem	mezokarp (g) po sušenju	tehtič (g)	jedrca (g) pred sušenjem	jedrca (g) po sušenju	tehtič (g)
1	4,1804	2,6148	43,6078	5,1110	4,1481	27,1628
2	4,4953	2,8198	43,4702	4,9713	4,1082	20,1035
3	4,7502	3,0858	43,3798			

Priloga B: RAZKLOP PEPELA ZA DOLOČANJE MINERALOV

Stehtali smo tehtiče in mezokarp ter jedrca plodov navadnega koprivovca. Mezokarp navadnega koprivovca smo zmleli s pomočjo tekočega dušika, da smo dobili homogeniziran vzorec, jedrca pa s pomočjo mlinčka ISKRA.

vzorec	mezokarp (g) pred sušenjem	mezokarp (g) po sušenju (105 °C)	tehtič (g)	jedrca (g) pred sušenjem	jedrca (g) po sušenju (105 °C)	tehtič (g)
1	4,9528	2,7873	30,0361	5,1110	4,1481	27,1628
2	5,1240	2,8487	27,1735	4,9713	4,1082	20,1035
3	5,1159	2,6503	41,5725			

Priloga B1: DOLOČANJE VSEBNOSTI MINERALOV

MINERALI							
koncentracija mineralov (mg/L)							
oznaka vzorca	masa vzorca(g)	(%) sušine	Mg	Ca	Pb	Cu	Cd
PESKE 1	5,111	63,4127	63,5	10336	0,26	0,158	0,05
PESKE 2	4,9713	63,4127	60,5	11330	0,236	0,145	0,05
MESO 1	5,1159	63,4127	152	118,9	0,2	0,143	0,05
MESO 2	4,9528	63,4127	141	118,1	0,2	0,076	0,05
MESO 3	5,124	63,4127	128	103,6	0,2	0,13	0,05
S			0	0	0	0	0

MINERALI									
koncentracija mineralov (mg/L)									
oznaka vzorca	masa vzorca(g)	(%) sušine	Mn	Zn	Fe	Cr	Na	K	P
PESKE 1	5,111	63,4127	4,095	0,603	1,892	0,371	13,95	133	1,5
PESKE 2	4,9713	63,4127	4,13	0,506	1,521	0,342	12,04	124	1,45
MESO 1	5,1159	63,4127	0,036	0,105	0,345	0,07	16,22	376	0,75
MESO 2	4,9528	63,4127	0,078	0,107	0,329	0,07	22,85	306	0,65
MESO 3	5,124	63,4127	0,077	0,193	0,248	0,07	11,28	329	0,59
S			0	0,018	0,012	0	1,089	1,19	0

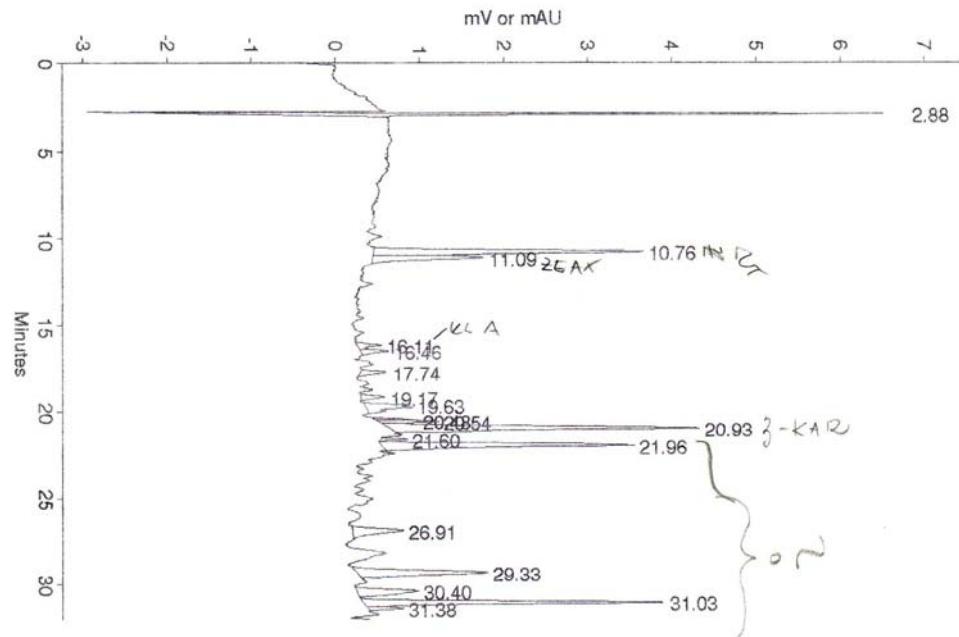
Priloga C: Določanje pigmentov v vzorcu R

Reported On: 20-04-105 12:05:48

Page 1

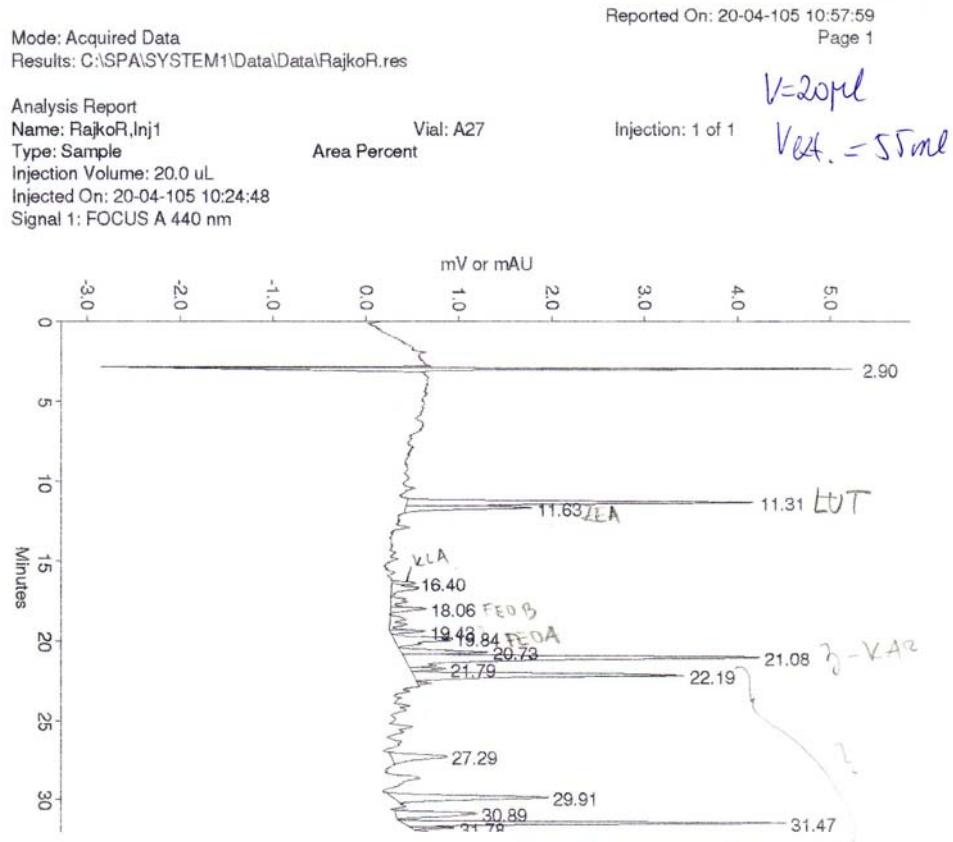
Mode: Acquired Data
 Results: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Data\RajkoRa.res

Analysis Report
 Name: RajkoRa.Inj1 Vial: A27 Injection: 1 of 1
 Type: Sample Area Percent
 Injection Volume: 20.0 uL
 Injected On: 20-04-105 11:32:34
 Signal 1: FOCUS A 440 nm



Component	RT(min)	Area	Height	Area%	Peak Type
1	2.88	105875	7948	14.91	Resolved
2	10.76	92683	3210	13.05	Fused
3	11.09	38911	1332	5.48	Last Fused
4	16.11	7130	292	1.00	Fused
5	16.46	7700	342	1.08	Last Fused
6	17.74	7791	332	1.10	Resolved
7	19.17	6254	280	0.88	Resolved
8	19.63	21530	534	3.03	Resolved
9	20.48	6272	528	0.88	Fused
10	20.54	11521	722	1.62	Fused
11	20.93	109955	3678	15.48	Last Fused
12	21.60	4083	326	0.57	Fused
13	21.96	86751	2976	12.21	Last Fused
14	26.91	24140	608	3.40	Resolved
15	29.33	58882	1542	8.29	Resolved
16	30.40	28639	734	4.03	Fused
17	31.03	84897	3582	11.95	Fused
18	31.38	7210	410	1.02	Last Fused
Totals		710224	29376	100.00	

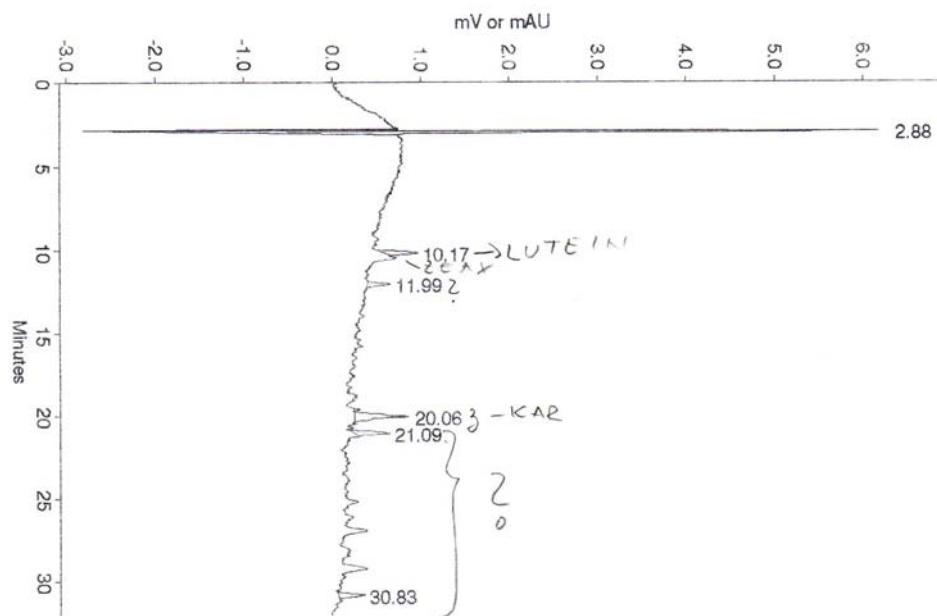
Priloga C1: Določanje pigmentov v vzorcu R



Component	RT(min)	Area	Height	Area%	Peak Type
1	2.90	93172	6394	12.00	Resolved
2	11.31	94866	3754	12.22	Fused
3	11.63	36318	1368	4.68	Last Fused
4	16.40	27256	274	3.51	Fused
5	18.06	21494	390	2.77	Fused
6	19.43	7985	364	1.03	Fused
7	19.84	27126	598	3.49	Fused
8	20.73	26803	942	3.45	Fused
9	21.08	135262	3820	17.42	Fused
10	21.79	6426	386	0.83	Fused
11	22.19	92566	2904	11.92	Last Fused
12	27.29	23668	594	3.05	Resolved
13	29.91	59859	1660	7.71	Resolved
14	30.89	29940	874	3.86	Fused
15	31.47	86828	4134	11.18	Fused
16	31.78	6931	458	0.89	Last Fused
Totals		776500	28914	100.00	

Priloga D: Določanje pigmentov v vzorcu N2

Reported On: 20-04-105 16:04:23
Page 1
Mode: Acquired Data
Results: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Data\RAJKONmm.res
Analysis Report
Name: RAJKONm²m,Inj1 Vial: B31 Injection: 1 of 1
Type: Sample Area Percent $V = 20 \mu\text{l}$
Injection Volume: 20.0 μl $V_{ext.} = 55 \text{ ml}$
Injected On: 20-04-105 15:30:32
Signal 1: FOCUS A 440 nm



Component	RT(min)	Area	Height	Area%	Peak Type
1	2.88	100039	7318	67.35	Resolved
2	10.17	9109	376	6.13	Resolved
3	11.99	5539	256	3.73	Resolved
4	20.06	17520	624	11.79	Resolved
5	21.09	9508	400	6.40	Resolved
6	30.83	6825	290	4.59	Resolved
Totals		148540	9264	100.00	

System: HELENA on Comm Port 2

Analyst: helena

Acquisition Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\pigmenti.agm

26-01-104 09:32:08

Calculation Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\DEFAULT.cam

22-05-100 09:24:02

Report Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\pigmenti.rpm

10-05-101 11:37:08

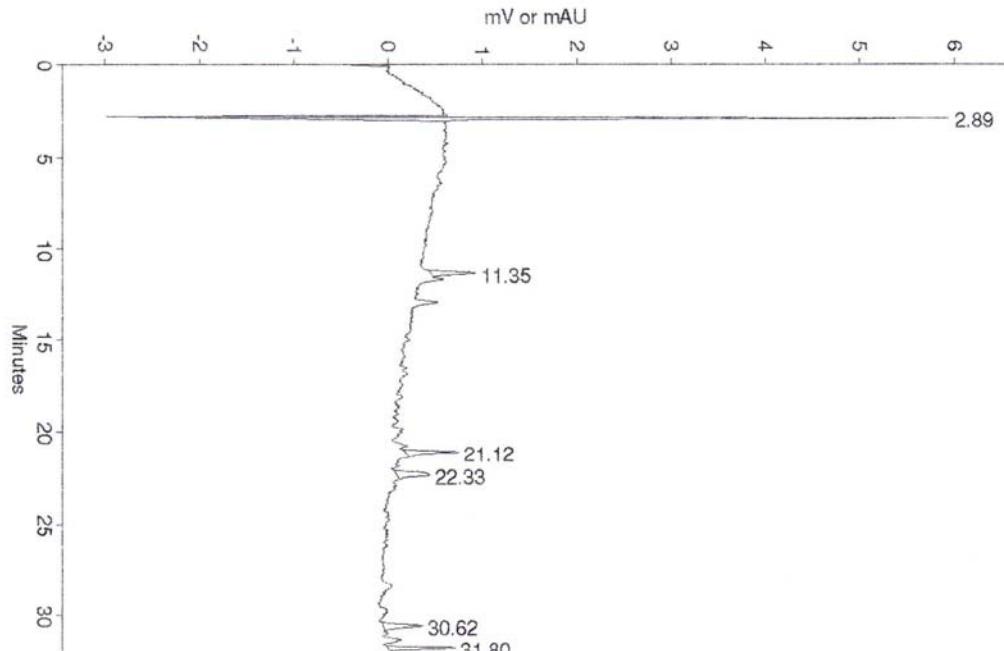
Priloga D1: Določanje pigmentov v vzorcu N2

Mode: Acquired Data
Results: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Data\RajkoN2a.res

Reported On: 20-04-105 11:32:10

Page 1

Analysis Report
Name: RajkoN2a.Inj1 Vial: A26 Injection: 1 of 1
Type: Sample Area Percent
Injection Volume: 20.0 μ L
Injected On: 20-04-105 10:58:41
Signal 1: FOCUS A 440 nm



Component	RT(min)	Area	Height	Area%	Peak Type
1	2.89	101758	7120	63.92	Resolved
2	11.35	10413	472	6.54	Resolved
3	21.12	13853	558	8.70	Resolved
4	22.33	11493	362	7.22	Resolved
5	30.62	10141	412	6.37	Resolved
6	31.80	11527	708	7.24	Resolved
Totals		159185	9632	100.00	

System: HELENA on Comm Port 2

Analyst: helena

26-01-104 09:32:08

Acquisition Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\pigmenti.aqm

22-05-100 09:24:02

Calculation Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\DEFAULT.cam

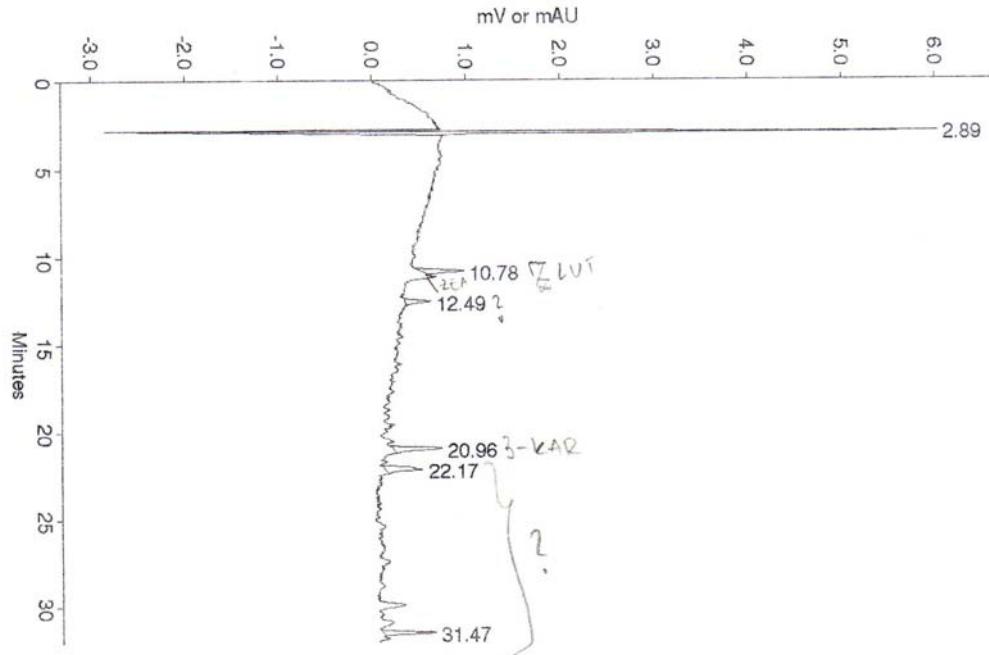
10-05-101 11:37:08

Report Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\pigmenti.rpm

Priloga D2: Določanje pigmentov v vzorcu N2

Reported On: 20-04-105 10:24:24
Mode: Acquired Data
Results: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Data\RajkoN2.res
Page 1

Analysis Report
Name: RajkoN2.Inj1 Vial: A26
Type: Sample Area Percent Injection: 1 of 1
Injection Volume: 20.0 μ L
Injected On: 20-04-105 09:50:06
Signal 1: FOCUS A 440 nm



Component	RT(min)	Area	Height	Area%	Peak Type
1	2.89	100590	7062	66.60	Resolved
2	10.78	9096	448	6.02	Resolved
3	12.49	5736	264	3.80	Resolved
4	20.96	13566	524	8.98	Resolved
5	22.17	11347	404	7.51	Resolved
6	31.47	10706	558	7.09	Resolved
Totals		151041	9260	100.00	

System: HELENA on Comm Port 2
Analyst: helena
Acquisition Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\pigmenti.aqm
Calculation Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\DEFAULT.cam
Report Method: C:\SPA\SYSTEM1\Data\Methods\pigmenti.rpm
26-01-104 09:32:08
22-05-100 09:24:02
10-05-101 11:37:08

Priloga E: DOLOČANJE VSEBNOSTI POSAMEZNE MAŠČOBNE KISLINE:

Najprej smo koščice zmleli z navadnim kuhinjskim mlinčkom ISKRA in natehtali cca 50 mg vzorca v vijalo. Neredili smo 6 paralelk. Mase so sledeče:

vzorec	začetna masa vzorca (g)	masa vzorca po dodatku internega standarda (g)
1	0,08331	0,07020
2	0,05347	0,09141
3	0,05574	0,09326
4	0,04997	0,06903
5	0,05117	0,07579
6	0,05677	0,07435

Za izračun mase smo potrebovali interni standard, ki pa je iz heptodekanojske kislino-margarinska kislina.

$$m_{is}=116,1\text{mg}$$

$$\text{metanola+heptana}=6,8420\text{g}$$

$$\text{Koncentracija Internega standarda} = 0,4886 \text{ g}/19,75 \text{ g metanola}$$

$$\text{Masa internega standarda} = \text{naša zatehta} * 0,4886/19,75$$

$$C (\text{mg}/100 \text{ g}) = (A_i * F_{Ai} * m_{i7} * 100) / (A_{17} * F_{Ai17} * m_{vz})$$

A_i = površina posamezne maščobne kilsine

F_{Ai} = koeficient posamezne maščobne kislino

m_{i7} = masa internega standarda

A_{17} = povrsina internega standarda

F_{Ai17} = koeficient posamezne maščobne kislino internega standarda

m_{vz} = masa vzorca

F_{Ai} = koeficient posamezne maščobne kislino

C16:0 0,9482

C16:1 0,9478

C17:0 0,9507

C18:0 0,9530

C18:1 0,9527

C18:2 0,9524

C18:3 0,952

C20:4 0,9812

C20:5 0,9557

Priloga E2: REZULTATI VSEBNOSTI POSAMEZNIH MK

VZOREC	POSAMEZNE MK			
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
1	286,02	110,16	580,68	2895,42
2	274,21	103,78	513,76	2816,70
3	269,58	109,00	511,14	2812,71
povprečje	276,60	107,65	535,19	2841,61
sdv	6,92	2,78	32,18	38,08
% KV	2,50	2,58	6,01	1,34
delež	7,35	2,86	14,23	75,55
1	585,84	246,17	1230,41	6726,45
2	591,28	250,07	1224,25	6684,81
3	589,54	250,21	1216,63	6628,22
povprečje	588,88	248,82	1223,76	6679,83
sdv	2,27	1,87	5,64	40,26
%KV	0,38	0,75	0,46	0,60
delež	6,74	2,85	14,00	76,42
1	642,70	276,43	1426,43	7645,90
2	647,50	276,29	1424,98	7643,67
3	649,62	275,10	1427,39	7650,52
povprečje	646,61	275,94	1426,27	7646,70
sdv	2,90	0,60	0,99	2,86
%KV	0,45	0,22	0,07	0,04
delež	6,47	2,76	14,27	76,50
1	641,90	264,84	1402,08	7293,37
2	637,58	267,87	1350,55	7299,94
3	641,46	270,44	1346,23	7251,57
povprečje	640,31	267,72	1366,29	7281,63
sdv	1,94	2,29	25,37	21,42
%KV	0,30	0,85	1,86	0,29
delež	6,70	2,80	14,30	76,20
1	823,44	354,46	1808,56	9840,71
2	822,11	355,84	1816,87	9839,31
3	829,05	357,57	1792,89	9697,56
povprečje	824,86	355,96	1806,11	9792,53
sdv	3,01	1,28	9,94	67,16
%KV	0,36	0,36	0,55	0,69
delež	6,45	2,79	14,13	76,63
1	635,80	270,44	1350,88	7286,65
2	631,44	261,44	1348,61	7303,89
3	632,89	266,99	1342,18	7253,17
pov	633,38	266,29	1347,22	7281,24
sdv	1,81	3,71	3,68	21,06
%KV	0,29	1,39	0,27	0,29
delež	6,65	2,79	14,14	76,42
kisline	palmitinska	stearinska	oleinska	linolna
povprečje	6,73	2,81	14,18	76,29

Priloga F: DOLOČANJE VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN PO SINGLETONU IN ROSSIJU

Rezultati za umeritveno krivuljo:

C (končna konc.galne k.v standardni raztopini (mg/l)	A
0	0
50	0,057
100	0,108
150	0,16
250	0,259
500	0,506

Izračuni:

A	C (mg/l)	C (mg/g)
0,10	674,10	44,82
0,11	737,10	49,01
0,11	758,10	50,41
povprečje	723,10	48,08

$$m_{mezokarpa} = 15,04 \text{ g}$$

$$m_{ETOH} = 50,55 \text{ g}$$

Priloga F1: DOLOČANJE VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN PO WATERMAN IN MOLE-U

Rezultati za umeritveno krivuljo:

n (nmol)	A 746 nm
0	0
5	0,0540453
20	0,153675
40	0,304303
60	0,44025
80	0,56157
100	0,647505
120	0,783885
140	0,923205
160	1,03455
180	1,15736
200	1,2864

Enačba premice

$$y = 0,0063x + 0,0317$$

$$R^2 = 0,9983$$

Primer:

Izračuni:

IZRAČUNI				
A	n (nmol)	n (nmol)	(nmol KL/g)	(mmol KL/g)*10 ⁻³
1.dan				
0,3605	52,190476	1304,7619	13024,18	13,0242
0,70145	106,30952	2657,7381	17459,84821	17,4598
0,76381	116,20794	2905,19841	28080,40221	28,0804
1,2864	199,15873	4978,96825	32812,49673	32,8125
2.dan				
0,14708	18,314286	274,714286	2742,206885	2,7422
0,28388	40,028571	600,428571	3944,478856	3,9445
0,73692	111,93968	1679,09524	16229,41463	16,2294
1,1297	174,28571	2614,28571	17228,7183	17,2287
3.dan				
0,10985	12,404762	186,071429	1857,371018	1,8574
0,23031	31,525397	472,880952	3106,562557	3,1066
0,308775	43,980159	659,702381	6376,400357	6,3764
0,551415	82,494444	1237,41667	8154,848205	8,1548
4.dan				
0,0989	10,672937	160,094048	1598,063961	1,60
0,1991	26,564286	398,464286	2617,686807	2,62
0,2202	29,92381	448,857143	4338,460689	4,34
0,3171	45,297619	679,464286	4477,819202	4,48

Plodovi iz zamrzovalnika:

A	vsebnost (mmol/g)
0,2202	0,0434
0,3171	0,0448
povprečje	0,0441
sd	0,098994949
KV	2,244783432

Plodovi iz hladilnika:

A	vsebnost (mmol/g)
0,1991	0,0262
0,0989	0,0160
povprečje	0,0211
sd	0,721248917
KV	34,18241312

Priloga F2: nadaljevanje F1

vzorci iz hladilnika- vsebnost fenolnih spojin izraženih s kloragensko kislino (mmol KL/g)* $\times 10^{-3}$	vzorci iz zamrzovalnika- vsebnost fenolnih spojin izraženih s kloragensko kislino (mmol KL/g) $\times 10^{-3}$
15,24	30,45
3,34	16,73
2,48	7,27
2,11	4,41
Povprečje: 23,18	Povprečje: 58,85

Masa vzorcev iz hladilnika:

$$\begin{aligned}m_1 &= 0,10018 \text{ g} \\m_2 &= 0,15222 \text{ g}\end{aligned}$$

Masa vzorcev iz zamrovalnika:

$$\begin{aligned}m_1 &= 0,10346 \text{ g} \\m_2 &= 0,15174 \text{ g}\end{aligned}$$

Priloga G: Rezultati umeritvene krivulje za določanje antioksidativne učinkovitosti

Klorogenska kislina		
n (KG) mol*10 ⁻⁹	n DPPH mol * 10 ⁻⁹	poraba DPPH
0	100,00	0
2,50	92,29	7,71
5,00	85,73	14,27
7,50	83,23	16,77
10,00	77,40	22,60
15,00	65,63	34,38
20,00	59,38	40,63
25,00	48,75	51,25
37,50	26,25	73,75
50,00	12,71	87,29
62,50	4,38	95,63
Tokoferol		
n (TF) mol*10 ⁻⁹	n DPPH mol * 10 ⁻⁹	porabljen DPPH
0	77,00	0
5,00	70,67	6,33
7,50	64,13	12,87
10,00	62,89	14,11
15,00	55,73	21,27
20,00	47,11	29,89
25,00	34,35	42,65
37,50	16,29	60,71
50,00	3,84	73,16
62,50	2,49	74,51
Dehidroaskorbinska k.		
n (DHA) mol*10 ⁻⁹	n DPPH mol * 10 ⁻⁹	porabljen DPPH
0	76,15	0
75,80	73,54	2,60
454,80	65,73	10,42
758,00	60,52	15,63
1137,00	56,88	19,27
1516,00	47,71	28,44
1895,00	38,75	37,40
Glutation		
n (GSH) mol*10 ⁻⁹	n DPPH mol * 10 ⁻⁹	n DPPH mol * 10 ⁻⁹
0	80,00	18,00
16,70	62,13	16,39
33,40	54,75	14,78
50,10	51,01	14,78
66,80	44,57	13,78
100,20	39,69	12,57
133,60	36,05	12,57
167,00	29,30	11,36
250,50	23,27	9,75
334,00	19,12	8,85
417,50	13,51	7,54

Priloga H: Poraba NaS₂O₃ (mL) in vsebnost reducirajočega sladkorja kot inverzni sladkor (mg) (Matissek in sod., 1989)

poraba Na-tiosulfata (0,1 mol/L) (mL)	reducirajoči sladkorji kot inverzni sladkor (mg)	razlika
1	2,4	2,4
2	4,8	2,4
3	7,2	2,5
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,6
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,7
12	30,3	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,8
15	38,5	2,8
16	41,3	2,9
17	44,2	2,9
18	47,1	2,9
19	50,0	3,0
20	53,0	3,0
21	56,0	3,0
22	59,1	3,1
23	62,2	3,1

$$m_{vzorca} = 5,0076 \text{ g}$$

$$m_{vode} = 45,0127 \text{ g}$$

Vzorec	volumen Na ₂ S ₂ O ₃ v slepem vzorcu (mL)	volumen Na ₂ S ₂ O ₃ v vzorcu (mL)
1	24,2	22,26
2	24,2	22,27