

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Marjan RENER

**VPLIV REZANJA IN KONTROLIRANE ATMOSFERE NA
VSEBNOST VITAMINA C V ZELJU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**INFLUENCE OF CUTTING AND CONTROLLED ATMOSPHERE ON
VITAMIN C CONTENT IN CABBAGE**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2006

POPRAVKI

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

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorja imenovala doc. dr. Blaža Cigića in za recenzenta doc. dr. Andreja Plestenjaka.

Mentor: doc. dr. Blaž Cigić

Recenzent: doc. dr. Andrej Plestenjak

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Marjan Renner

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn
DK UDK 664.8.035: 635.34: 577.16(043)=863
KG skladiščenje zelenjave/ zelje/ narezano zelje/ kontrolirana atmosfera/ vitamin C/ askorbinska kislina/ dehidroaskorbinska kislina/ dihanje
AV RENER, Marjan
SA CIGIĆ, Blaž (mentor)/ PLESTENJAK, Andrej (recenzent)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2006
IN VPLIV REZANJA IN KONTROLIRANE ATMOSFERE NA VSEBNOST VITAMINA C V ZELJU
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP XII, 73 str., 8 pregl., 28 sl., 142 vir.
IJ sl
JI sl / en
AI Stopnja mehanske poškodbe in temperatura vplivata na vsebnost vitamina C v sveže narezanem zelju, ki ga hranimo na zraku ali v spremenjenih atmosferah. Pri veliki stopnji mehanske poškodbe določimo večje vsebnosti dehidroaskorbinske kisline v sveže narezanem zelju. Vsebnosti dehidroaskorbinske kisline, ki nastanejo z oksidacijo askorbinske kisline, se začnejo na zraku zmanjševati po dveh urah od nastanka mehanskih poškodb. Vsebnost dehidroaskorbinske kisline se hitreje zmanjšuje pri temperaturi skladiščenja 20 °C kot pri 8 °C. Stopnja mehanske poškodbe vpliva na vsebnost askorbinske kisline in celotnega vitamina C pri višji temperaturi. Pri temperaturi 20 °C določimo več askorbinske kisline po enem dnevu kot po 30 minutah od nastanka mehanskih poškodb, če so rezine zelja enake ali debelejše od 2 mm. Pri zelju narezanem na debelino 0,75 mm, skladiščenem v kontrolirani atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika ali v atmosferi sintetičnega zraka pri 8 °C, se vsebnosti askorbinske kisline in celotnega vitamina C neodvisno od sestave atmosfere po treh dneh prepihovanja povečajo za 60 % oziroma 8 %. Intenziteta dihanja narezanega zelja, izražena kot tvorba ogljikovega dioksida, se v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika zmanjša za 10 %, v atmosferi s 60 odstotnim deležem kisika pa poveča za 10 % v primerjavi s sintetičnim zrakom.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 664.8.035: 635.34: 577.16(043)=863
CX storage of vegetables/ cabbage/ shredded cabbage/ controlled atmosphere/ vitamin C/ ascorbic acid/ dehydroascorbic acid/ respiration
AU RENER, Marjan
AA CIGIĆ, Blaž (supervisor)/ PLESTENJAK, Andrej (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2006
TI INFLUENCE OF CUTTING AND CONTROLLED ATMOSPHERE ON VITAMIN C CONTENT IN CABBAGE
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XII, 73 p., 8 tab., 28 fig., 142 ref.
LA sl
AL sl / en
AB Vitamin C content of shredded cabbage is affected by degree of mechanical stress and temperature, when stored in the air or in the modified atmospheres. Higher contents of dehydroascorbic acid are found in the freshly shredded cabbage at higher degree of mechanical stress. Content of dehydroascorbic acid in shredded cabbage, formed by oxidation of ascorbic acid, is gradually decreasing after two hours of storage in the air. Rate of dehydroascorbic acid reduction is faster at 20 °C than at 8 °C. Degree of mechanical stress influences the contents of ascorbic acid and total vitamin C at higher temperature. More ascorbic acid is determined in shredded cabbage after one day of storage than 30 minutes after shredding, when slices are equal or thicker than 2 mm. Storage of cabbage shredded to 0.75 mm slices for three days, in the atmosphere with 100 percent oxygen or in the synthetic air at 8 °C, resulted in 60 % and 8 % increase in the ascorbic acid and total vitamin C contents, respectively. Increase was not affected by the composition of the atmospheres tested. The respiration rates of shredded cabbage, expressed as carbon dioxide formation, are 10 % lower in the atmosphere with 100 percent oxygen and 10 % higher in the atmosphere with 60 percent oxygen, when compared to the respiration rates in the synthetic air.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	IV
KAZALO VSEBINE	VI
KAZALO PREGLEDNIC	X
KAZALO SLIK	XI
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XIII
1 UVOD	1
1.1 OPREDELITEV NALOGE.....	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ZELJE.....	3
2.1.1 Pridelovanje	3
2.1.2 Zelje v prehrani ljudi	3
2.1.3 Sorte	4
2.1.4 Pridelovanje	5
2.1.5 Hranilna vrednost.....	5
2.2 DIHANJE	6
2.2.1 Dejavniki, ki vplivajo na intenziteto dihanja	7
2.2.1.1 Izbira sadja in zelenjave	7
2.2.1.2 Temperatura.....	7
2.2.1.3 Sestava atmosfere	7
2.3 KONTROLIRANA ATMOSFERA	9
2.3.1 Kontrolirana atmosfera z velikim deležem kisika	9

2.3.1.1 Vpliv na dihanje	9
2.3.1.2 Vpliv na rast mikroorganizmov v sadju in zelenjavi.....	10
2.3.1.3 Vpliv na antioksidativni potencial sadja in zelenjave	11
2.3.2 Kontrolirana atmosfera z majhnim deležem kisika	11
2.3.2.1 Vpliv na dihanje	11
2.3.2.2 Vpliv na rast mikroorganizmov v sadju in zelenjavi.....	12
2.4 VITAMIN C	13
2.4.1 Nomenklatura in struktura vitamina C	13
2.4.1.1 Askorbinska kislina	13
2.4.1.2 Dehidroaskorbinska kislina	14
2.4.2 Biosinteza askorbinske kisline.....	15
2.4.3 Stabilnost in pretvorbe vitamina C.....	16
2.4.3.1 Askorbinska kislina	16
2.4.3.2 Dehidroaskorbinska kislina	17
2.4.4 Vitamin C v živilih.....	17
2.4.4.1 Vsebnost vitamina C v živilih	17
2.4.4.2 Vpliv pridelave na vsebnost vitamina C.....	18
2.4.4.3 Vplivi skladiščenja na vsebnost vitamina C.....	20
2.4.5 Prehranski pomen vitamina C	24
2.4.6 Askorbinska kislina kot dodatek živilom	25
2.4.7 Funkcija vitamina C.....	26
2.4.8 Vitamin C in glukozinolati.....	26
2.4.9 Analitika vitamina C	27
2.4.9.1 Kromatografske metode	27

2.4.9.2 Spektrofotometrične metode.....	28
3 MATERIALI IN METODE DELA	30
3.1 MATERIALI	30
3.2 NAČRT IN METODE DELA	32
3.2.1 Načrt dela	32
3.2.1.1 Vpliv debeline rezanja zelja in temperature na vsebnost vitamina C.....	32
3.2.1.2 Vpliv kontrolirane atmosfere z veliko vsebnostjo kisika in sintetičnega zraka na vsebnost vitamina C v narezanem zelju	34
3.2.1.3 Spremljanje vpliva atmosfere z veliko vsebnostjo kisika na intenziteto dihanja narezanega zelja.....	34
3.2.2 Metode dela	36
3.2.2.1 Določanje vitamina C v zelju	36
3.2.2.2 Določanje intenzitete dihanja zelja.....	41
4 REZULTATI.....	43
4.1 VPLIV DEBELINE REZANJA IN SKLADIŠČENJA PRI 8 °C NA VSEBNOST AK, CELOTNEGA VITAMINA C IN DHA V NAREZANEM ZELJU.....	43
4.1.1 Rezanje zelja na debelino rezin 5 mm	43
4.1.2 Rezanje zelja na debelino rezin 2 mm	44
4.1.3 Rezanje zelja na debelino rezin 0,5 mm	45
4.1.4 Primerjava povprečnih vrednosti AK, celotnega vitamina C in DHA za vse načine rezanja zelja	46
4.2 VPLIV DEBELINE REZANJA IN SKLADIŠČENJA PRI 20 °C NA VSEBNOST AK, CELOTNEGA VITAMINA C IN DHA V NAREZANEM ZELJU.....	47
4.2.1 Rezanje zelja na debelino rezin 5 mm	47
4.2.2 Rezanje zelja na debelino rezin 2 mm	48
4.2.3 Rezanje zelja na debelino rezin 0,5 mm	49

4.2.4 Primerjava povprečnih vrednosti AK, celotnega vitamina C in DHA za vse načine rezanja zelja	50
4.3 VPLIV KONTROLIRANE ATMOSFERE NA VSEBNOST AK, CELOTNEGA VITAMINA C IN DHA V NAREZANEM ZELJU.....	51
4.3.1 Shranjevanje zelja narezanega na debelino rezin 0,75 mm v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika pri 8 °C.....	51
4.3.2 Shranjevanje zelja narezanega na debelino rezin 0,75 mm v atmosferi s sintetičnim zrakom pri 8 °C.....	52
4.3.3 Primerjava povprečnih vrednosti AK, celotnega vitamina C in DHA v kontroliranih atmosferah s 100 odstotnim deležem kisika in sintetičnim zrakom	53
4.4 SPREMLJANJE VPLIVA ATMOSFERE Z VELIKO VSEBNOSTJO KISIKA NA INTENZITETO DIHANJA NAREZANEGA ZELJA.....	54
4.4.1 Kontrolirana atmosfera s 60 odstotnim deležem kisika pri 8 °C	54
4.4.2 Kontrolirana atmosfera s 100 odstotnim deležem kisika pri 8 °C	54
5 RAZPRAVA IN SKLEPI.....	56
5.1 RAZPRAVA.....	56
5.2 SKLEPI.....	61
6 POVZETEK.....	62
7 VIRI	63
ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Vsebnost osnovnih sestavin v (g/100 g) očiščenem zelju (Černe in Vrhovnik, 1992)	5
Preglednica 2: Respiracijske vrednosti minimalno obdelane zelenjave hranjene pri 4 °C in v atmosferah z velikim in majhnim deležem kisika (Jacxsens in sod., 2001).....	9
Preglednica 3: Vpliv atmosfer z velikim deležem kisika na gnitje jagod (Zheng in sod., 2007).....	11
Preglednica 4: Vsebnost vitamina C (mg/100 g) v nekaterem sadju in zelenjavi (Vanderslice in sod., 1990).....	17
Preglednica 5: Priporočeni dnevni vnosi vitamina C (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).....	25
Preglednica 6: Priprava standardnih raztopin askorbinske kisline za umeritveno krivuljo	39
Preglednica 7: Primerjava intenzitet dihanja narezanega zelja skladiščenega v 60 odstotnem kisiku in sintetičnem zraku	54
Preglednica 8: Primerjava intenzitet dihanja narezanega zelja skladiščenega v 100 odstotnem kisiku in sintetičnem zraku	54

KAZALO SLIK

Slika 1: Primerjava količin zaužitega presnega zelja v odvisnosti od starosti ljudi (Lucier in Lin, 2002)	4
Slika 2: Točka kompenzacije in prehod aerobnega dihanja v anaerobno dihanje (Vidrih, 1996).....	8
Slika 3: Izomere askorbinske kisline (Kuellmer, 1999)	13
Slika 4: L-askorbinska kislina (Klofutar in sod., 1998)	14
Slika 5: Struktura DHA (Deutsch, 2000)	14
Slika 6: Dimerna struktura dehidrirane DHA (Deutsch, 2000).....	14
Slika 7: Biosinteza AK pri rastlinah (Barata-Soares in sod., 2004)	15
Slika 8: Redoks sistem vitamina C (Kuellmer, 1999)	16
Slika 9: Funkcije vitamina C (Levine, 1999)	26
Slika 10: Redukcija DHA v AK z reducentom TCEP (Lykkesfeldt, 2000).....	28
Slika 11: Primerjava različnih debelin rezanja zelja: A (cela četrtina), B (5 mm), C (2 mm), D (0,5 mm), E (primerjava debelin rezin)	33
Slika 12: Shema poskusa za določevanje vpliva kontrolirane atmosfere na vsebnost vitamina C v narezanem zelju	34
Slika 13: Shema poskusa za določevanje vpliva kontrolirane atmosfere na intenziteto dihanja narezanega zelja.....	35
Slika 14: Shema priprave vzorcev za analizo vitamina C za določen način rezanja pri temperaturi skladiščenja 8 °C ali 20 °C	37
Slika 15: Shema priprave vzorcev za analizo vitamina C v narezanem zelju, skladiščenem v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika in sintetičnim zrakom pri 8 °C	38
Slika 16: Shema postopka priprave zelja za analizo vitamina C v različno narezanem zelju	39
Slika 17: Umeritvena krivulja za askorbinsko kislino.....	40

Slika 18: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 5 mm in skladiščenem pri 8 °C	43
Slika 19: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 2 mm in skladiščenem pri 8 °C	44
Slika 20: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 0,5 mm in skladiščenem pri 8 °C	45
Slika 21: Primerjava povprečnih vrednosti AK, celotnega vitamina C in DHA za vse načine rezanja pri 8 °C.....	46
Slika 22: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 5 mm in skladiščenem pri 20 °C	47
Slika 23: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 2 mm in skladiščenem pri 20 °C	48
Slika 24: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 0,5 mm in skladiščenem pri 20 °C	49
Slika 25: Primerjava povprečnih vrednosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) za vse načine rezanja pri 20 °C.....	50
Slika 26: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s 100 % kisikom pri 8 °C.....	51
Slika 27: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s sintetičnim zrakom pri 8 °C.....	52
Slika 28: Primerjava povprečnih vrednosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v atmosferi 100 % kisika in sintetičnega zraka pri 8 °C in debelini rezin 0,75 mm....	53

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ABG	askorbigen
AK	askorbinska kislina
DHA	dehidroaskorbinska kislina
DTT	ditiotreitol
HPLC	visoko tlačna tekočinska kromatografija
KA	kontrolirana atmosfera
MDHA	monodehidroaskorbinska kislina
MFK	2 % metafosforna kislina (W/W)
TCEP	tris(2-karboksietil)fosfin

1 UVOD

V zadnjih letih se je v živilski industriji razvilo kar nekaj novih tehnologij za pripravo in pakiranje sveže zelenjave, vključno s proizvodnjo »ready-to-use« izdelkov (pripravljeno za direktno uporabo). Ker poraba teh izdelkov strmo narašča je potrebno med samo proizvodnjo zagotoviti čim manjšo izgubo vitaminov in tako ohraniti prehransko vrednost živila (Hussein in sod., 2000; Watada in sod., 1996).

Shranjevanje narezane zelenjave v kontrolirani atmosferi z velikim deležem kisika zmanjša intenziteto dihanja, zavira rast nekaterih škodljivih mikroorganizmov in tako podaljša trajnost (Escalona in sod., 2006; Požrl, 2001). Zaradi naštetih pozitivnih lastnosti se modificirane atmosfere uporabljajo tudi v proizvodnji izdelkov, na katere ima rezanje še posebej velik vpliv in ki so namenjeni za direktno uporabo. Stopnja mehanske poškodbe pri pripravi presnega živila je še posebej izrazita pri zelju, kjer je zaradi načina rezanja razmerje med poškodovano površino in maso zelo veliko (Hussein in sod., 2000; Watada in sod., 1996).

Posledica mehanske obdelave sadja in zelenjave ter skladiščenja je zmanjšanje vsebnosti askorbinske kisline, ki je največje v prvih štiriindvajsetih urah, za tem so izgube minimalne (Vanderslice in sod., 1990). Askorbinska kislina se ob prisotnosti kisika, nekaterih redoks aktivnih ionov in askorbat oksidaze oksidira do dehidroaskorbinske kisline, ki se v nizu reakcij pretvarja naprej v določene produkte (Green in Fry, 2005). Za določitev skupnega vitamina C je potrebno dehidroaskorbinsko kislino reducirati v askorbinsko kislino. Za redukcijo se največkrat uporabljajo različni tioli, v zadnjem času pa tudi reducent tris(2-karboksietil)fosfin (Lykkesfeldt, 2000).

Pričakujemo, da bodo debelina rezanja, atmosfera v kateri bomo narezano zelje hranili in temperatura vplivali na vsebnost askorbinske kisline in dehidroaskorbinske kisline v narezanem zelju med skladiščenjem.

1.1 OPREDELITEV NALOGE

Namen naloge je bil določiti vpliv rezanja in kontrolirane atmosfere na vsebnost vitamina C v zelju in intenziteto dihanja, zato smo spremljali naslednje vplive:

- vpliv debeline rezanja zelja na vsebnost askorbinske in dehidroaskorbinske kisline
- vpliv temperature skladiščenja na vsebnost askorbinske in dehidroaskorbinske kisline v narezanem zelju
- vpliv atmosfere z veliko vsebnostjo kisika v primerjavi z zrakom na vsebnost askorbinske in dehidroaskorbinske kisline v narezanem zelju
- vpliv atmosfere z veliko vsebnostjo kisika na intenziteto dihanja in s tem metabolizem narezanega zelja

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Pričakujemo, da bo mehanska obdelava zelja vplivala na vsebnost askorbinske in dehidroaskorbinske kisline. V primerih, kjer bo stopnja mehanske poškodbe večja, pričakujemo, da bo nastalo več dehidroaskorbinske kisline ter preostalo manj askorbinske kisline. Preveriti želimo tudi kinetiko procesa oksidacije askorbinske kisline ter ugotoviti, ali višja temperatura pospeši proces oksidacije in vpliva na razmerje med oksidirano in reducirano obliko vitamina C.

Predvidevamo, da bo mehanska poškodba privedla do indukcije določenih encimov, ki so vključeni v metabolizem vitamina C, zato bomo spremljali vsebnost obeh oblik vitamina C v narezanem zelju tudi skozi daljše, nekajdnevno obdobje. Preverili bomo, ali ima atmosfera z velikim deležem kisika vpliv na pretvorbe vitamina C v narezanem zelju med nekajdnevnim shranjevanjem.

Mehanska obdelava svežega sadja in zelenjave drastično pospeši proces metabolizma, kar se odraža v povečani produkciji ogljikovega dioksida, in ima za posledico krajši rok trajanja pakiranih presnih izdelkov. Da bi preverili, ali povečan delež kisika v atmosferi pospeši proces dihanja, bomo spremljali tvorbo ogljikovega dioksida v kontroliranih atmosferah in na ta način ovrednotili splošno uporabnost atmosfer z velikim deležem kisika za shranjevanje narezanega zelja.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ZELJE

Zelje (*Brassica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) var. *capitata*) spada v rod *Brassica* (kapus) in vrsto *Brassica oleracea* L.-kapusnice, kamor uvrščamo med drugim tudi ohrovt, brokoli, cvetačo, brstični ohrovt in kolerabo (Osvald in Kogoj-Osvald, 1994). Kapusnice prištevamo v družino križnic *Brassicaceae* (Cruciferae), ki je zelo raznolika (Černe, 1998).

Večina zelja, ki se ga pridelava je namenjena kisanju, nekaj pa tudi za svežo porabo, predvsem v zimskih mesecih. Pomen zelja za prehrano ljudi v preteklosti je bil večji kot danes, saj je bilo zelje v zimskih mesecih v bistvu edina razpoložljiva vrtnina. V današnjem času moderni postopki pridelave in skladiščenja omogočajo, da je zelje na razpolago skozi celo leto, tržna zanimivost sveže narezanega in pakiranega zelja pa še spodbuja uživanje svežega zelja ob vseh letnih časih (Požrl, 2001).

Nekatere raziskave kažejo, da naj bi uživanje križnic (brokoli, kitajsko zelje) pripomoglo k zmanjševanju rizika pojava raka na prsni pri ženskah pred pojavom mene (Ambrosone in sod., 2004; Fowke in sod., 2003), kar gre na račun glukozinolatov in taninske kisline, ki se pojavljajo v zelju (Hrnčič in sod., 1998; Mosha in sod., 1995).

2.1.1 Pridelovanje

Zelje je bilo v Sloveniji najpomembnejša vrtnina, saj so ga včasih gojili na eni tretjini vseh površin, posejanih ali posajenih z vrtninami (Černe, 1998). Poznamo belo in rdečo podvrsto. Kljub vsej raznovrstnosti kapusnic je leta 1995 delež zelja med pridelkom vseh kapusnic v Sloveniji predstavljal kar 91 odstotkov (Černe, 1998).

Leta 2004 se je v Sloveniji pridelalo skoraj 25 tisoč ton kapusnic, od tega 22 tisoč ton belega zelja (Statistični urad Republike Slovenije, 2005).

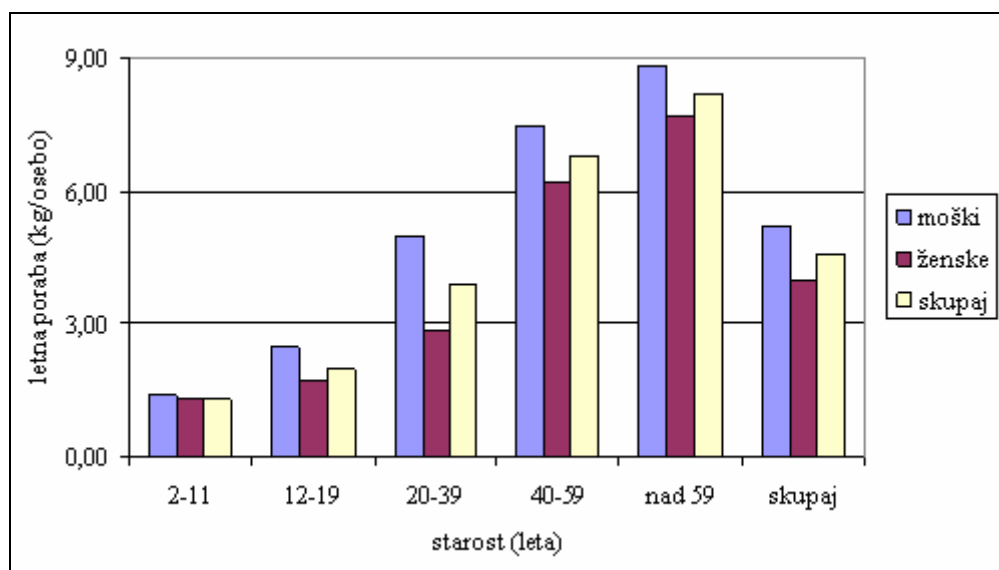
Leta 1996 je svetovna pridelava zelja znašala 47 milijona ton, od tega ga je bilo 16 odstotkov pridelanega v Evropi. Po podatkih iz leta 2004, največ zelja pridelajo na Kitajskem (48 %), v Indiji (9 %), Rusiji (6 %), Severni Koreji (4 %), Japonski (3 %) in v ZDA, ki so s 3 odstotki na šestem mestu. Vrednost proizvodnje zelja je bila v letu 2004 ocenjena na približno 350 milijard dolarjev (Hayley in Kreith, 2006).

2.1.2 Zelje v prehrani ljudi

Po nekaj desetletjih upadanja uživanja zelja v ZDA (leta 1920 je poraba presnega zelja znašala 11 kg na prebivalca, kar je za 59 odstotkov več kot danes), se je poraba v devetdesetih letih 20. stoletja dvignila za 8 odstotkov. Prodaja presnega zelja se je v letih

od 1970-1990 ustalila na 4,2 kg na prebivalca na leto. V zadnjih letih se poraba še dodatno zvišuje na račun novih izdelkov (sveža zeljnata solata, uporaba rdečega zelja v sveže narezanih solatnih mešanica) in prehranskih raziskav, ki so pokazale ugodne učinke zelja na človeka, tako da znaša zdaj poraba približno 4,5 kg na prebivalca (Lucier in Lin, 2002).

Glede na starost prebivalstva, največ zelja zaužije populacija ljudi po petdesetem letu, v povprečju 7,5 kg, najmanj zelja pa zaužije prebivalstvo do dvajset let, v povprečju 1,5 kg (slika 1).



Slika 1: Primerjava količin zaužitega presnega zelja v odvisnosti od starosti ljudi (Lucier in Lin, 2002)

2.1.3 Sorte

V Sloveniji poznamo avtohtone sorte zelja (Ljubljansko, Kašeljško,...), vendar so jih v večini izpodrinili hibridi, ker omogočajo boljšo kakovost pridelka. Ta je zdaj bolj izenačen v velikosti, primernejši za skladiščenje, ter bolj odporen na bolezni in pokanje.

Glede na čas pobiranja ločimo:

- zgodnje sorte belega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti 50 do 70 dni) in zgodnje sorte rdečega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti 80 do 100 dni)
- srednje zgodnje sorte belega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti 70 do 100 dni)
- srednje pozne sorte belega in rdečega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti 100 do 130 dni)
- pozne sorte belega in rdečega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti več kot 130 dni)

oziroma zgodnje, poletne, jesenske in ozimne sorte belega zelja, ter zgodnje in pozne sorte rdečega zelja (Osvald in Kogoj-Osvald, 1994).

2.1.4 Pridelovanje

Zelje sadimo ali sejemo na dobro pognojena tla na razmik, ki je ustrezen za izbrano sorto in odvisen od bujnosti rastlin. Čas sajenja je odvisen od lastnosti sort in namena pridelovanja. Rastline, ki so dobro oskrbovane, razvijejo za sorto značilno glavo. Ko se jih v času tehnološke zrelosti pobira, so glave z belim temenom povsem sklenjene. Različne sorte različno dolgo ostanejo v fazi tehnološke zrelosti. Fazi tehnološke zrelosti sledi faza staranja in kvarjenja, pri čemer svetli listi potemniijo, glave pa lahko začnejo pokati. Kakovost pridelka je odvisna od sorte, prehrane rastlin, načina gojenja in vodne oskrbe. Na zbitost glav vplivata voda in dušik. Posledica enostranskega gnojenja je lahko tudi pekoč in grenak priokus (Osvald in Kogoj-Osvald, 1994).

2.1.5 Hranilna vrednost

V zelju je precej vlaknin, organskih kislin, mineralov in vitaminov. Vsebnost osnovnih sestavin v g/100 g očiščenega zelja je prikazana v preglednici 1.

Preglednica 1: Vsebnost osnovnih sestavin v (g/100 g) očiščenem zelju (Černe in Vrhovnik, 1992)

SESTAVA	BELO ZELJE	RDEČE ZELJE
voda	91,0-95,0	89,5-93,5
beljakovine	0,4-2,2	0,4-2,3
maščobe	0,1-0,2	0,1-0,2
ogljikovi hidrati	3,3-3,4	3,5-5,2
vlaknine	1,0-2,5	1,0-2,5
minerali	0,4-0,8	0,5-0,8
energijska vrednost (kCal/100 g)	23-27	22-29

2.2 DIHANJE

Dihanje je proces, ki se odvija v vsaki živi celici in je merilo metabolne aktivnosti. Pri dihanju gre za zaporedje velikega števila encimskih reakcij oziroma za oksidativno razgradnjo kompleksnih spojin kot so ogljikovi hidrati, proteini in lipidi v enostavnejše molekule kot sta ogljikov dioksid in voda, pri čemer se sprošča energija. Osnovna funkcija dihanja je zagotavljanje energije in različnih spojin, ki jih celica potrebuje za normalen potek reakcij za vzdrževanje celične organizacije (Lee in sod., 1995).

Proces dihanja v sadju in zelenjavi lahko poenostavljeno prikažemo s kemijsko reakcijo:



Energija, ki se sprosti, se v večini pretvori v toplotno energijo, ki jo sadje in zelenjava oddajata v okolje. Del energije, ki ostane, se v obliki energetsko bogatih molekul porablja za reakcije sinteze. Sadje in zelenjava sta metabolno aktivna tudi po obiranju, ko porabljata rezervne snovi.

Razgradnja ogljikovih hidratov pri celičnem dihanju poteka v treh večjih sklopih (Lehninger, 1993; Douce in sod., 1987):

glikoliza: V prvi fazi poteka fosforilacija glukoze in izomeracija v fruktozo. Nato sledi razcep fosforilirane heksoze v dve fosforilirani triozi, ki so oksidirata in dodatno fosforilirata. V naslednjih stopnjah poteče fosforilacija ADP v ATP na ravni substrata. Za potek glikolize kisik ni potreben. Piruvat lahko v aerobnih razmerah preko oksidativne dekarboksilacije in acetil-Co-A vstopa v citratni cikel. V anaerobnih razmerah piruvat ne vstopa v citratni cikel, kjer bi se oksidiral, ampak se akumulira v tkivu in dekarboksilira do acetaldehida, ki se reducira do etanola.

citratni cikel (ciklus TCA, Krebsov cikel): Je reakcija, kjer piruvat vstopa v citratni cikel kot acetil-Co-A. V nizu reakcij se pri vsakem obratu citratnega ciklusa sprostijo: 2 molekule CO₂, 3 molekule NADPH, 1 FADH₂ in 1 GTP. Reducirani koencimi vstopijo v dihalno verigo prenosa elektronov oziroma v oksidativno fosforilacijo.

oksidativna fosforilacija: Pri oksidativni fosforilaciji se elektroni, ki jih oddajata NADH in FADH₂ iz glikolize in citratnega cikla, prenašajo preko sistema prenašalcev elektronov na kisik, ki se reducira do vode. Pri prenosu elektronov se del sproščene energije hrani v obliki protonskega gradienta, ki se porablja za sintezo ATP.

Obstaja še ena pot (sekundarna) razgradnje glukoze, imenovana pentoza fosfatna pot, ki je pomembna predvsem za zagotavljanje zadostnih količin pentoz za biosintezo nukleinskih kislin in tvorbo NADPH, ki je nujen za sintezo maščob.

2.2.1 Dejavniki, ki vplivajo na intenziteto dihanja

Intenziteta dihanja oziroma koeficient dihanja (RQ) je definiran kot razmerje med količino nastalega CO₂ in porabljenega O₂ (Sarić in sod., 1987; Escalona in sod., 2006) in je podan z naslednjo zvezo:

$$RQ = CO_2 / O_2$$

Dejavniki, ki vplivajo na intenziteto dihanja so izbira sadja in zelenjave, v največji meri pa temperatura in sestava atmosfere.

2.2.1.1 Izbira sadja in zelenjave

Zaradi težnje po čim daljšem ohranjanju kakovosti sadja in zelenjave v fazi skladiščenja, izbiramo take pridelke, ki so nepoškodovani in v fazi fiziološke zrelosti, saj imajo kot taki najmanjšo intenziteto dihanja (Brecht in sod., 2003; Watada in sod., 1996). Za uspešno skladiščenje, moramo poleg izbire primerno zrelih pridelkov, paziti še na temperaturo in sestavo atmosfere.

2.2.1.2 Temperatura

Najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na intenziteto dihanja je temperatura. Če narašča temperatura, narašča tudi hitrost različnih reakcij, čeprav dvig hitrosti ni za vse reakcije enak. Če temperaturo znižamo, se zmanjša intenziteta dihanja, tako da uspeh skladiščenja temelji na uporabi najnižjih še sprejemljivih temperatur. Te so za različne vrste sadja in zelenjave različne. Dvig hitrosti metabolnih reakcij lahko opišemo s faktorjem Q₁₀. Ta predstavlja razmerje med hitrostjo reakcije pri določeni temperaturi in pri 10 °C višji temperaturi. Vrednosti faktorja Q₁₀ so ponavadi med 2 in 2,5, kar pomeni, da intenziteta dihanja pri povišanju temperature za 10 °C naraste za faktor 2-2,5 (Kays, 1991).

2.2.1.3 Sestava atmosfere

Sestava atmosfere pomembno vpliva na dihanje, kar se izkorišča pri tehnologiji pakiranja v modificirano in kontrolirano atmosfero ter pri klasičnih načinih skladiščenja. S pogoji KA zmanjšamo dihanje do stopnje, da je koncentracija O₂ in CO₂ znotraj meja, ki jih proizvod lahko tolerira in se ne sproži anaerobna respiracija. Na ta način upočasnimo zorenje (staranje) in dalj časa ohranimo kakovost izdelka (Kader, 1980; Kader in sod., 1989). Najpomembnejši trije plini, ki vplivajo na intenziteto dihanja so ogljikov dioksid (CO₂), etilen (C₂H₂) in kisik (O₂).

2.2.1.3.1 Ogljikov dioksid

V splošnem velja, da z naraščanjem CO₂ intenziteta dihanja pada, saj so encimi citratnega ciklusa inhibirani s CO₂, ki je produkt dihanja (Lee in sod., 1995). Povečana koncentracija CO₂ pa tudi zavira biosintezo etilena. Vse vrste rastlin in sadja imajo določeno mejno

vrednost, pri kateri še tolerirajo CO₂, ki je odvisna od sorte. Če je ta mejna vrednost prekoračena, se sproži anaerobni metabolizem (Lee in sod., 1995).

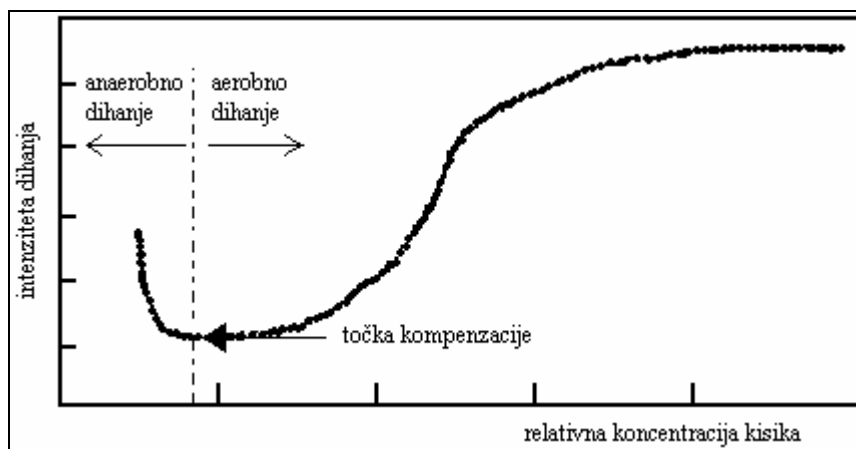
Pri sadju liči, v kontrolirani atmosferi z majhno vsebnostjo kisika (5 % O₂ in 6 % CO₂), se tvori etanol, za razliko od kontrolirane atmosfere z velikim deležem kisika (70 %), kjer je produkcija etanola signifikantno nižja (Tian, 2005). Pomanjkanje O₂ in akumulacija CO₂ v embalažah, ki slabo prepuščajo pline, lahko privede do poslabšanja okusa, teksture in vonja izdelkov (Van der Steen in sod., 2002).

2.2.1.3.2 Etilen

Etilen, imenovan tudi hormon zorenja, deluje že v zelo majhnih koncentracijah. Z zorenjem plodu, naraščata njegova biosinteza in učinkovanje (Lee in sod., 1995). Etilen vpliva na metabolne procese, tako da plod hitreje zori in se stara. Če temperaturo skladiščenja znižamo, potem se zmanjša biosinteza etilena in učinek etilena je manj izrazit. S skladiščenjem v KA se lahko zmanjša proizvodnja etilena (C₂H₂) in občutljivost na delovanje tega plina. Dalj časa se ohrani kakovostna tekstura, sadje počasneje zori, upočasnjen je tudi razpad klorofila (Kader, 1980; Kader in sod., 1989).

2.2.1.3.3 Kisik

Višje rastline tudi v odsotnosti O₂ proizvajajo CO₂, kar imenujemo anaerobno dihanje, poteka pa le kratek čas, dokler ne pride do propadanja rastline. Če pride rastlina ponovno v normalne pogoje, potem ta nadaljuje z normalnim razvojem. Koncentracija kisika, pri kateri pride do anaerobnega dihanja, je odvisna od vrste rastline in tipa tkiva. Pri deležu kisika, ki znaša manj kot tri odstotke, pride do povečanja intenzitete dihanja (Sarić in sod., 1987). Če se koncentracija kisika v atmosferi manjša, potem počasi upada tudi intenziteta dihanja. To poteka do določene ravni, ki jo imenujemo točka kompenzacije oziroma kritična koncentracija, ko se aerobno dihanje sprevrže v anaerobno (slika 2). Če koncentracija kisika pade pod to vrednost, se intenziteta dihanja zopet poveča.



Slika 2: Točka kompenzacije in prehod aerobnega dihanja v anaerobno dihanje (Vidrih, 1996)

2.3 KONTROLIRANA ATMOSFERA

Lahko jo definiramo kot skladiščenje proizvodov (sadje, zelenjava, meso) v atmosferi, ki je drugačna od zraka. Del kisika je zamenjan z drugimi plini, ki se jih kontinuirno uravnava za doseganje optimalne koncentracije (Riad, 2004; Fellows, 2000). Poleg plinov se uravnava še temperatura in vlažnost.

Pogoji KA dovoljujejo rokovanje s sadeži občutljivimi na mraz (paradižnik, banana, mango) pri temperaturah, ki so nižje od ohlajevalnih temperatur pri navadnem skladiščenju v zraku. Z uporabo kontrolirane atmosfere zmanjšamo pojavnost in izrazitost nekaterih fizioloških nepravilnosti kot na primer, zaradi etilena in nizkih temperatur (Kader, 1980; Kader in sod., 1989).

Zelje se lahko skladišči pri temperaturi okrog 0 °C in visoki relativni vlažnosti (92-98 %), ki preprečuje izsušitev. Z uporabo kontrolirane atmosfere lahko dosežemo še boljše rezultate pri skladiščenju. Glave zelja lahko skladiščimo tudi do osem mesecev (Černe, 1998).

2.3.1 Kontrolirana atmosfera z velikim deležem kisika

2.3.1.1 Vpliv na dihanje

Atmofere z velikim deležem kisika so se izkazale kot uspešne, saj preprečujejo encimsko porjavenje, preprečujejo anaerobno fermentacijo, zavirajo mikrobo rast in pojav gnitja pri večini sveže narezane zelenjave in sadja (Amanatidou in sod., 2003; Amanatidou in sod., 2000; Jacxsens in sod., 2001; Van der Steen in sod., 2003). Zmanjšanje encimskega porjavenja naj bi bilo povezano s substratno inhibicijo polifenol oksidaz pri velikih koncentracijah kisika ali inhibicijo polifenol oksidaz z nastalimi kinoni (Day, 1996). Intenziteta dihanja ima direktni vpliv na obstojnost proizvoda, zato je nujno opredeliti vpliv kisika na respiracijsko aktivnost (Kader in sod., 1989). V rastlinskem tkivu, ki ga mehansko poškodujemo in izpostavimo povišanemu deležu kisika, se lahko tvori več škodljivih kisikovih spojin kot je antioksidantov v rastlini. To lahko vodi do poškodbe membran, zaradi česar se lahko poveča intenziteta respiracije (preglednica 2).

Preglednica 2: Respiracijske vrednosti minimalno obdelane zelenjave hranjene pri 4 °C in v atmosferah z velikim in majhnim deležem kisika (Jacxsens in sod., 2001)

minimalno obdelana zelenjava	RO ₂ (ml O ₂ /kg h) 3 % O ₂	RO ₂ (ml O ₂ /kg h) 80 % O ₂	RO ₂ (ml O ₂ /kg h) 95 % O ₂
narezana zelena-strgana	7,43 ± 1,33	8,76 ± 4,07	10,86 ± 3,36
rezine gob	14,68 ± 4,51	36,29 ± 0,29	41,69 ± 2,95
koščki radiča	9,84 ± 1,57	7,59 ± 1,07	10,18 ± 0,97

V nasprotju z zgornjimi opažanji, sta Gorny in Kader ugotovila, da se respiracija narezanih hrušk v atmosferah z 40, 60 in 80 odstotnim kisikom pri 10 °C za štiri dni, zmanjša v primerjavi z dihanjem na zraku (Kader in Ben-Yehoshua, 2000).

Pri študiju vpliva sestave atmosfere na dihanje narezane solate so opazili, da je intenziteta dihanja v atmosferah z velikim parcialnim tlakom kisika (20-100 kPa) manjša kot v atmosferah, kjer je parcialni tlak manjši kot v zraku (Escalona in sod., 2006). Dihanje je bilo upočasnjeno tudi v prisotnosti 10-20 kPa CO₂. Kot optimalne pogoje za shranjevanje avtorji predlagajo modificirano atmosfero s kombinacijo 10-20 kPa CO₂ in 80 kPa O₂.

Kontrolirana atmosfera s 70 kPa O₂ lahko uspešno podaljša čas obstojnosti sadja longan in močno inhibira površinsko porjavenje (Tian in sod., 2002).

Kljub določenim prednostim uporabe atmosfer z velikim deležem kisika, ostaja problem, da so koncentracije kisika nad 25 kPa označene za eksplozivne in je potrebna še posebna previdnost pri delu z njimi (Dennehy, 2003).

2.3.1.2 Vpliv na rast mikroorganizmov v sadju in zelenjavi

Atmofere z velikim deležem kisika naj bi delovale antimikrobno, saj se v takih razmerah tvori več intracelularnih reaktivnih kisikovih spojin, ki poškodujejo vitalne dele mikrobnih celic (Kader in Ben-Yehoshua, 2000).

Še bolj učinkovita je kontrolirana atmosfera z visokim deležem kisika in 10-20 ogljikovega dioksida, ki deluje inhibitorno na večino mikroorganizmov (Amanatidou in sod., 2000). Atmosfere z velikim deležem kisika in 10-20 % ogljikovega dioksida lahko zagotovijo ustrezno zaustavitev mikrobne rasti in podaljšajo rok trajnosti proizvodov (Geysen in sod., 2005). Amanatidou in sodelavci (1999) so preučevali mikroorganizme, ki so povezani s kvarjenjem in varnostjo minimalno obdelane zelenjave in ugotovili, da samo velik delež kisika (80-90 %) ne inhibira mikrobne rasti, temveč jo pri nekaterih (testnih) mikrobnih na 8 °C le upočasnjuje, saj se podaljša lag faza mikroorganizmov.

Delež kisika, ki znaša od 80-100 odstotkov, inhibira rast mikroorganizma *Botrytis cinerea* na jagodah (Wszelaki in Mitcham, 1999).

Jagode, ki so v atmosferi z velikim deležem kisika, so bolj čvrste in gnitje se pojavlja v manjši meri kot pri sadju, ki je hranjeno v navadni atmosferi ali v atmosferah s subatmosferskim deležem kisika (Pe´rez in Sanz, 2001; Stewart, 2003).

Zheng je s sodelavci (2007) ugotovil, da večji kot je delež kisika v kontrolirani atmosferi, bolj močno zavira pojav gnitja jagod. Najbolj učinkovit pri zatiranju gnitja je 100 odstotni kisik, saj po štirinajstih dneh skladiščenja zgnije le 8 odstotkov jagod (preglednica 3).

Preglednica 3: Vpliv atmosfer z velikim deležem kisika na gnitje jagod (Zheng in sod., 2007)

dan	atmosfera	gnitje (%)
0		0,00 ± 0,00
3	zrak	1,67 ± 0,72
	60 kPa O ₂	0,00 ± 0,00
	100 kPa O ₂	0,00 ± 0,00
7	zrak	17,08 ± 2,60
	60 kPa O ₂	8,75 ± 1,25
	100 kPa O ₂	4,58 ± 1,91
10	zrak	23,75 ± 1,25
	60 kPa O ₂	11,67 ± 0,72
	100 kPa O ₂	6,67 ± 0,72
14	zrak	37,23 ± 2,89
	60 kPa O ₂	15,17 ± 1,91
	100 kPa O ₂	8,33 ± 0,72

2.3.1.3 Vpliv na antioksidativni potencial sadja in zelenjave

Sveže nabrane borovnice so preprihovali s plinskimi mešanici, ki so vsebovale od 20 do 100 odstotkov kisika ter v tedenskih intervalih določali antioksidativni potencial borovnic. Ugotovili so, da se antioksidativni potencial značilno poveča pri borovnicah, ki so jih preprihovali s plini, ki so vsebovali več kot 40 % kisika. Ugotovili so tudi, da velik parcialni tlak kisika nima negativnega efekta na nekatere ostale parametre, ki so merilo za kakovost (Pe' rez in Sanz, 2001).

Jagode, tretirane z velikim deležem kisika (60-100 %) imajo v primerjavi s sadjem v navadni atmosferi, večji antioksidativni potencial in več skupnih antocianinov. Skladiščenje v atmosferi z velikim deležem kisika in/ali v atmosferi z zrakom vpliva na porast skupnih fenolov v jagodah v prvih sedmih do desetih dneh (Zheng in sod., 2007).

2.3.2 Kontrolirana atmosfera z majhnim deležem kisika

2.3.2.1 Vpliv na dihanje

Atmospere z majhnim deležem kisika (1 %) pri temperaturi 0 °C so se izkazale primerne za skladiščenje kitajskega zelja, ker upočasnjujejo rumenenje in zmanjšujejo pojav gnitja (Wang, 1983).

Slaba stran skladiščenja belega zelja v atmosferi z majhnim deležem kisika (1 % O₂ in 1 % CO₂) je pojav poškodb v središču (srčiki) zeljnate glave, do katerih pride pri 33 odstotkih zelja po 89 dneh in pri 50 odstotkih zelja po 109 dneh skladiščenja (Lipton in Mackey, 1987).

2.3.2.2 Vpliv na rast mikroorganizmov v sadju in zelenjavi

Poškodbe zelja, ki nastanejo po okužbi z bakterijo *Botrytis cinerea*, se lahko zmanjšajo z uporabo kontroliranih atmosfer, ki vsebujejo 2,5-3 odstotka kisika in 5-6 odstotkov ogljikovega dioksida, pri čemer se obstojnost zelja pri temperaturi 0 °C podaljša za 5-6 mesecev. Upočasnijo se pojavljanje in ohrani dobra kakovost zelja (Berard, 1985; Prange in Lidster, 1991).

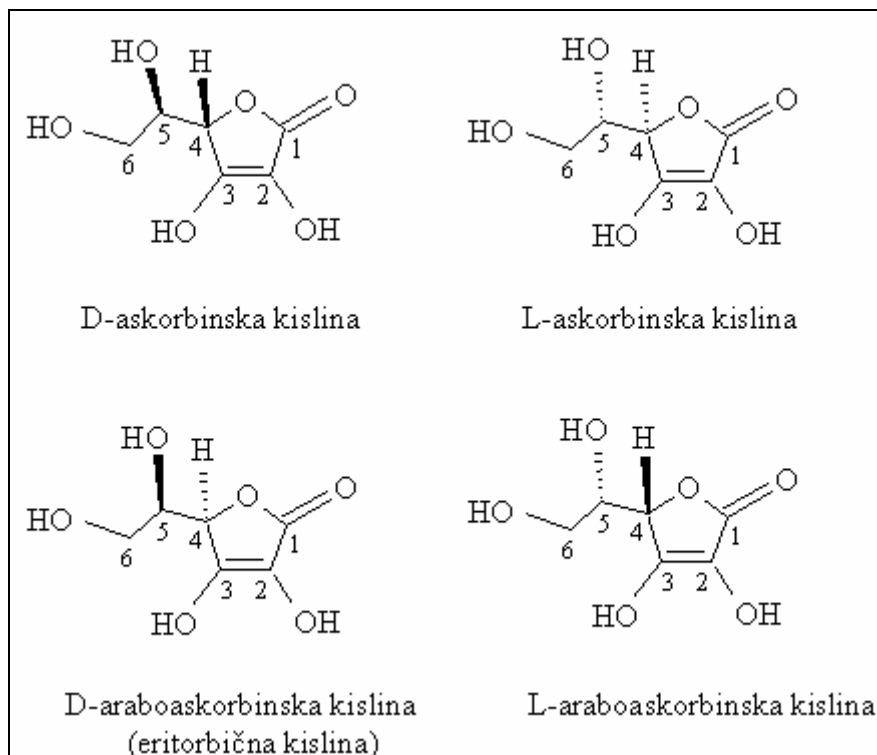
2.4 VITAMIN C

2.4.1 Nomenklatura in struktura vitamina C

2.4.1.1 Askorbinska kislina

Askorbinska kislina je poznana pod drugimi imeni tudi kot L-askorbinska kislina, skorbutamin ter cevitaminska kislina (Kuellmer, 1999).

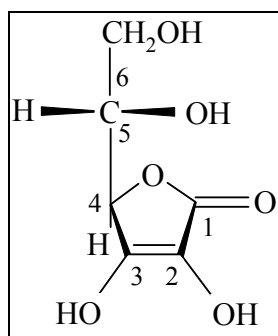
Ime askorbinska kislina (AK) odraža njene proti skorbutne lastnosti. V veliki meri je zastopana v rastlinah in živalih (Kuellmer, 1999). Poznamo več izomer AK (slika 3). Vitamin C so prvič popolnoma izolirali leta 1928 iz zelja, paprike in živalskih nadledvičnih žlez (Szent-Gyorgyi, 1928; Svirbely in Szent-Gyorgyi, 1932).



Slika 3: Izomere askorbinske kisline (Kuellmer, 1999)

Askorbinska kislina z molekulsko formulo $C_6H_8O_6$ in relativno molekulsko maso 176,13 nastane v reakcijah biosinteze iz glukoze. Je v vodi topna, optično aktivna bela kristalinična snov in dober reducent (Kuellmer, 1999).

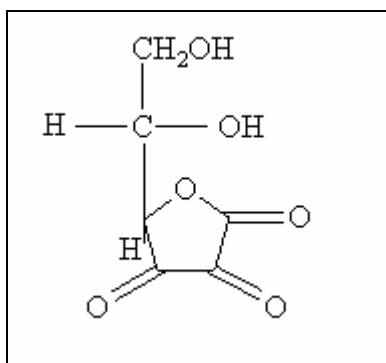
Po svoji strukturi je askorbinska kislina 1,4-lakton nenasičene karboksilne kisline. Močno izražene kisle lastnosti kažeta enolni hidroksilni skupini, ki sta vezani na drugem in tretjem ogljikovem atomu (slika 4). Protona na enolni skupini na drugem in tretjem ogljikovem atomu elektrolitsko disociirata. Negativna desetiška logaritma njunih konstant disociacije sta $pK_{a1} = 4,25$ (C_3-OH) in $pK_{a2} = 11,79$ (C_2-OH) (Klofutar in sod., 1998).



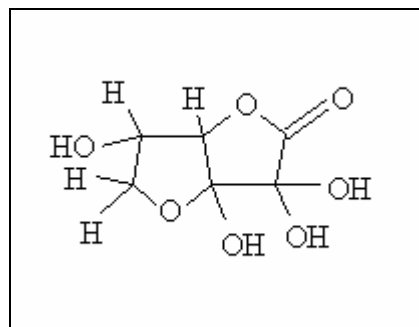
Slika 4: L-askorbinska kislina (Klofutar in sod., 1998)

2.4.1.2 Dehidroaskorbinska kislina

Askorbinska kislina in dehidroaskorbinska kislina (DHA) predstavljata vitamin C in se v organizmu v encimsko kataliziranih reakcijah oksidacije in redukcije medsebojno reverzibilno pretvarjata (slika 8). Po svoji strukturi je DHA (slika 5) γ -lakton treo-2,3-heksadilusonske kisline in nastane po reverzibilni oksidaciji iz AK. V vodi se nahaja DHA v hemiacetatni obliki, medtem ko je dehidrirana v obliki dimera (slika 6).



Slika 5: Struktura DHA (Deutsch, 2000)

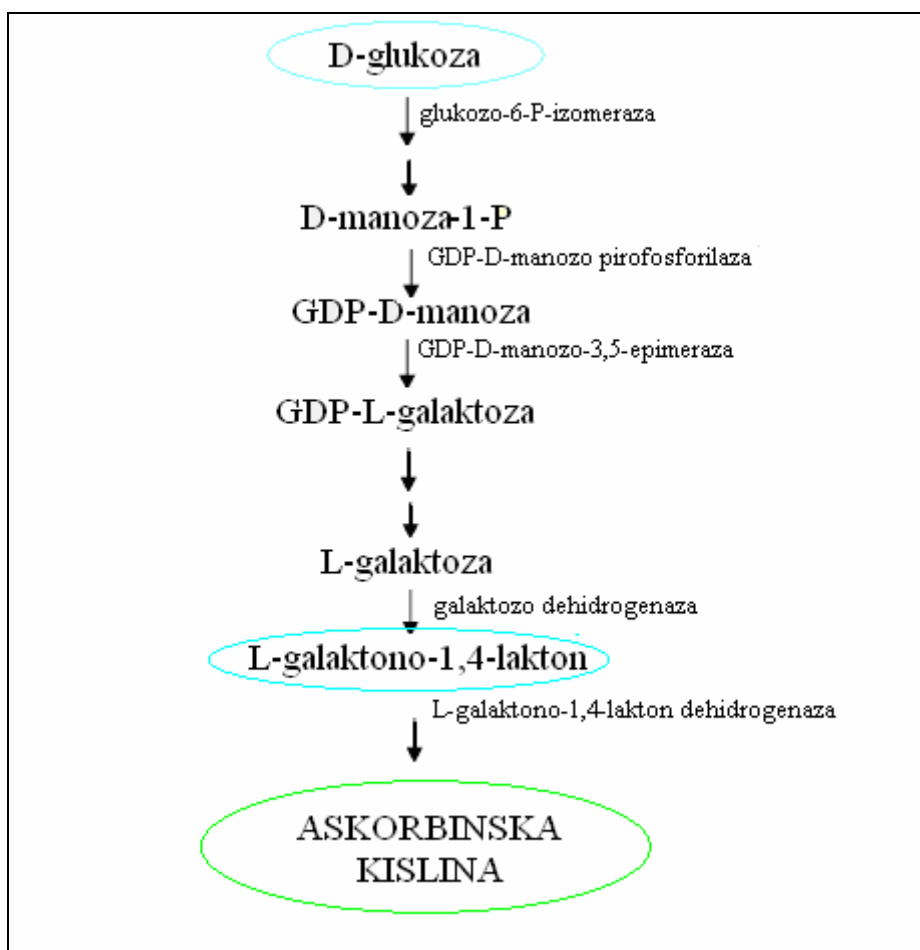


Slika 6: Dimerna struktura dehidrirane DHA (Deutsch, 2000)

2.4.2 Biosinteza askorbinske kisline

L-askorbinska kislina je esencialnega pomena tako za rastline, kakor tudi za vsa druga živa bitja, saj je pomemben antioksidant in regulator razvoja. Pri rastlinah nastane v več zaporednih encimskih reakcijah iz D-glukoze (slika 7), lahko pa nastane tudi iz drugih spojin. D-galakturonska kislina in L-galakturonska kislina, ki sta komponenti celične stene pri rastlinah, sta lahko vir za sekundarno pot biosinteze AK. Askorbinska kislina je lahko v rastlinah pridobljena tudi iz gulonske in glukonske kisline, araboaskorbata, klukozona in sorbozona, vendar so te poti manj pomembne (Barata-Soares in sod., 2004).

Ljudje, primati in morski prašički so odvisni od zunanjega vira askorbinske kisline, ker so izgubili zmožnost biosinteze AK, zaradi pomanjkanja encima L-gulonolakton oksidaze, ki pretvori 2-keto-L-gulonolakton v L-askorbinsko kislino (Basu in Dickerson, 1996).



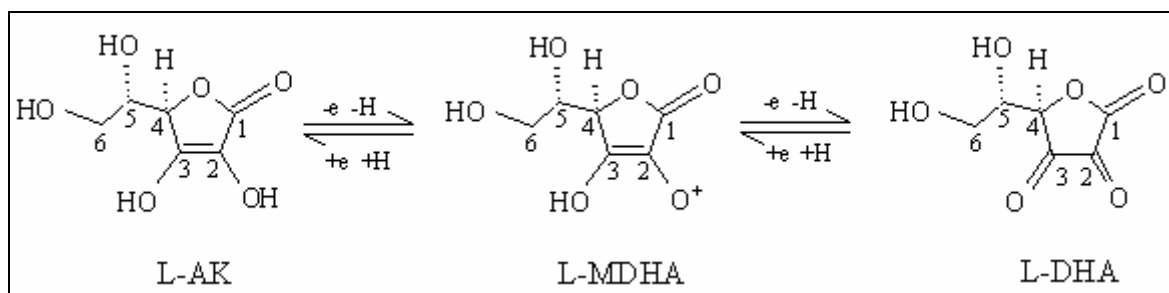
Slika 7: Biosinteza AK pri rastlinah (Barata-Soares in sod., 2004)

2.4.3 Stabilnost in pretvorbe vitamina C

Na stabilnost antioksidantov v živilu v veliki meri vplivajo svetloba, kisik, temperatura in notranji dejavniki živil kot so vsebnost vode, vodna aktivnost, lipidna oksidacija, pH in vsebnost določenih kovinskih ionov (Miquel in sod., 2004). Že sama obdelava živila in skladiščenje močno zmanjša količino naravnih antioksidantov. Mehanski postopki kot so rezanje in lupljenje močno inducirajo encimsko razgradnjo antioksidantov.

2.4.3.1 Askorbinska kislina

Najbolj značilna kemijska lastnost L-AK je reverzibilna oksidacija v L-DHA preko L-monodehidroaskorbinske (L-MDHA) kisline kot je prikazano na sliki 8. L-dehidroaskorbinska kislina se ireverzibilno hidrolizira v diketo-L-gulonsko kislino, ki nima več funkcije vitamina (Matthews in Hall, 1978). Določene vrste zelenjave so dovzетnejše za oksidacijo L-AK. L-DHA in vmesni produkt L-MDHA imata enakovredno proti skorbutno aktivnost L-AK (Kuellmer, 1999).



Slika 8: Redoks sistem vitamina C (Kuellmer, 1999)

V bazičnih raztopinah je L-AK ob prisotnosti kisika manj stabilna kot pa v kislih raztopinah. AK je najbolj obstojna v metafosforni kislini (MFK), ki zelo upočasnjuje oksidacijo AK tudi v prisotnosti Cu^{2+} in Fe^{3+} ionov. V kislem pH oksidacijo askorbinske kisline z Cu^{2+} in Fe^{3+} kot dober kompleksant upočasnjuje tudi citrat (Poredoš, 2006). L-AK je se ob prisotnosti kisika oksidira proporcionalno z dvigovanjem temperature. Oksidacija poteče preko začetnega produkta L-DHA, ki ireverzibilno hidrolizira v 2,3-dioksi-L-gulonsko kislino. Ta se naprej oksidira v oksalno kislino in L-treonično kislino. Nekateri kovinski ioni, med njimi Cu (II) in Fe(III), katalizirajo oksidacijo L-AK. Oksidacija AK je reakcija prvega reda. Logaritem koncentracije AK se linearno zmanjšuje s časom. Hitrost reakcije je večja pri večjem dodatku redoks aktivnih ionov (Imer in sod., 2003). Oksalna kislina in Cu (II) tvorita kelatni kompleks, ki preprečuje tvorbo kompleksa med AK in Cu (II), zato oksalna kislina uspešno preprečuje oksidacijo L-AK. L-AK lahko stabiliziramo z MFK, amino kislinami, 8-hidroksikinolinom, glikoli, sladkorji in trikloroocetno kislino (Kuellmer, 1999).

2.4.3.2 Dehidroaskorbinska kislina

Pri fiziološkem pH prihaja do hidrolize DHA v diketogulonat, ki ga ne moremo reducirati nazaj v AK in posledično nima vitaminskega učinka (Deutsch, 2000). Podobno kot pri fiziološkem pH v organizmu se DHA do diketogulonata razgrajuje v mešanici uporabljeni za paraenteralno prehrano. Na razgradnjo vpliva temperatura, medtem ko redoks aktivni kovinski ioni nimajo vpliva. Z višanjem temperature se večja hitrost razpada DHA. Razgradnja DHA poteka v okolju brez kisika, kar pomeni, da razpad DHA v diketogulonat ni odvisen od prisotnosti kisika, kot je to pri AK (Gibbons in sod., 2001). Mehanizem oksidacije AK, ki poteka preko DHA, so preučevali tudi v rastlinah in z različnimi elektroforetskimi tehnikami detektirali več razgradnih produktov (Green in Fry, 2005).

Glede na številne raziskave, kjer so proučevali stabilnost DHA v modelnih raztopinah, so prišli do zaključka, da na hitrost razpada vpliva temperatura in pH. Pri pH nižjem od 5 je DHA relativno stabilna, medtem ko pri pH višjem od 5 razpade relativno velik delež že po nekaj urah (Bode in sod., 1990).

2.4.4 Vitamin C v živilih

Vitamin C najdemo pretežno v živilih rastlinskega izvora (preglednica 4 in 5), kjer je vsebnost pogojena z različnimi faktorji kot so genotipske razlike, del in vrsta rastline, osvetlitev v fazi rasti, stopnja zrelosti, klima, metode obiranja, skladiščenje in ravnanje po skladiščenju (Lee in Kader, 2000; Mali, 1999). Vitamin C lahko dobimo s hrano v dveh oblikah, in sicer kot L-AK, ki je močan reducent, in v oksidirani obliki kot L-DHA. Čeprav se vitamin C nahaja v telesnih tekočinah večinoma v reducirani obliki, imata tako AK kot DHA biološko aktivnost (Basu in Dickerson, 1996). Več kot 90 odstotkov vitamina C dobimo iz sadja in zelenjave.

2.4.4.1 Vsebnost vitamina C v živilih

Vsebnost vitamina C v zelenjavi in sadju je različna in je odvisna tudi kultivarja, vrste tkiva in izvora sadeža. Razlike v vsebnosti vitamina C so podane v preglednici 4.

Preglednica 4: Vsebnost vitamina C (mg/100 g) v nekaterem sadju in zelenjavi (Vanderslice in sod., 1990)

proizvod	AK	DHA	celotni vit.C
banana	4,5-7,7	3,3-7,7	12-19
brokoli	89,0-148,0	7,7-15,2	97-163
zelje	60,7-67,0	5,7-6,7	66-74
rdeča grenivka	8,7-27,0	4,0-7,3	13-31
pomaranča	44,0-78,0	3,2-12,0	52-78
krompir	6,7-23,7	3,3-5,3	11-27
špinača	22,5-67,7	1,3-3,2	25-70
paradižnik	15,7-17,3	2,0-4,3	18-21

Zelje je v Sloveniji poleg fižola in krompirja najbolj razširjena vrtnina (Mihajlovič, 1997) in tudi med pomembnejšimi viri vitamina C. Različni avtorji navajajo različne vsebnosti vitamina C v zelju. Določene vrednosti se gibljejo največkrat v območju od 20-100 mg/100 g zelja (Černe in Vrhovnik, 1992; Rubatzky in Yamaguchi, 1997; Kobovc, 2000; Baloh, 2002). Od rastlin so z vitaminom C bogate še acerola, šipek, hibiskus, črni ribez, pomaranča, limona, jagoda, kivi, zelje, krompir ter večina zelene listnate zelenjave (Basu in Dickerson, 1996).

Podobno kot pri zelju so tudi pri jagodah določili različne vsebnosti AK. Nelson in sod. (1972) so ugotovili, da vsebnost AK v šestih različnih kultivarjih jagod s štirih različnih lokacij variira od 20 do 70 mg/100 g sadja.

Lee in sod. (1995) poročajo o razlikah v vsebnosti AK pri petih svežih kultivarjih paprike, kjer so določili od 60 do 170 mg AK/100 g zelenjave. Vsebnost L-AK v sveži papriki je odvisna od kultivarja, vrste, klimatskih razmer in dozorelosti sadeža (Mali, 1999).

V citrusih vsebuje lupina 4-krat več AK kot pa sok (Nagy, 1980). Po navadi vsebuje lupina več AK, zaradi zaščite sadeža pred zunanjimi stresnimi dejavniki (Lee in Kader, 2000).

2.4.4.2 Vpliv pridelave na vsebnost vitamina C

Klimatske razmere, kamor štejemo tudi svetlobo, povprečno temperaturo ter pridelovalno prakso, imajo velik vpliv na kemijsko sestavo kmetijskih pridelkov (Klein in Perry, 1982).

2.4.4.2.1 Svetloba

Čeprav svetloba ni direktno potrebna za sintezo askorbinske kisline v rastlinah, količina in intenziteta svetlobe v fazi rasti pomembno vplivata na količino formirane AK. Sadež, ki je neposredno izpostavljen sončni svetlobi, ima več vitamina C od sadeža, ki je v senci, čeprav oba izvirata z iste rastline. V splošnem velja, da manj ko je svetlobe, manj AK vsebujejo rastlinska tkiva (Harris, 1975).

2.4.4.2.2 Temperatura

Temperatura v fazi rasti vpliva na sestavo rastlinskih tkiv. Vsa razpoložljiva toplota in nihanja v visoki in nizki temperaturi pomembno vplivajo na stopnjo rasti in kemijsko sestavo kmetijskih pridelkov. Mandarine vsebujejo več vitamina C, če rastejo pri nižjih temperaturah (20-22 °C čez dan, 11-13 °C ponoči) kot pa pri višjih temperaturah (30-35 °C čez dan, 20-25 °C ponoči). Grenivke, ki rastejo v obalnih predelih Kalifornije, vsebujejo v splošnem več vitamina C od sadežev, ki rastejo v puščavskih predelih Kalifornije in Arizone (Lee in Kader, 2000).

2.4.4.2.3 Pridelovalna praksa

S pridelovalno prakso kot je rezanje in redčenje rastlin ter z uporabo pesticidov in gnojil, vplivamo na donosnost pridelka, kar pa lahko vpliva tudi na prehransko kakovost sadja in zelenjave. Rast rastlin ponavadi pospešujemo z uporabo dušikovih gnojil, kar ima lahko za posledico povečano koncentracijo dušik vsebujočih ionov v določenih tkivih. Dušikova gnojila pospešujejo rast listja in posledično zmanjšajo dostopnost svetlobe in akumulacijo AK v senčnih predelih rastline. Odkar intenzivno uporabljamo dušikova gnojila, se povečuje koncentracija NO_3^- in zmanjšuje vsebnost AK, kar ima za posledico dvojni negativen efekt na kakovost rastlinske hrane (Mozafar, 1993).

Augustin (1975) poroča o znižanju vsebnosti AK v nekaterih kultivarjih krompirja, zaradi povečane uporabe dušikovih gnojil.

Lisiewska in Kmiecik (1996) poročata, da povečanje gnojenja z dušikovimi gnojili z 80 na 120 kg/ha zmanjša vsebnost vitamina C v cvetači za 7 odstotkov.

V sokovih iz pomaranč, mandarin, limon in grenivk so lahko manjše vrednosti vitamina C, zaradi uporabe prevelikih količin dušikovih gnojil, medtem ko povečana uporaba kalijevih gnojil zviša raven AK (Nagy, 1980).

Pri belem zelju in solati hrustljavki so ugotovili, da je pri večjih zalogah dušika manjša vsebnost AK (Freyman in sod., 1991; Sorensen in sod., 1994). Nasprotno pa nekatere druge študije kažejo na pozitivno korelacijo med zalogami dušika in vitaminom C (Muller in Hippe, 1987). Razlike med zelenjavo naj bi bile posledica razlik v načinu rasti in rastnih pogojih.

Glede na večino raziskav lahko posplošimo, da pridelki, ki rastejo z manj zaloge dušika in so manj pogosto gnojeni vsebujejo več vitamina C in manj nitratov.

Uporaba rastlinskih hormonov giberelinov pri zelenem čaju pozitivno vpliva na vsebnost vitamina C, saj ga poveča za 18 odstotkov (Liang in sod., 1996).

2.4.4.2.4 Zrelost

Zrelost je eden od ključnih faktorjev, ki določa kakovost sadja in zelenjave. AK narašča z zorjenjem na rastlini pri marelicah, breskvah in papaji, pada pa pri jabolkih in mangu. Vitamin C se kopiči v sadju, dokler to ne doseže ustrezne stopnje zrelosti. Obratno je pri ne dozorelih semenih fižola in graha, kjer je na začetku več vitamina C kot pa potem, ko semena dozori do konca (Bassu in Dickerson, 1996).

Zelen paradižnik, ki ga zorimo med skladiščenjem pri 20 °C do užitnega, vsebuje manj AK kot skladiščen že zrel paradižnik (Kader in sod., 1977).

Delež askorbinske kisline pri rdeči papriki se v fazi, ko pridobi tipično rdečo barvo, poveča za 30 odstotkov (Howard in sod., 1994).

Lee in sod. (1982) poročajo, da večji in zrelejši grah vsebuje manj AK od manjšega in manj zrelega.

Nezreli citrusi vsebujejo večje koncentracije vitamina C kot zreli sadeži. Čeprav koncentracija vitamina C v času zorenja citrusov pada, skupni vitamin C na račun povečevanja plodov narašča (Nagy, 1980).

2.4.4.3 Vplivi skladiščenja na vsebnost vitamina C

Sadje in zelenjava doživlja spremembe tudi po skladiščenju. Teh sprememb se ne da ustaviti, lahko pa jih kontroliramo z različnimi metodami. V osnovi ima sveže skladiščeno sadje in zelenjava več vitamina C kot že dalj časa skladiščeno. Med potrošniki narašča zanimanje za kupovanje sadja in zelenjave direktno s tržnic, zaradi faktorja svežosti. Raziskave so pokazale, da so nekatere vrste zelenjave, ki so bile kupljene na trgu vsebovale več vitamina C kot pa zelenjava, kupljena v trgovinah (Bushway in sod., 1989). V svežem sadju in zelenjavi se nahajata obe obliki AK, vendar je vsebnost L-DHA zelo majhna (Vanderslice in sod., 1990). Izgube AK pri sadju in zelenjavi so najbolj pogoste v fazi skladiščenja. Faktorji, ki vplivajo na spremembe v vsebnosti vitamina C so temperatura, relativna vlažnost, mehanske poškodbe, kemijska obdelava, sterilizacija-radiacija, skladiščenje (KA in MA) ter razne procesne metode (Lee in Kader, 2000; Favell, 1998)

Pantos in Markis (1973) sta zabeležila padanje vsebnosti AK pri zorenju paradižnika v fazi skladiščenja.

2.4.4.3.1 Temperatura

Regulacija temperature je med najpomembnejšimi orodji za ohranjanje ter podaljšanje obstojnosti in kakovosti sadja in zelenjave. Neustrezna temperatura skladiščenja se lahko odraža kot direktna izguba vode, prehranske kakovosti, izguba okusa ali kot propadanje sadežev.

Kader in Morris (1978) sta ugotovila, da zakasnitve pri ohlajanju paradižnikov za en dan pri 30 °C in 40 °C, privedejo do 5 in 12 odstotnih izgub askorbinske kisline.

Tudi Zepplin in Elvehjeim (1944) sta ugotovila, da listnata zelenjava shranjena na 6 °C izgubi 10 odstotkov AK v šestih dneh, medtem ko shranjena na sobni temperaturi izgubi 20 odstotkov askorbinske kisline v samo dveh dneh.

Izgube vitamina C pri ohrovtu, špinači in zelju so večje pri višjih temperaturah (Ezell in Wilcox, 1959). Vsi citrusi izgubljajo vitamin C na visoki temperaturi, vendar so te izgube večje pri zelenjavi kot pri kislem sadju, saj je AK bolj stabilna pri nizkem pH kot pri višjem pH (Nagy, 1980).

V rezinah kivija skladiščenih na 5 °C in 10 °C pride do zmanjšanja vsebnosti AK in porasta DHA. Skupen vitamin C se v šestih dneh zmanjša do 20 odstotkov v primerjavi z ne narezano kontrolo (Agar in sod., 1999).

Wu in sod. (1992) so poročali, da AK pri zelenem fižolu, hranjenem na 5° C, po treh dneh intenzivno pade, medtem ko pri brokoliju ostane nespremenjena (stabilna).

Esteve in sod. (1995) so prikazali porast askorbinske kisline pri zelenih beluših po dveh dneh skladiščenja pri 4°C.

Pri krompirju hranjenem na 5-6 °C osem mesecev so izgube AK od 20-60 odstotkov (Keijbets in Ebbenhorst-Seller, 1990).

Pri bistrem pomarančnem soku se vsebnost vitamina C med skladiščenjem zmanjšuje, še posebej pri neprimerni temperaturi. Produkti, ki nastanejo ob razgradnji vitamina C, sodelujejo kot prekursorji pri neencimatskem porjavenju bistrrega pomarančnega koncentrata (Lee in Chen, 1998).

Nekateri pridelki (banane, sladek krompir, ananas), ki so občutljivi na nizke temperature, lahko utrpijo posledice, ki se kažejo kot izgube AK, ki pa niso vidne na zunaj (Miller in Heilman, 1952).

2.4.4.3.2 Kemijska obdelava

Za zmanjšanje fizioloških sprememb in ohranjanje trdnosti jabolk in češenj se lahko uporabi kalcijeva kopel. Paradižnik in jabolka, ki so tretirana s kalcijevim kloridom, imajo večjo vsebnost vitamina C (Bangerth, 1976).

Mohamed in sod. (1993) so ugotovili povečanje vsebnosti AK in ohranitev barve pri dehidriranem ananasu in guavi, če je bilo sadje prej tretirano s cisteinom.

Watada in sod. (1976) so ugotovili, da se vsebnost AK pri zelenem paradižniku poveča, če v času zorenja paradižniku dodamo etilen, za razliko od tistega paradižnika, ki dozori brez dodanega etilena.

2.4.4.3.3 Radiacija

Ionizirajoče sevanje se lahko uporablja za zaviranje rasti mikroorganizmov, nadzor insektov ali za zakasnitev porjavenja različnega sadja in zelenjave.

Mitchell in sod. (1992) so preučevali učinek radiacije na kmetijske pridelke in prišli do zaključka, da relativno nizke doze sevanja okoli 300 Gy nimajo signifikantnega vpliva na AK in DHA. Podobno velja tudi za doze do 1 kGy, ki niso značilno vplivale na vsebnost vitamina C v sadju ali zelenjavi (Lee in Kader, 2000).

2.4.4.3.4 Kontrolirana in modificirana atmosfera

V splošnem lahko z ustrezno atmosfero zmanjšamo fiziološke in kemijske spremembe sadja in zelenjave v fazi skladiščenja.

Vsebnost vitamina C v sveže narezanih rezinah kivija, ki so izpostavljene atmosferi z 0,5-4 % kisika, po 12 dneh skladiščenja pade za 7, 12 in 18 odstotkov. V primeru, da so rezine kivija v atmosferi z 20 % kisika in 5, 10 ali 20 % ogljikovim dioksidom, pade vsebnost vitamina C za 14, 22 ali 34 odstotkov glede na začetno vrednost. Običajno velike koncentracije ogljikovega dioksida v skladiščni atmosferi pripomorejo k hitrejšemu zmanjševanju vsebnosti vitamina C v sveže narezanih rezinah kivija. Povečane izgube vitamina C so lahko posledica vpliva atmosfer na oksidacijo AK ali inhibicijo redukcije DHA v AK (Agar in sod., 1999).

Skladiščenje hrušk v atmosferi z 2 % kisikom in 10 % ogljikovim dioksidom je imelo za posledico 60 odstotno izgubo AK (Veltman in sod., 1999).

Paradis in sod. (1996) so ocenjevali prehransko kakovost vzorcev brokolija, ki so jih skladiščili pri 4 °C na zraku ali v kontrolirani atmosferi (2 % O₂ in 6 % CO₂). Ugotovili so, da se vsebnost vitamina C zmanjšuje hitreje na zraku kot v kontrolirani atmosferi.

Barth in sod. (1993) poročajo, da se s pakiranjem brokolija v nepropustno embalažo po 4 dneh ohrani več vitamina C, klorofila in vode v primerjavi z brokolijem, ki je skladiščen na zraku.

V papriki pakirani v spremenjeno atmosfero (5 % O₂ in 4 % CO₂) se je pri 4 °C v 15 dneh ohranilo približno 80 odstotkov AK, medtem ko so v papriki hranjeni na zraku določili le 60 odstotkov začetne vrednosti. Modificirana atmosfera naj bi vplivala predvsem na počasnejšo pretvorbo AK v DHA (Howard in sod., 1994; Howard in Hernandez-Brenes, 1998).

Tudi Gil in sod. (1999) poročajo, da pakiranje zelenjave kot je špinaca v embalažo s takšno prepustnostjo, da se po enem tednu vzpostavi razmerje 6 odstotkov kisika proti 14 odstotkom ogljikovega dioksida, rezultira v manjših izgubah vitamina C (AK + DHA), kot pri perforirani embalaži.

2.4.4.3.5 Procesne metode

Askorbinska kislina je izredno občutljiva na kemijsko in encimsko oksidacijo v procesih toplotne obdelave in skladiščenja. Toplotna obdelava pri povišani temperaturi je poglavitni vzrok za zmanjševanje vsebnosti antioksidantov v hrani (Kaur in Kapoor, 2001).

Mehanska obdelava:

Moretti in sod. (1998) so poročali, da mečkanje značilno vpliva na kemijsko sestavo perikarpa in prekatnega tkiva pri paradižniku, saj se vsebnost vitamina C zmanjša za 15 odstotkov v primerjavi z nepoškodovanim paradižnikom.

Vsebnost AK v narezani solati ledenki je odvisna od metode rezanja. Večje vsebnosti AK so v vzorcih lističev, ki so pripravljene s trganjem. Solata, rezana z ostrim nožem, vsebuje približno 20 % manj AK kot trgani vzorci. Prav tako solata, ki je narezana z večnamensko napravo z ostrimi rezili, vsebuje do 60 % manj askorbinske kisline od trgane solate. V

primeru topega noža v večnamenski napravi se izgube vitamina C povečajo še za 10 odstotkov (Barry-Ryan in O'Beirne, 1999).

Pretirano čiščenje listnate zelenjave ima lahko za posledico izgubo zunanje zelene plasti (povrhnjice), ki vsebuje več vitaminov kot notranja. Pranje kitajskega zelja ima večji vpliv na izgubo vitamina C kot enajst dnevno skladiščenje pri 4 °C (Klieber in Franklin, 2000).

Izgube vitamina C pri zelenjavi se pojavijo v primeru večkratnega rezanja ali trganja pri zelju, solati, korenju in drugi zelenjavi, ki se prodaja v solatnih mešanicah (Mozafar, 1994).

Rdeče jagode in drugo jagodičevje zelo hitro izgubi del vitamina C, če se jih poškoduje (zmečka) v času skladiščenja (Ezell in sod., 1947). Mondy in Leja (1986) sta odkrila zmanjšano vsebnost AK pri obdrgnjenih gomoljih krompirja v primerjavi s celimi gomolji.

Termična obdelava:

V zmrznjeni špinaci, ki je blanširana s paro in/ali mikrovalovi, je vsebnost vitamina C večja kot pri špinaci, ki je blanširana z vodo. Izgube vitamina C so pri blanširanju z vodo posledica izluževanja v okoliško vodo in delno toplotne razgradnje. Pri blanširanju z infrardečo svetlobo in radio valovi so izgube vitamina C manjše (Ponne in sod., 1994).

Na izgube vitamina C pri kuhanju vpliva način, metoda in čas kuhanja. V kuhanem krompirju se zmanjša vsebnost vitamina C za približno 30 odstotkov, če krompirja ne ohladimo takoj, se po eni uri vsebnost zmanjša še za dodatnih 10 odstotkov (Hagg in sod., 1998).

Howard in sod. (1999) so poročali, da blanširanje korenja in zelenega fižola s paro privede do zanemarljive izgube AK, pri brokoliju pa so izgube skupne AK do 30 odstotkov. Kuhanje z mikrovalovi minimalno vpliva na vsebnost AK.

Fižol in paprika, ki nista blanširana in sta skladiščena pri temperaturi -22 °C, prej kot v enem mesecu izgubita praktično ves vitamin C, čeprav ju vakuumsko zapakiramo v vreče. Blanširanje zmanjša vsebnost vitamina C za 28 %, zaradi oksidacije vitamina v procesu blanširanja, a hkrati omeji nadaljnjo zmanjšanje med zmrzovanjem na 3 % (vakuumsko zapakirano) in 10 % (brez vakuuma) v dvanajstih mesecih (Oruna-Concha in sod., 1997).

Izgube vitamina C pri blanširanju brokolija so približno 40 odstotne in pri cvetači približno 30 odstotne. Po naknadnem celoletnem skladiščenju pri temperaturi -30 °C se vsebnost vitamina C le malo zmanjša (Lisiewska in Kmiecik, 1996).

2.4.5 Prehranski pomen vitamina C

Vitamin C je izrednega pomena za človeka. Njegovo pomanjkanje v telesu lahko privede do različnih bolezenskih stanj, zato so strokovnjaki določili priporočene dnevne vnose vitamina C za različne starosti ljudi, ki preprečujejo pojav znakov bolezni. Dnevne odmerke vitamina C so določili na osnovi preprečevanja skorbuta v času 4 tednov; z določitvijo praga za izločanje v urinu; na osnovi ocene o absorpciji vitamina C; z določanjem izgub, povezanih s pripravo hrane in na osnovi ocenjenih hitrosti izločanja, presnavljanja in razgradnje (Levine, 1999).

Za odrasle ljudi, nekadilce, so priporočeni dnevni odmerki vitamina 100 mg. Pri ljudeh, ki kadijo, se vrednosti povečajo za 15 mg vitamina C dnevno ter pri doječih materah za 50 mg dnevno (preglednica 5).

Diete z 200 mg vitamina C ali več na dan imajo obrambno funkcijo, saj ščitijo telo pred rakom debelega črevesa, želodca, pljuč in ustne votline (Yong in sod, 1997). Diete z nadomestki vitamina C naj ne bi imele vpliva na zmanjševanje pogostnosti raka na želodcu in danki (Greenberg in sod., 1994).

Strokovnjaki na področju vitamina C priporočajo do 200 mg vitamina C dnevno, kajti človeške celice niso sposobne absorbirati večjih količin kot je navedeno (Levine, 1999).

Preglednica 5: Priporočeni dnevni vnosi vitamina C (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004)

STAROSTNE GRUPE	VNOS VITAMINA C		
	mg/dan	mg/MJ ¹ (hranilna gostota snovi)	
		m	ž
dojenčki			
0-4 mesece ²	50	25	26
4-12 mesecev	55	18	19
otroci			
1-4 leta	60	13	14
4-7 let	70	11	12
7-10 let	80	10	11
10-13 let	90	10	11
13-15 let	100	9	11
mladostniki in odrasli³			
15-19 let	100	9	12
19-25 let	100	9	12
25-51 let	100	10	13
51-65 let	100	11	14
65 let in več	100	12	14
nosečnice			
od 4. meseca	110		12
doječe matere ⁴	150		14

Legenda:

¹ Izračunano za mladostnike in odrasle s pretežno sedečo dejavnostjo

² Pri tem gre za ocenjeno vrednost

³ Kadijci 150 mg/dan

⁴ Z upoštevanjem s 750 mL materinega mleka izločene količine vitamina C

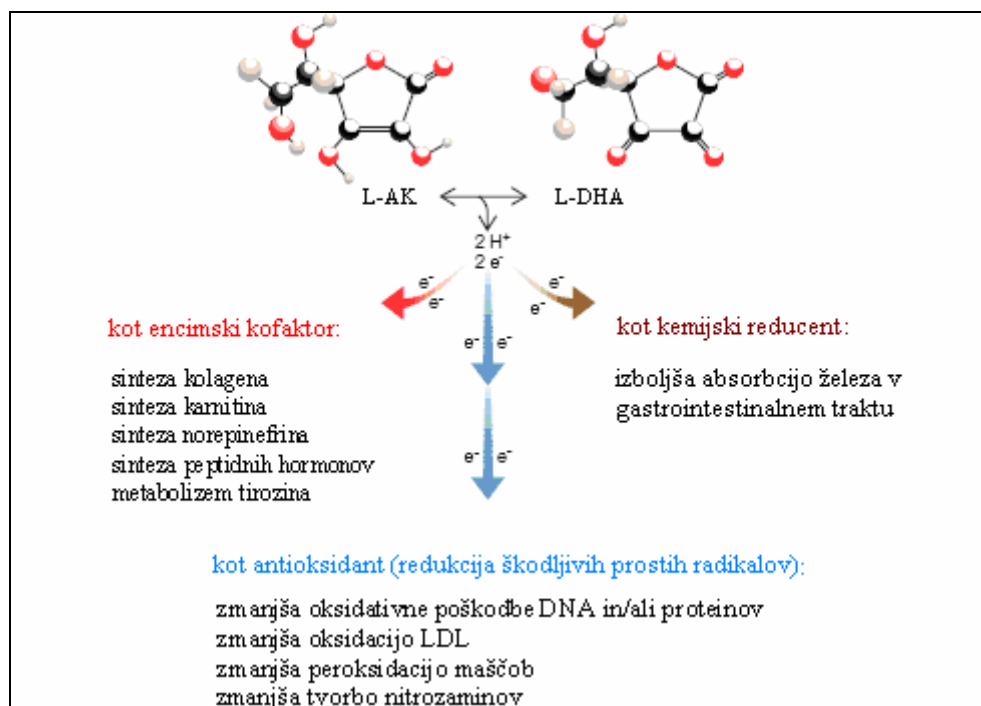
2.4.6 Askorbinska kislina kot dodatek živilom

V svetu se AK uporablja kot prehrambeni dodatek, tako zaradi povečanja zaužitja vitamina, kakor tudi zaradi antioksidativne aktivnosti in stabilizacije živila med skladiščenjem (Kobovc, 2000). Askorbinsko kislino uporabljamo tudi kot dodatek predvsem pri predelavi sadja, s katero inhibiramo encimsko oksidacijo fenolnih spojin, ki povzročajo porjavenje.

Askorbinska kislina je na voljo kot vitaminski dodatek v obliki tablet ali praška, v velikem razponu odmerkov. Absorpcija AK iz multivitaminskih dodatkov je odvisna od prisotnosti ostalih komponent, odmerka in hrane, ki jo zaužijemo (Levine, 1999).

2.4.7 Funkcija vitamina C

Funkcije vitamina C v telesu so prikazane na sliki 9. Askorbinska kislina je najpomembnejši antioksidant v ekstracelularni tekočini. Organizem varuje pred reaktivnimi prostimi radikali, saj z njimi reagira in s tem ščiti biološko pomembne molekule pred poškodbami. Kot antioksidant je AK vključena tudi v različne cikle, v katerih se regenerirajo antioksidanti (Guyton, 1988). Askorbinska kislina je specifičen donor elektronov v nekaterih encimskih reakcijah, ki potekajo pri hidrolizaciji kolagena in pri biosintezi karnitina (Levine in sod., 1999). AK kot reducent izboljša absorpcijo železa, saj reducira Fe (III) v Fe (II), ki je mnogo bolj topen in se zato lažje absorbira. Ljudje, ki imajo povišano raven železa v krvi, zaradi bolezni (hemokromatoza), se morajo izogibati vitaminu C (Cook s sod., 1984). Ena izmed pomembnih funkcij AK je zaščita LDL holesterola pred oksidacijo. Zadnja lahko privede do bolezni srca in ožilja (Balz, 1999).



Slika 9: Funkcije vitamina C (Levine, 1999)

2.4.8 Vitamin C in glukozinolati

Glukozinolati so žveplo vsebujoči glikozidi, ki se nahajajo predvsem pri križnicah (Verkerk, 2002). Največje koncentracije glukozinolatov se nahajajo v družini *Brassicaceae* (križnice), *Resedacea* in *Capparaceae* (Oerlemans in sod., 2006). Rezanje večine zelenjave iz družine *Brassicaceae* in shranjevanje na zraku znatno poveča vsebnost nekaterih indolil

glukozinolatov tudi do 15-krat. V zelju se, v odvisnosti od sorte, vsebnosti skupnih glukozinolatov gibljejo med 18 in 602 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ (Verkerk, 2002).

Pomembno funkcijo med derivati indolov ima askorbigen (ABG), ki nastane z encimsko hidrolizo indol glukozinolata imenovanega glukobrasicin v več spontanah reakcijah med indol-3-karbinolom in AK. Indol-3-karbinol in ABG veljata kot najbolj učinkoviti spojini, ki imata proti rakavo delovanje (Hrnčič in sod., 1998). Prekurzorji teh spojin se nahajajo večinoma v križnicah, ki so povezane z zmanjšanjem tveganja za nastanek raka na prebavilih (Park in Pezzuto, 2002).

Poskusi, ki so jih delali z modelnimi raztopinami v simulacijskih *in vitro* pogojih med procesiranjem zelenjave so pokazali, da stopnja tvorjenja ABG narašča z nižanjem pH raztopine. ABG je bolj stabilen v kislih medijih in nestabilen pri višjih temperaturah. Med razpadom askorbigena v kislem mediju preostane več L-AK (Hrnčič in sod., 1998).

2.4.9 Analitika vitamina C

Obstaja veliko analitičnih metod s katerimi lahko določamo vsebnost vitamina C (AK in DHA) v prehranskih, bioloških in farmacevtskih vzorcih (Kuellmer, 1999) : UV absorpcija, redoks reakcije, elektrokemijske in encimsko oksidacijske metode, kromatografske metode (HPLC), spektrofotometrične metode, biološke metode s pomočjo živali in ostale.

2.4.9.1 Kromatografske metode

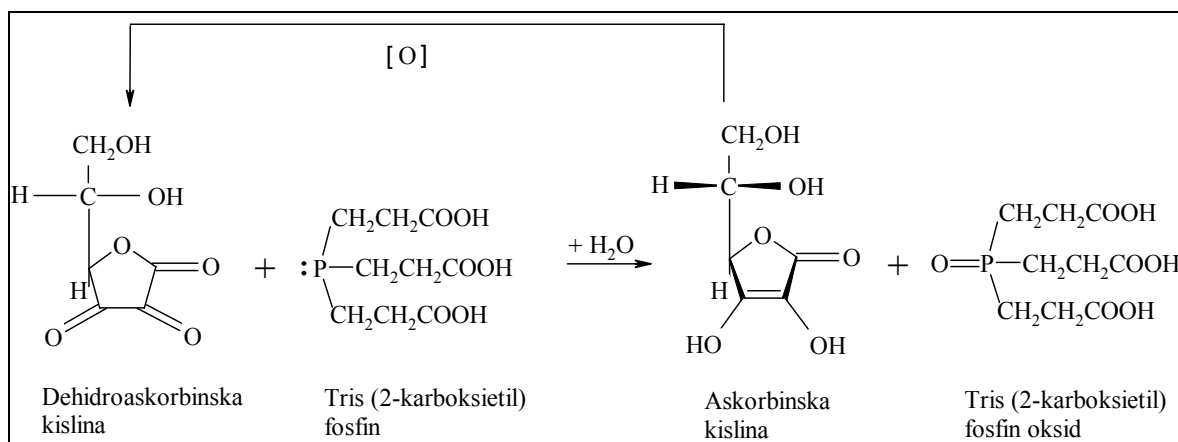
Kromatografske metode, na primer HPLC (visokotlačna tekočinska kromatografija), so primerne za določanje tako AK kot tudi DHA. Obe spojini lahko določamo direktno ali indirektno. Pomembno je, da hkrati merimo absorbanco pri 254 nm, kjer najbolj absorbira AK in pri 210 nm, kjer absorbira DHA (Nisperos-Carriedo in sod., 1992). Kljub hkratnemu merjenju absorbance in kljub hkratni uporabi dveh kolon pri direktnem določanju DHA z metodo HPLC in UV-Vis detektorjem se v največji meri pojavlja problem občutljivosti metode. Najpogosteje se DHA določa indirektno s predhodno redukcijo in merjenjem razlike med AK v vzorcu pred in po redukciji. Za redukcijo DHA v AK se uporablja različne reducente na primer homocistein, treitol, L-cistein, ditiotreitol (DTT) in tris(2-karboksietil)fosfin (TCEP) (Gökmen in sod., 2000).

DTT: Shema redukcije DHA v AK je prikazana na sliki 8. Količina dodatka reducenta DTT je predvsem odvisna od koncentracije DHA. Pri pričakovani vrednosti DHA 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dodamo v vzorec 0,1 mg DTT na 1 mL vzorca. Z večanjem koncentracije reducenta se skrajšuje čas reakcije. Redukcija normalno poteka 90-120 minut pri sobni temperaturi (Gökmen in sod., 2000).

DTT učinkovito pretvarja DHA v AK le pri nevtralnih ali rahlo kislih pH vrednostih. Optimalen pH za redukcijo z DTT je med 7,1 in 8,0, vendar ga lahko uporabimo tudi pri

pH med 6,5 in 9,0. Ker pa sta DHA in AK pri teh vrednostih pH nestabilna, DTT ni najbolj optimalen reducent (Lykkesfeldt, 2000).

TCEP: Za redukcijo pri nizkih pH vrednostih je možna uporaba novejšega reducenta TCEP, ki dobro deluje v širokem spektru pH. Vzorci reducirani s TCEP so stabilni tudi po 96 urah, ob redukciji z DTT pa je bila opažena 3,5 odstotna izguba po 24 urah oziroma 20 odstotna po 48 urah. Čas za redukcijo z reagentom TCEP s končno koncentracijo 0,25 mmol/L v vzorcu je približno 90 minut pri sobni temperaturi (Wechtersbach, 2005). Učinkovitost redukcije s TCEP je skoraj enaka pri pH 6,2 in 4,3. DTT je pri pH vrednosti 4,3 skoraj neučinkovit (Lykkesfeldt, 2000) (slika 10).



Slika 10: Redukcija DHA v AK z reducentom TCEP (Lykkesfeldt, 2000)

Nekatere od kromatografskih metod ločijo AK od njenih izomer kot je eritrobična kislina in oksidacijskih produktov kot je diketogulonska kislina. Detekcija poteka preko fluorescence, UV absorpcije ali elektrokemičnih metod..

Za določevanje AK se uporabljajo tudi ionsko izmenjevalna kromatografija, papirna, plinska in tanko plastna kromatografija.

2.4.9.2 Spektrofotometrične metode

Specifična metoda za analizo AK v bioloških vzorcih temelji na oksidaciji AK v DHA z 2,4-dinitrofenil hidrazinom. Pri uporabi barvila 2,4-dinitrofenil hidrazina ob reakciji z AK nastane oranžno obarvan osazon, katerega absorbanco merimo v spektru rdeče svetlobe. Na podoben način spektrofotometrično določamo AK z redukcijo Fe(III) v Fe(II), ki reagira z 1,10-fenantrolinom, ki absorbira svetlobo pri 515 nm.

Askorbinsko kislino v farmacevtskih preparatih lahko določamo spektrofotometrično s »flow injection« analizo. Reagent je rjavi mono(1,10-fenatrolin)-Fe(III) kompleks, ki se oksidira v tris(1,10-fenatrolin)-Fe(II) kompleks. Dienolna skupina AK se obnaša redukcijsko, kar lahko z absorbanco preko tris kelata tudi izmerimo pri valovni dolžini 510

nm. Metoda zagotavlja enostaven, hiter, občutljiv in precizen postopek. Je hitra in zelo ekonomična, saj je poraba reagenta nizka (Memon, 2000).

Spektrofotometrično določanje DHA v UV območju je težko izvedljivo zaradi dejstva, ker DHA zelo dobro absorbira svetlobo pri valovnih dolžinah pod 200 nm. Tam, kjer ima DHA absorpcijski maksimum, pa svetlobo absorbirajo tudi druge moteče snovi kot so sestavine pufrov in raztopljeni plini, zato meritve niso natančne. Če želimo določiti vsebnost DHA, jo moramo najprej reducirati v AK (Deutsch, 2000). Askorbinska kislina za razliko od DHA dobro absorbira UV svetlobo v območju od 200-300 nm. Absorpcijski maksimum je odvisen od pH in se giblje od 245 nm (pH 2) do 294 nm (pH 10) (Belitz in Grosch, 2004). Če želimo izmeriti koncentracijo AK pri določeni valovni dolžini, moramo najprej prilagoditi pH raztopine.

3 MATERIALI IN METODE DELA

3.1 MATERIALI

Zelje

V poskusih smo za model uporabljali glave zelja (*Brasica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) var. *capitata*), kultivarja Galaxy. Vse zelje, ki smo ga potrebovali za poskuse smo dobili na kmetiji Janež iz okolice Ljubljane.

Material

- Silikonske cevke
- Rotameter (Supelco 23320-U)-rotameter kit
- Jeklenke s plini (100 % O₂, 60 % O₂, sintetični zrak)
- Ventili za jeklenke-Messer
- Posode z obrusom
- Steklene cevke z obrusom
- Mikrocentrifuge-Eppendorf (1,5 mL; Plastibrand-Brand 780500)
- Centrifugirke (15 mL; 50 mL; TRP)
- Steklene vial (32x11,6 mm (KG); Supelco 854165)
- Pokrovčki z navojem za steklene vial
- Kromatografska kolona (SynergieC₁₈ 250 mm x 4 mm)
- Pipete, mikropipeta (100-1000 µL; transferpette-brand)
- Liji
- Čaše
- Nastavki za pipete
- Nož
- Parafilm
- Filterpapir (črn trak)
- Erlenmajerice
- Filter (CA 0,45 µm)
- Brizge

Aparature

- Centrifugator-Eppendorf 5415C
- HPLC sistem- avtosempler (Marathon-XT), izokratska črpalka (K-1001), razplinjevalec (X-Act, Knauer UV-VIS detektor), osebni računalnik s EuroChrom 2002 programom
- Multipraktik-mga Gorenje S201 (Typ: CM11ST)
- Mesoreznica-Typ 250/S
- Tehnica-Mettler Toledo AB204-S
- Magnetno mešalo
- Homogenizator-ULTRA-TURRAX T 25 (Janke & Kunkel IKA[®]-Labortechnik)

Reagenti in kemikalije

- $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (barijev hidroksid)
- HCl (klorovodikova kislina)
- HPO_3 (metafosforna kislina)
- Tris(2-karboksi-etil)fosfin
- Mili Q voda
- H_2SO_4 (žveplena kislina)
- Fenolftalein
- Askorbinska kislina (standard: 99,7 %; Sigma)

3.2 NAČRT IN METODE DELA

3.2.1 Načrt dela

Vse analize smo opravili na Katedri za tehnologijo rastlinskih živil in na Katedri za kemijo Oddelka za živilstvo.

Zeljnate glave smo pred analizo za najmanj 48 ur hranili na temperaturi pri kateri smo izvajali eksperiment. Pred samim poskusom smo glave očistili, tako da smo jim odstranili kocen, umazane in poškodovane liste in jih narezali z nožem, večnamensko napravo ali mesoreznico na določeno debelino (slika 15). Naprej smo postopali pri vsakem poskusu različno. Pri vseh poskusih smo določali vsebnost vitamina C s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC).

Izvedli smo naslednje poskuse:

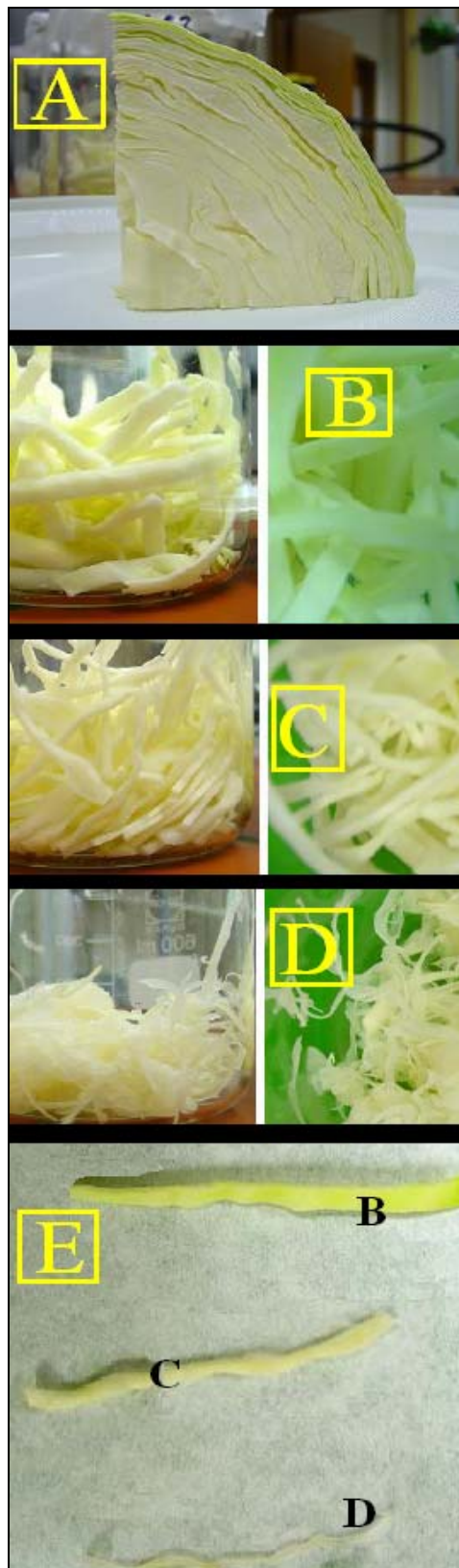
3.2.1.1 Vpliv debeline rezanja zelja in temperature na vsebnost vitamina C

Pripravili smo šest glav zelja. Tri glave smo hranili na sobni temperaturi 20 °C, preostale pa na 8 °C. Na določen dan smo analizirali le eno glavo. Izbrano glavo smo narezali na štiri enake dele. Četrtno glave smo pustili nedotaknjeno (slika 11-A). Vsako od preostalih treh četrtin smo z mesoreznico narezali na ustrezno debelino rezin (slika 11). Rezine smo prenesli v velike čaše in jih prekrili s parafilmom, ki smo ga naluknjali in tako omogočili izmenjavo plinov.

Zelje smo z mesoreznico rezali na tri načine:

- zelje narezano na debelino rezin 5 mm (slika 11-B)
- zelje narezano na debelino rezin 2 mm (slika 11-C)
- zelje narezano na debelino rezin 0,5 mm (slika 11-D)

Ustrezno količino zelja iz posamezne čaše smo vzorčili potem, ko je poteklo 5 minut, 30 minut, 2 uri, 12 ur in 27 ur. Ob vsakem času smo vzorec zelja narezan na določen način 3-krat homogenizirali in tako pripravili tri paralelke kot je razvidno iz slike 14, v katerih smo potem določili askorbinsko kislino in celoten vitamin C.

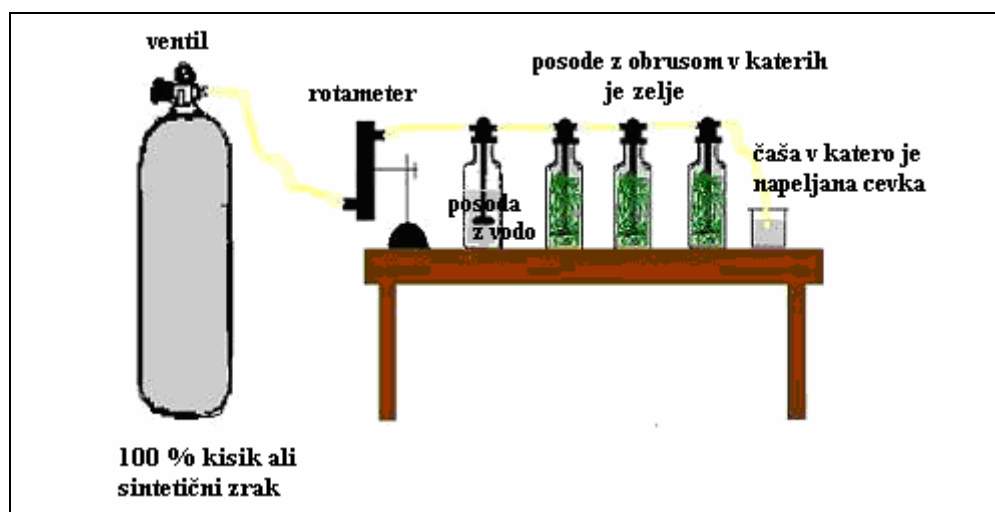


Slika 11: Primerjava različnih debelin rezanja zelja: A (cela četrtina), B (5 mm), C (2 mm), D (0,5 mm), E (primerjava debelin rezin)

3.2.1.2 Vpliv kontrolirane atmosfere z veliko vsebnostjo kisika in sintetičnega zraka na vsebnost vitamina C v narezanem zelju

Pripravili smo tri glave zelja in jih hranili v hladilnici pri temperaturi 8 °C. Posamezno glavo smo z nožem razpolovili in jo z mesoreznicjo narezali na 0,75 mm debele rezine. Narezano zelje smo narahlo premešali, da smo zagotovili homogenost. Z delom narezanega zelja smo napolnili dve čaši z brusom. Skozi zelje smo v čašo potisnili stekleno cevko z brusom, da smo zagotovili plinotesnost. Eno od čaš smo priključili na jeklenko s 100 odstotnim kisikom, drugo pa na jeklenko s sintetičnim zrakom. Med posodo z zeljem in jeklenko smo v obeh primerih vstavili posodo z brusom v kateri je bila voda, kozi katero smo vodili plin in tako zagotovili približno 100 % vlažnost. Pri pretoku plina 80 mL/min smo vzorce zelja prepihovali 120 ur. Shema poskusa na kateri je prikazano prepihanje skozi alikvotne zelja vseh treh glav je prikazano na sliki 12.

Vzorce zelja smo jemali iz posod po 2 urah, 12 urah, 24 urah, 72 urah in 120 urah. Posamezen vzorec smo ob določenem času homogenizirali enkrat. Iz filtrata homogenata smo pripravili tri paralelke za določitev AK in tri paralelke za določitev celotnega vitamina C kot je prikazano na sliki 15.



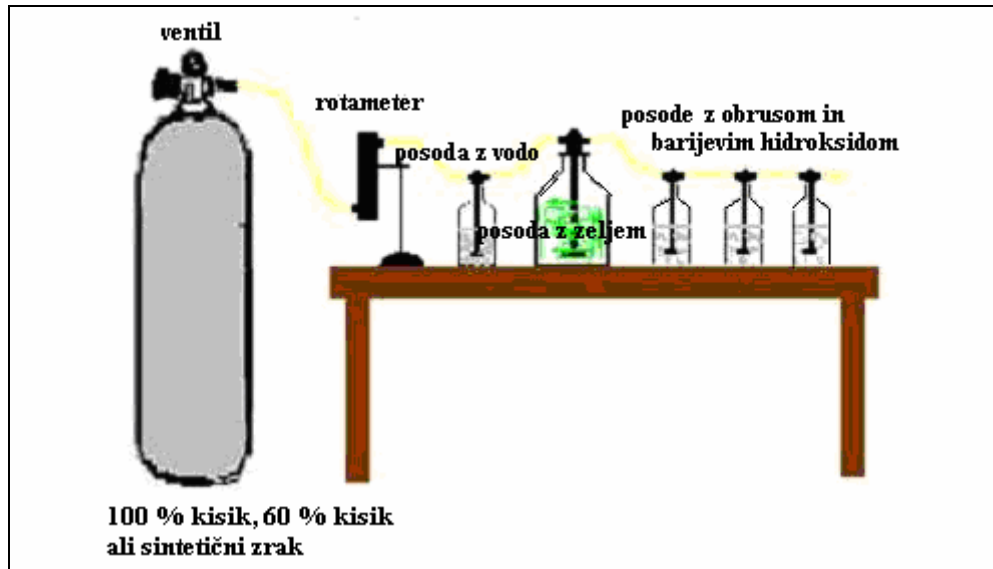
Slika 12: Shema poskusa za določevanje vpliva kontrolirane atmosfere na vsebnost vitamina C v narezanem zelju

3.2.1.3 Spremljanje vpliva atmosfere z veliko vsebnostjo kisika na intenziteto dihanja narezanega zelja.

Zelje smo očistili, odstranili kocen in ga narezali z večnamensko napravo na rezine debeline 2 mm. V dve veliki 1250 mL stekleni posodi z brusom smo zatehtali 200 g zelja. Skozi zelje smo v posodo potisnili cevko z brusom, da smo zagotovili plinotesnost.

Prav tako smo v šest manjših steklenih posod z brusom odpipetirali 250 mL Ba(OH)₂, ki smo mu pred tem določili koncentracijo s standardizirano HCl. V posode z brusom smo

do dna potisnili cevke z brusom, ki so omogočile, da je plin prehajal skozi $\text{Ba}(\text{OH})_2$ v majhnih mehurčkih. Z brusom zatesnjene posode smo povezali z zeljem in vodo kot je prikazano na sliki 13.



Slika 13: Shema poskusa za določevanje vpliva kontrolirane atmosfere na intenziteto dihanja narezanega zelja

3.2.2 Metode dela

3.2.2.1 Določanje vitamina C v zelju

3.2.2.1.1 Priprava vzorca

Priprava 2 % metafosforne kisline (W/W):

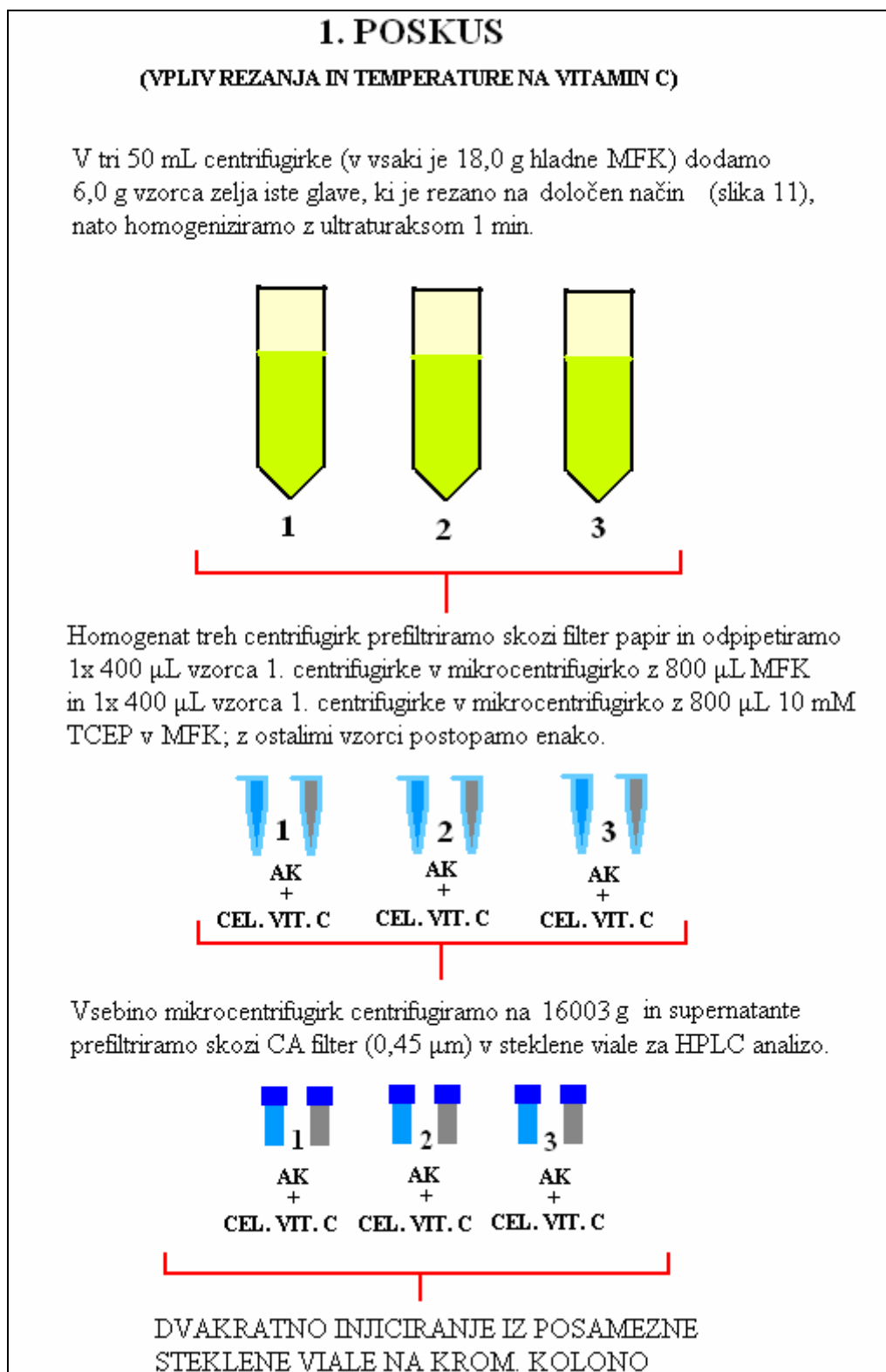
Kristale metafosforne kisline smo v tarilnici zdrobili v prah in 20 g kvantitativno prenesli v 1000 mL bučo, dopolnili z 980 g mili Q vode ter raztopili ob mešanju z magnetnim mešalom.

Priprava 10 mM TCEP:

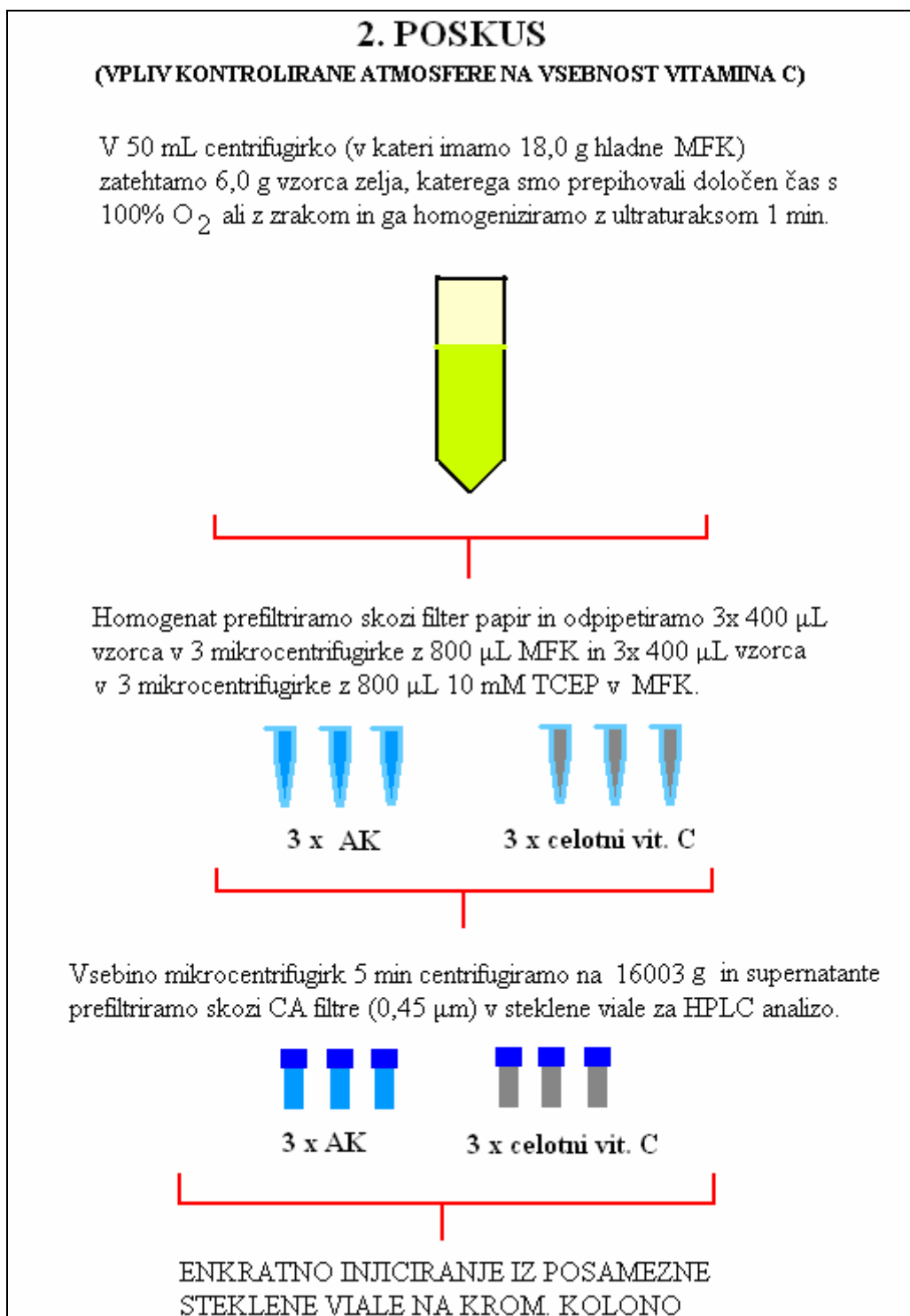
V 15 ml centrifugirko smo zatehtali 34,4 mg TCEP in raztopili v 12 mL MFK. Vse skupaj smo dobro premešali in dali v hladilnik.

Priprava vzorca zelja za analizo vitamina C:

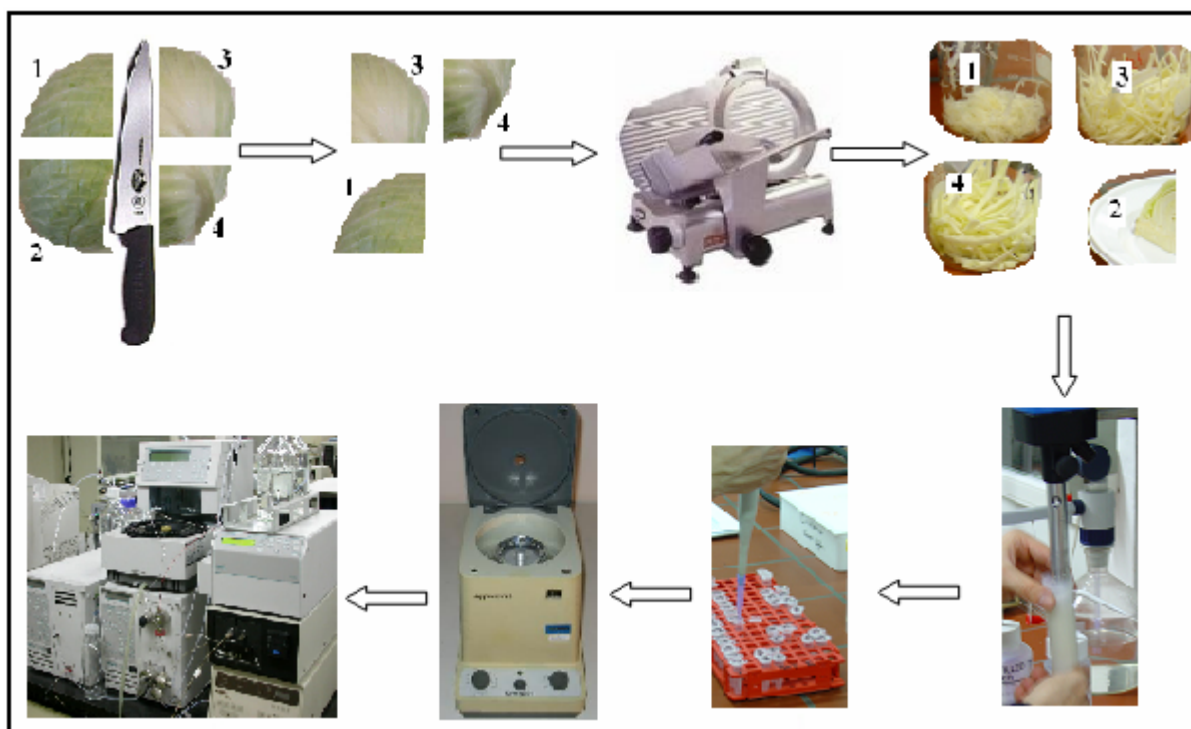
V 50 ml centrifugirke, v katerih je bilo 18 gramov ledeno hladne MFK, smo zatehtali 6 gramov zelja in homogenizirali z ultraturaxsom eno minuto, da je zmes postala homogena. Homogenate smo filtrirali v male steklene čaše skozi celulozni filter papir-črni trak. Za določitev AK, smo 400 μ L filtrata prenesli v mikrocentrifugirke v katere smo predhodno odpipetirali 800 μ L MFK. Za določitev celotnega vitamina C, smo 400 μ L filtrata prenesli v mikrocentrifugirke v katere smo predhodno odpipetirali 800 μ L 10 mM TCEP v MFK. Vsebinsko mikrocentrifugirke smo dobro premešali in centrifugirali pet minut pri 16003 g. Supernatante smo prefiltrirali skozi CA filtre Millipore (0,45 μ m) v 1,5 mL vial in jih zaprli s pokrovčki. Tako pripravljene vzorce smo še isti dan analizirali s HPLC. Bolj natančne sheme za analizo vitamina C so prikazane na slikah 14, 15 in 16.



Slika 14: Shema priprave vzorcev za analizo vitamina C za določen način rezanja pri temperaturi skladiščenja 8 °C ali 20 °C



Slika 15: Shema priprave vzorcev za analizo vitamina C v narezanem zelju, skladiščenem v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika in sintetičnim zrakom pri 8 °C



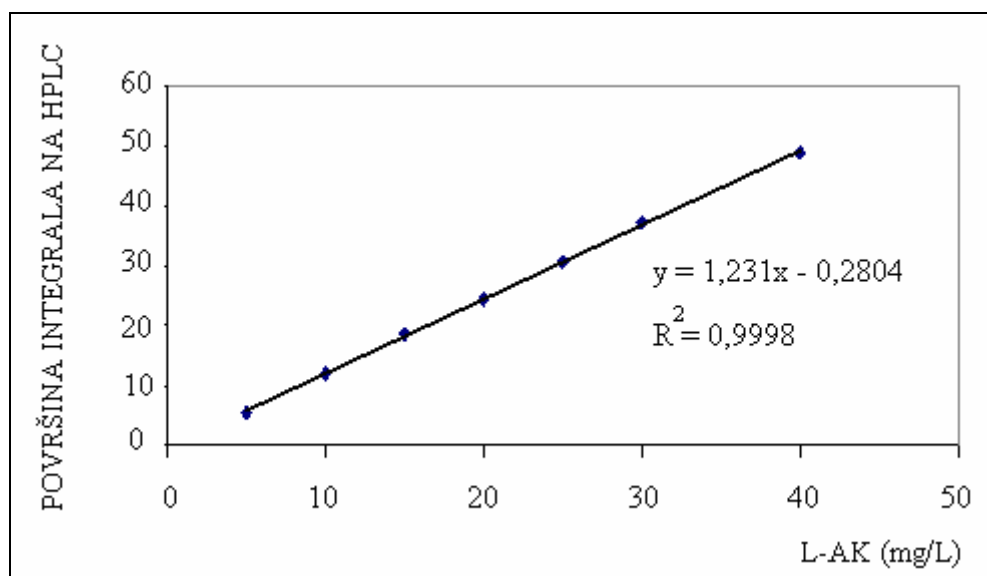
Slika 16: Shema postopka priprave zelja za analizo vitamina C v različno narezanem zelju

Priprava standarda (umeritvene krivulje):

V 40 mL MFK smo zatehtali 20 mg askorbinske kisline, da smo dobili koncentracijo raztopine 500 mg/L in dobro premešali. Tako pripravljeno raztopino smo 10-krat razredčili (vzeli smo 1 mL raztopine in dodali 9 mL MFK), da smo dobili koncentracijo 50 mg/L. Za umeritveno krivuljo smo pripravili raztopine AK kot je prikazano v preglednici 6. Umeritvena krivulja za standard L-AK je prikazana na sliki 17.

Preglednica 6: Priprava standardnih raztopin askorbinske kisline za umeritveno krivuljo

KONCENTRACIJE AK (mg/L)	VOLUMEN STANDARDA (μ L)	VOLUMEN MFK (μ L)
5	100	900
10	200	800
15	300	700
20	400	600
25	500	500
30	600	400
40	800	200



Slika 17: Umeritvena krivulja za askorbinsko kislino

Kromatografski pogoji:

gradientna črpalka: Maxi Star, Knauer
kolona: SynergieC₁₈ 250 mm x 4 mm
mobilna faza: 2,5 mM H₂SO₄
pretok mobilne faze: 1 ml/min
volumen injiciranja: 20 µl
detektor: UV – VIS, 245 nm, Knauer

Izračun vsebnosti (v) celotnega vitamina C, AK in DHA v vzorcih zelja (shema postopka izračuna vsebnosti vitamina C v vzorcih zelja je prikazana na sliki 22):

- **CELOTNI VITAMIN C:** Vsebnost celotnega vitamina C v mg/ 100 g zelja smo dobili tako, da smo iz umeritvene krivulje izračunali vsebnost vitamina C v vzorcu in nato rezultat pomnožili z 1,2 (upoštevana razredčitev in masa zelja). Faktor 1,2 smo dobili tako, da smo upoštevali 12-kratno razredčitev vzorca in predpostavili, da je gostota zelja in vseh raztopin približno 1,0 kg/L.

$$v_{\text{CEL.VIT.C}} (\text{vsebnost celotnega vitamina C}) = ((A_{\text{RED}} + 0,2804) / 1,231) * 1,2$$

A_{RED} = površina pika na kromatogramu, ko smo injicirali vzorec z dodanim reducentom

- **AK:** Vsebnost AK v mg/100 g zelja smo dobili tako, da smo iz umeritvene krivulje izračunali vsebnost AK v vzorcu in nato rezultat pomnožili z 1,2.

$$v_{AK} (\text{vsebnost AK}) = ((A_{AK} + 0,2804) / 1,231) * 1,2$$

A_{AK} = površina pika na kromatogramu, ko smo injicirali vzorec brez reducenta

- **DHA:** Vsebnost DHA smo dobili tako, da smo od celotnega vitamina C odšteli vsebnost AK za isti vzorec.

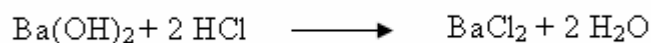
$$v_{DHA} (\text{vsebnost DHA}) = v_{CEL.VIT.C} - v_{AK}$$

3.2.2.2 Določanje intenzitete dihanja zelja

3.2.2.2.1 Priprava raztopine Ba(OH)₂

Za pripravo 0,15 M Ba(OH)₂ smo zatehtali 94,65 g trdnega Ba(OH)₂ v 2 L bučo z ozkim brušenim vratom in dopolnili do oznake z destilirano vodo, zaprli in dobro premešali. Točno koncentracijo Ba(OH)₂ smo določili s titracijo s standardizirano 0,51661 M HCl.

Nevtralizacija Ba(OH)₂ s HCl:



$$2n [\text{Ba(OH)}_2] = n (\text{HCl})$$

$$n [\text{Ba(OH)}_2] = c (\text{HCl}) \cdot V (\text{HCl}) / 2$$

3.2.2.2.2 Izračun intenzitete dihanja zelja

Iz razlike začetne in končne množine molov Ba(OH)₂ smo izračunali množino CO₂, ki se je tvoril z dihanjem narezanega zelja. Množino sproščenega CO₂ smo dobili s titracijo raztopine Ba(OH)₂ s standardizirano HCl.

1) Ob času 0 izračunamo začetno množino (n_z) Ba(OH)₂ v 250 mL raztopine.

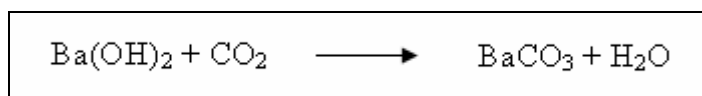
$$n_z [\text{Ba(OH)}_2] = c (\text{HCl}) \cdot V (\text{HCl}) / 2$$

2) Po določenem času prepihovanja ponovno izračunamo množino (n_k) Ba(OH)_2 v 250 mL raztopine

$$n_k [\text{Ba(OH)}_2] = c (\text{HCl}) \cdot V (\text{HCl}) / 2$$

3) Iz razlik začetne in končne množine Ba(OH)_2 dobimo množino porabljenega Ba(OH)_2 iz katere lahko izračunamo maso CO_2 v 72 urah.

Nevtralizacija Ba(OH)_2 s CO_2 med prepihovanjem:



$$n [\text{porabljenega Ba(OH)}_2] = n_z [\text{Ba(OH)}_2] - n_k [\text{Ba(OH)}_2]$$
$$n [\text{Ba(OH)}_2] = n (\text{CO}_2)$$

$$m (\text{CO}_2) = n (\text{CO}_2) \cdot M (\text{CO}_2)$$

Dihanje zelja smo spremljali 72 ur kot je prikazano na sliki 13. Da bi ulovili ves sproščeni CO_2 , smo imeli zaporedno vezane 3 posode z obrusom. Oborjen BaCO_3 v prvih posodah bi lahko zamašil frito, zato smo posode z obrusom dnevno menjali in jih nadomeščali s svežo raztopino Ba(OH)_2 . Delno nevtraliziran Ba(OH)_2 smo titrirali s HCl in izračunali maso ujetega CO_2 v vsaki posodi. Po koncu eksperimenta smo sešteli maso ujetega CO_2 v vseh posodah in jo delili z 72 ur in maso zelja, ki smo ga prepihovali. Izračunana vrednost predstavlja maso CO_2 , ki nastane kot rezultat dihanja 100 g zelja v merjenem intervalu.

Intenziteto dihanja narezanega zelja smo podali kot indeks $I_{\%O_2}$. Ta predstavlja razmerje med maso nastalega ogljikovega dioksida v atmosferi z določenim deležem kisika in maso nastalega ogljikovega dioksida v atmosferi sintetičnega zraka v eni uri pri določeni masi zelja (100 g).

$$I_{\%O_2} = [m_k (\text{CO}_2) / m_z (\text{CO}_2)] \cdot 100$$

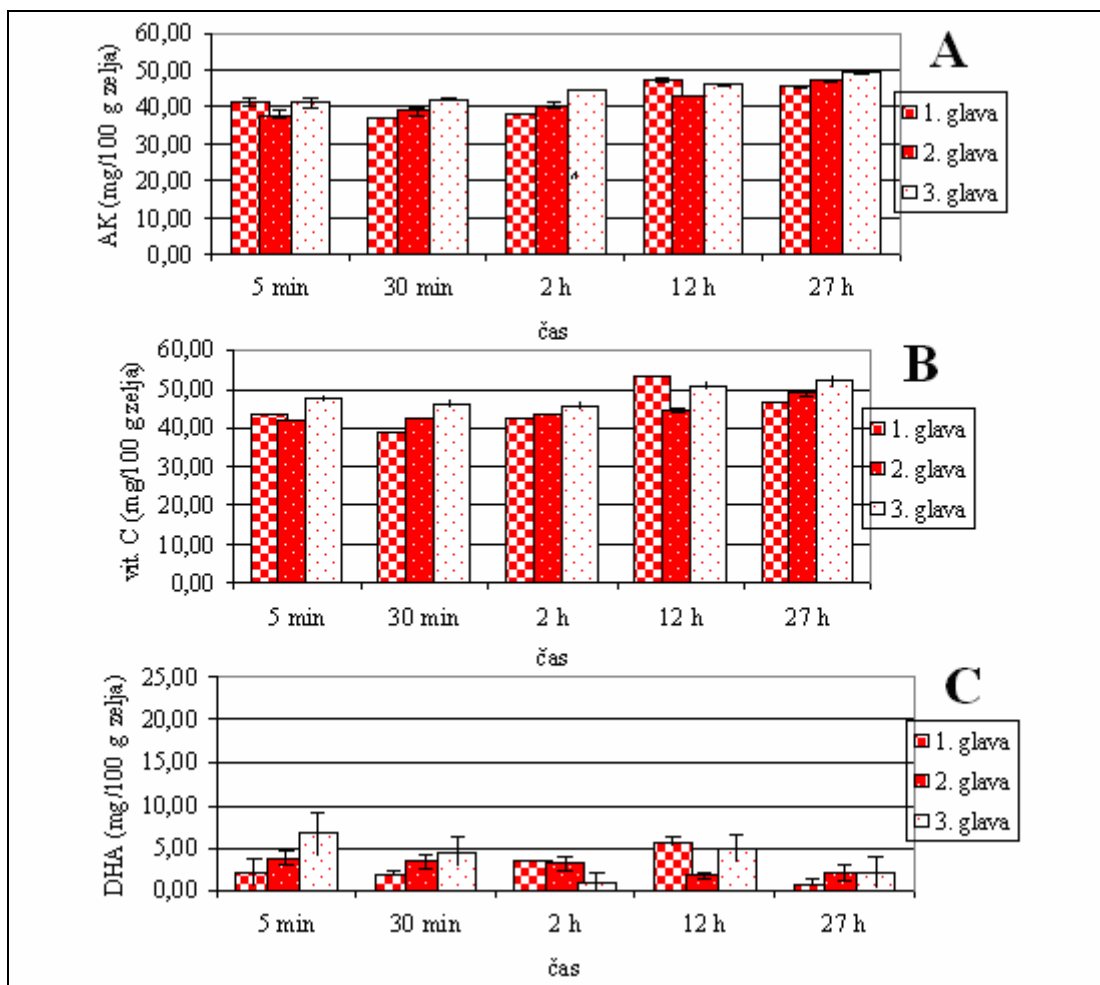
$m_z (\text{CO}_2)$ = masa CO_2 , ki nastane po prepihovanju zelja s sintetičnim zrakom

$m_k (\text{CO}_2)$ = masa CO_2 , ki nastane po prepihovanju zelja z velikim deležem kisika

4 REZULTATI

4.1 VPLIV DEBELINE REZANJA IN SKLADIŠČENJA PRI 8 °C NA VSEBNOST AK, CELOTNEGA VITAMINA C IN DHA V NAREZANEM ZELJU

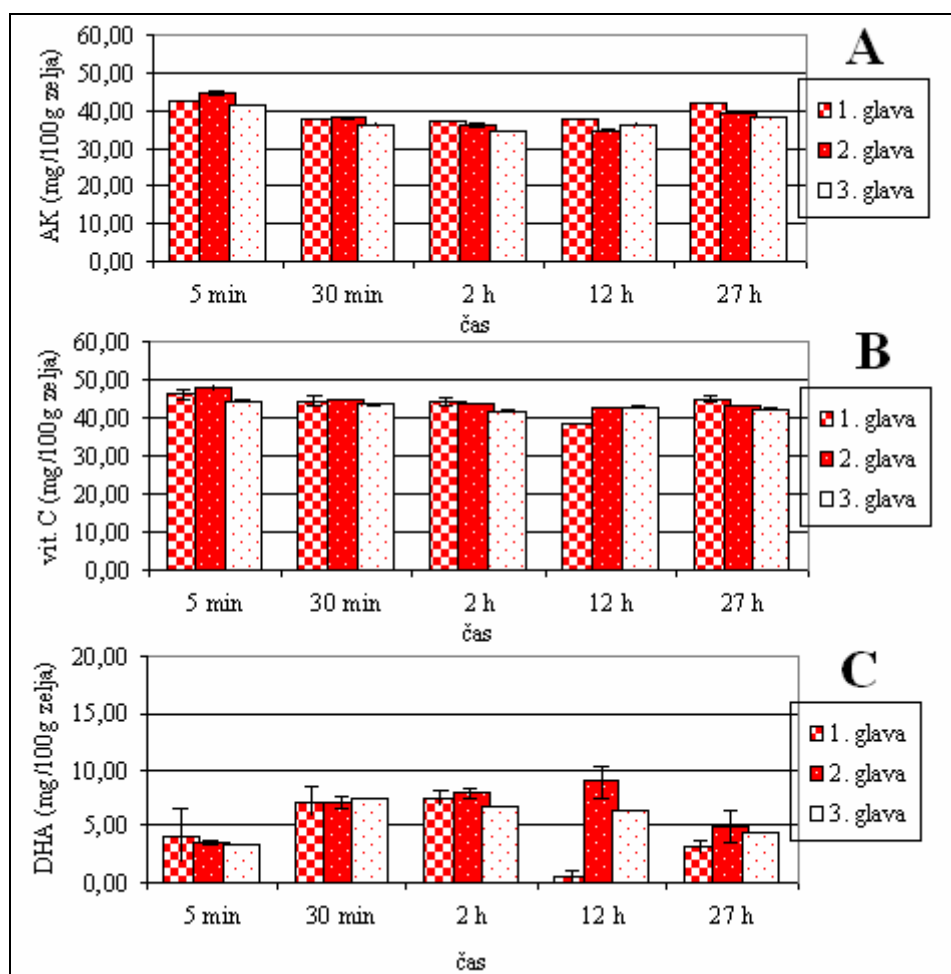
4.1.1 Rezanje zelja na debelino rezin 5 mm



Slika 18: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 5 mm in skladiščenem pri 8 °C

Na sliki 18 je prikazano, kako se spreminja vsebnost AK, celotnega vitamina C in DHA pri zelju narezanem na rezine debeline 5 mm. Pri dveh glavah je opazno zmanjšanje vsebnosti AK ob času 30 minut in 2 uri (A), ki gre na račun nastale DHA, katere koncentracija je ob omenjenih časih večja kot takoj po rezanju (C). Vsebnost skupnega vitamina C se med skladiščenjem praktično ne spreminja (B).

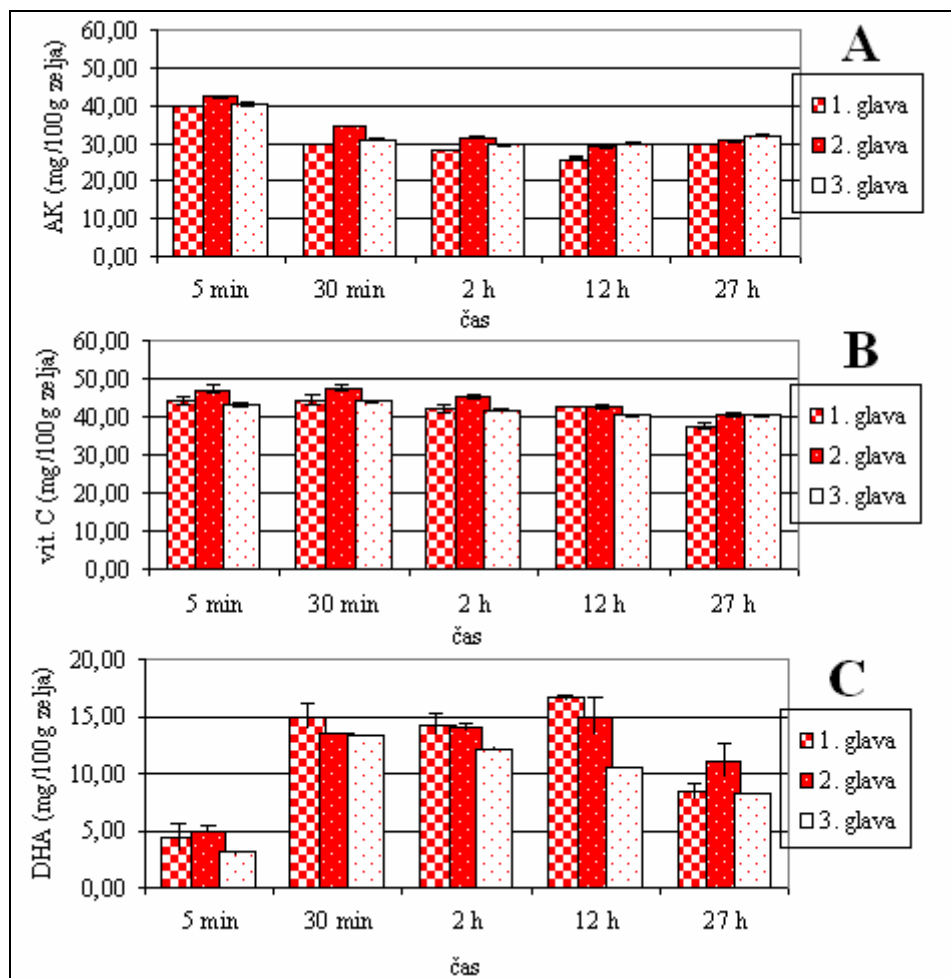
4.1.2 Rezanje zelja na debelino rezin 2 mm



Slika 19: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 2 mm in skladiščenem pri 8 °C

Pri zelju narezanem na debelino 2 mm (slika 19) je opazno zmanjševanje vsebnosti AK (A) in skupnega vitamina C (B) v prvih dvanajstih urah. Po 27 urah je opazno povečanje vsebnosti AK v vseh treh glavah, medtem ko se vsebnost skupnega vitamina C poveča le pri eni od treh glav. Pri ostalih dveh pa se ne spremeni. Vsebnost DHA (C) se povečana v prvih 12 urah pri dveh glavah, medtem ko pri 1. glavi pade pod začetno vrednost.

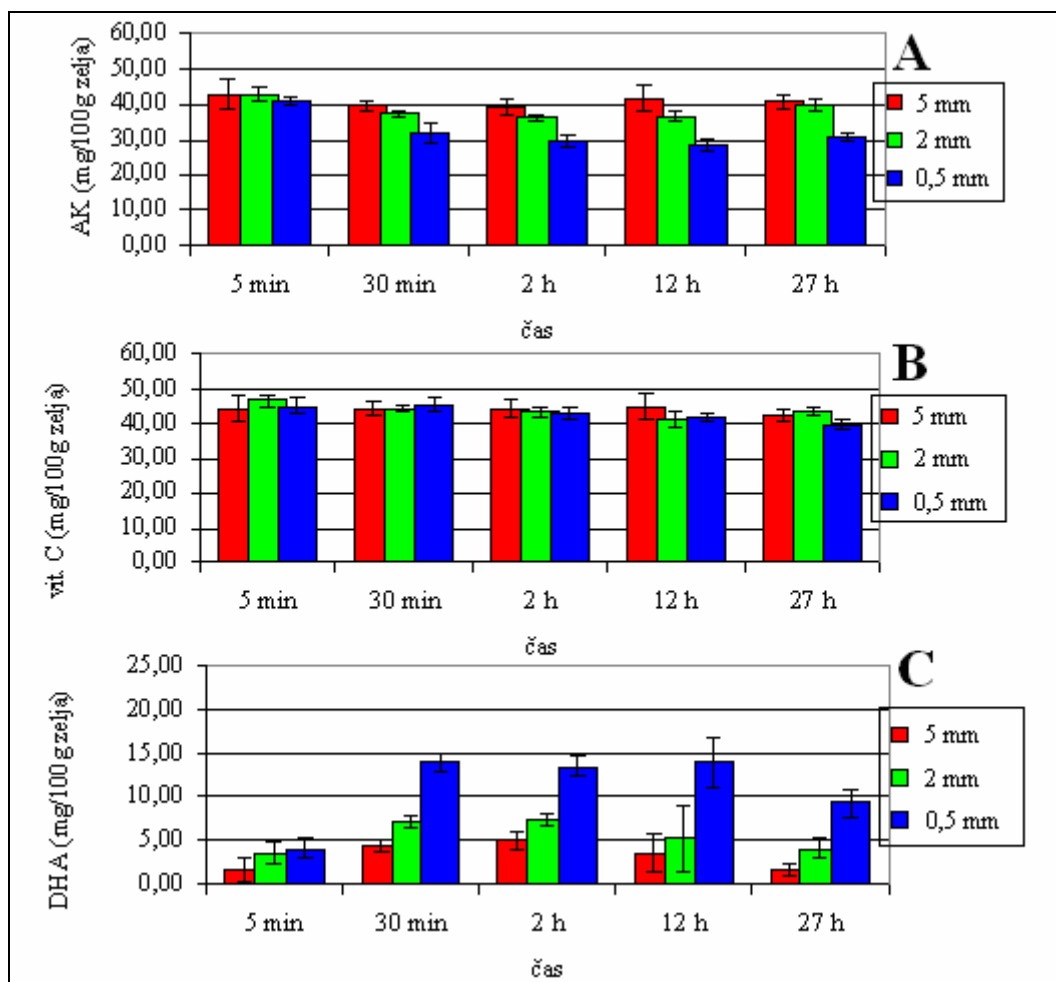
4.1.3 Rezanje zelja na debelino rezin 0,5 mm



Slika 20: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 0,5 mm in skladiščenem pri 8 °C

Rezanje zelja (slika 20) na debelino 0,5 mm vpliva na vsebnost AK (A), celotni vitamin C (B) in DHA (C). Iz slike 20 (A) je razvidno, da določimo največje vsebnosti AK takoj po rezanju, najmanjše pa po 12 urah. Določena vsebnost askorbinske kisline po 27 urah je večja od vsebnosti po 12 urah, a še vedno značilno manjša kot po 5 minutah. Vsebnost skupnega vitamina C se zmanjša s skladiščenjem (B). Vsebnost DHA je najmanjša po 5 minutah, določene vrednosti po 30 minutah, 2 urah in 12 urah so približno 3-krat večje od začetne vsebnosti. Po 27 urah je vidno zmanjšanje vsebnosti DHA, ki pa je še vedno večja od začetne.

4.1.4 Primerjava povprečnih vrednosti AK, celotnega vitamina C in DHA za vse načine rezanja zelja

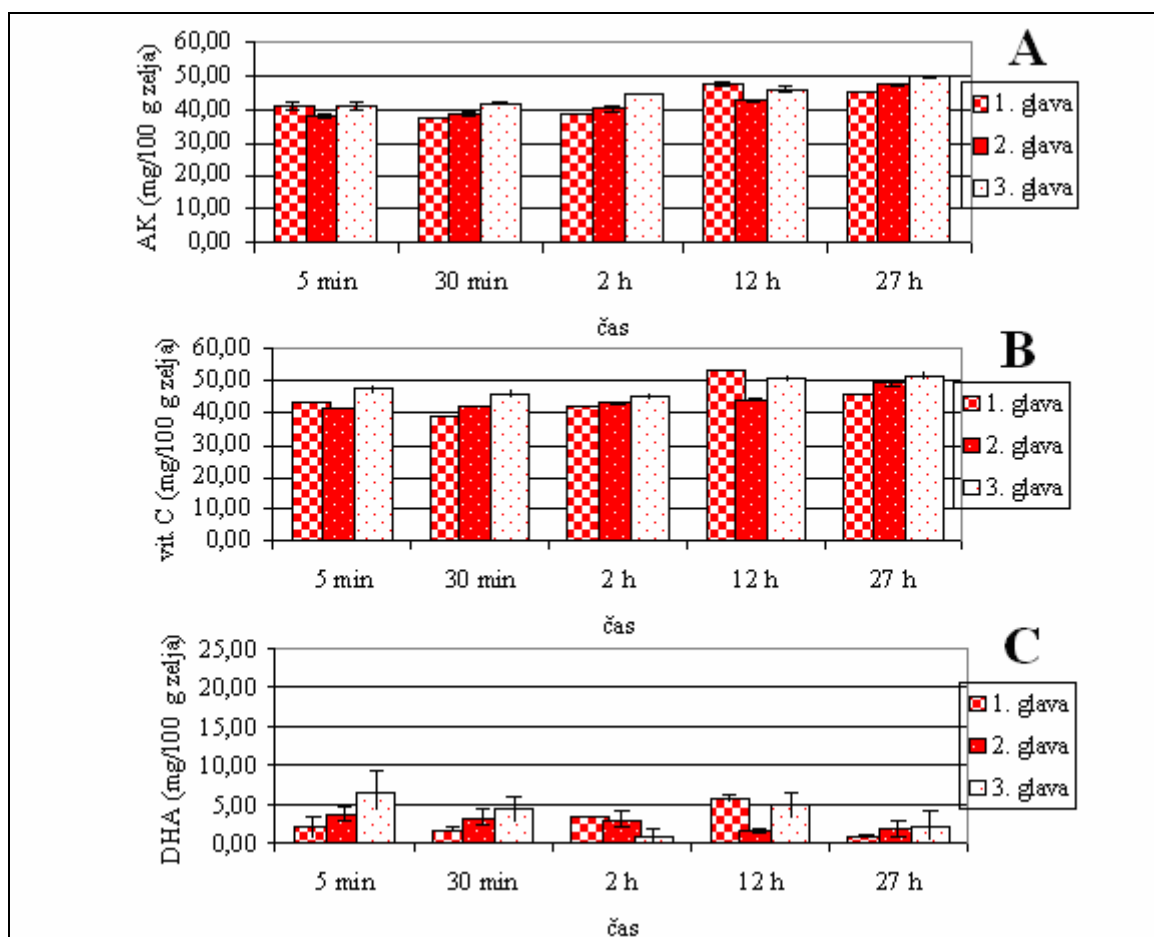


Slika 21: Primerjava povprečnih vrednosti AK, celotnega vitamina C in DHA za vse načine rezanja pri 8 °C

Pri začetnih vrednostih za AK (slika 21-A) in celotni vitamin C (slika 21-B) na sliki 21 nismo opazili značilnih razlik, kar je tudi pričakovano, saj smo vzorce pripravljali iz istih glav. Pri vsebnosti DHA (slika 21-C) je opazna razlika med rezinami debeline 5 mm in rezinami debeline 0,5 mm. Pri slednjem je vsebnost DHA značilno večja že po petih minutah, kar pomeni, da se je določen delež askorbinske kisline pri tankem načinu rezanja oksidiral že po petih minutah. Vsebnost DHA je značilno večja tudi pri vseh kasnejših meritvah. Pri AK smo opazili obraten trend, saj je vsebnost AK pri rezanju zelja na debelino rezin 0,5 mm pri vseh meritvah, razen začetne, značilno manjša kot pri rezanju zelja na debelino 5 mm in 2 mm.

4.2 VPLIV DEBELINE REZANJA IN SKLADIŠČENJA PRI 20 °C NA VSEBNOST AK, CELOTNEGA VITAMINA C IN DHA V NAREZANEM ZELJU

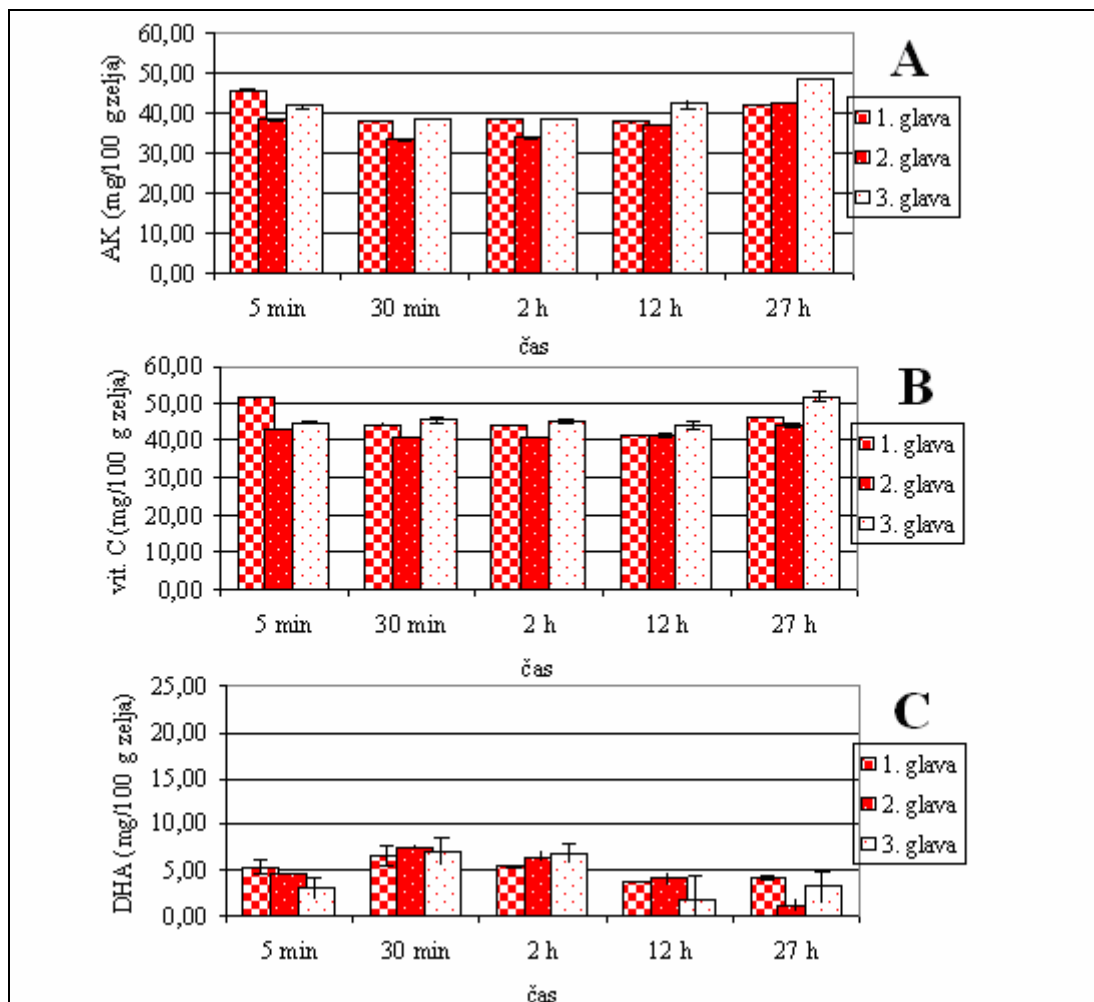
4.2.1 Rezanje zelja na debelino rezin 5 mm



Slika 22: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 5 mm in skladiščenem pri 20 °C

Na sliki 22 je prikazano, kako se spreminja vsebnost AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) pri zelju narezanem na rezine debeline 5 mm. Pri vseh glavah je opazno povečanje vsebnosti AK od 30 minut naprej. Vsebnost askorbinske kisline ob času 12 ur in 27 ur je pri vseh treh glavah značilno večja kot po 5 minutah. Tudi vsebnosti celotnega vitamina C so večje po 12 in 27 urah skladiščenja (B). Vsebnosti DHA so v zelju, narezanem na debelino rezin 5 mm (C), velike že po 5 minutah skladiščenja, nakar se ob času 27 ur v vseh treh primerih zmanjšajo pod začetno vrednost.

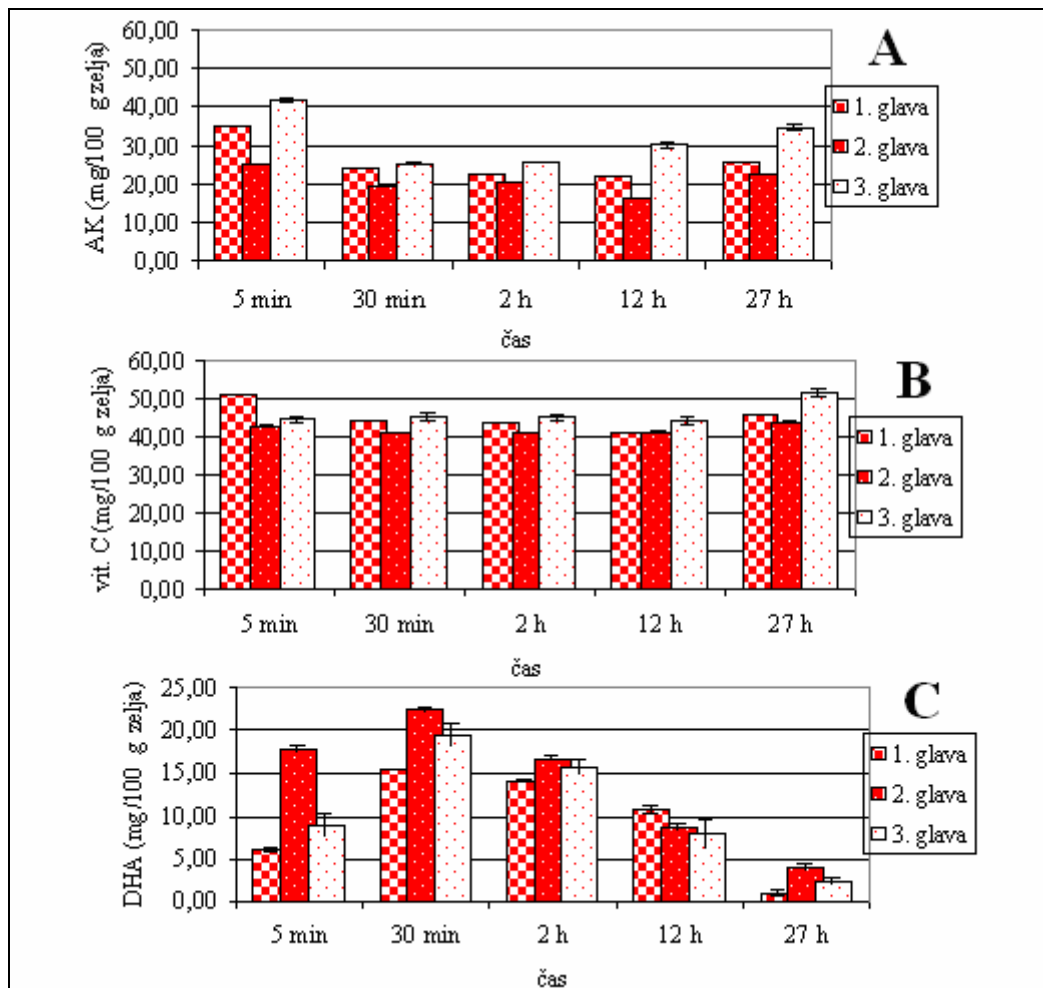
4.2.2 Rezanje zelja na debelino rezin 2 mm



Slika 23: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 2 mm in skladiščenem pri 20 °C

Pri zelju narezanem na debelino rezin 2 mm (slika 23) smo po 30 minutah in 2 urah določili manj AK kot po 5 minutah, nakar po 12 urah vrednosti AK pri dveh glavah narastejo in ob času 27 ur presežejo začetno vrednost (slika 23-A). Izjema je prva glava zelja, pri kateri ostanejo vrednosti AK in celotnega vitamina C do konca skladiščenja pod začetno vrednostjo. Vsebnosti DHA (C) dosežejo pri vseh glavah največje vrednosti po 30 minutah skladiščenja, nakar po 12 urah padejo pod začetne vrednosti.

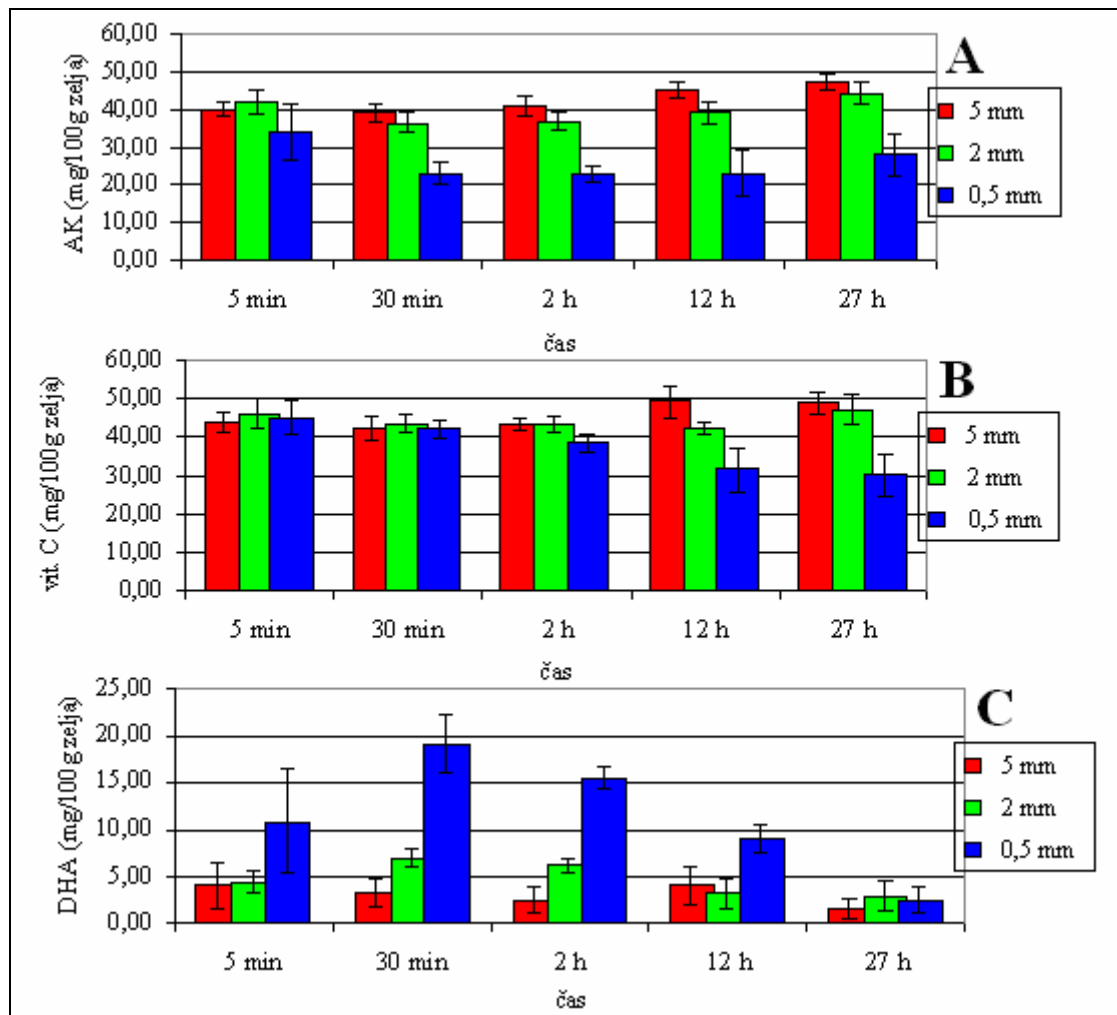
4.2.3 Rezanje zelja na debelino rezin 0,5 mm



Slika 24: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 0,5 mm in skladiščenem pri 20 °C

Rezanje zelja (slika 24) na debelino 0,5 mm vpliva na vsebnost AK, celotni vitamin C in DHA. Iz slike 24 (A) je razvidno izrazito začetno zmanjšanje vsebnosti AK takoj po rezanju, saj določimo mnogo manjše vrednosti kot pri debelem načinu rezanja (slika 22-A). Druga glava ima manjšo začetno vsebnost AK od preostalih glav in veliko DHA (C), kar ni nujno artefakt, saj se trend pojavlja tudi pri daljših časih. Najmanjše vrednosti AK v glavah določimo po 12 urah skladiščenja, le pri tretji glavi po 2 urah skladiščenja. Vrednosti celotnega vitamina C (B) se med skladiščenjem najmanj spreminjajo. Pri vseh treh glavah je opazno povečanje vsebnosti celotnega vitamina C v intervalih od 12 do 27 ur. Pri dveh glavah po 27 urah določimo večjo vsebnost kot po 5 minutah. Vrednosti DHA (C) dosežejo svoj maksimum ob času 30 minut in po 27 urah skladiščenja padejo pod začetno vrednost.

4.2.4 Primerjava povprečnih vrednosti AK, celotnega vitamina C in DHA za vse načine rezanja zelja

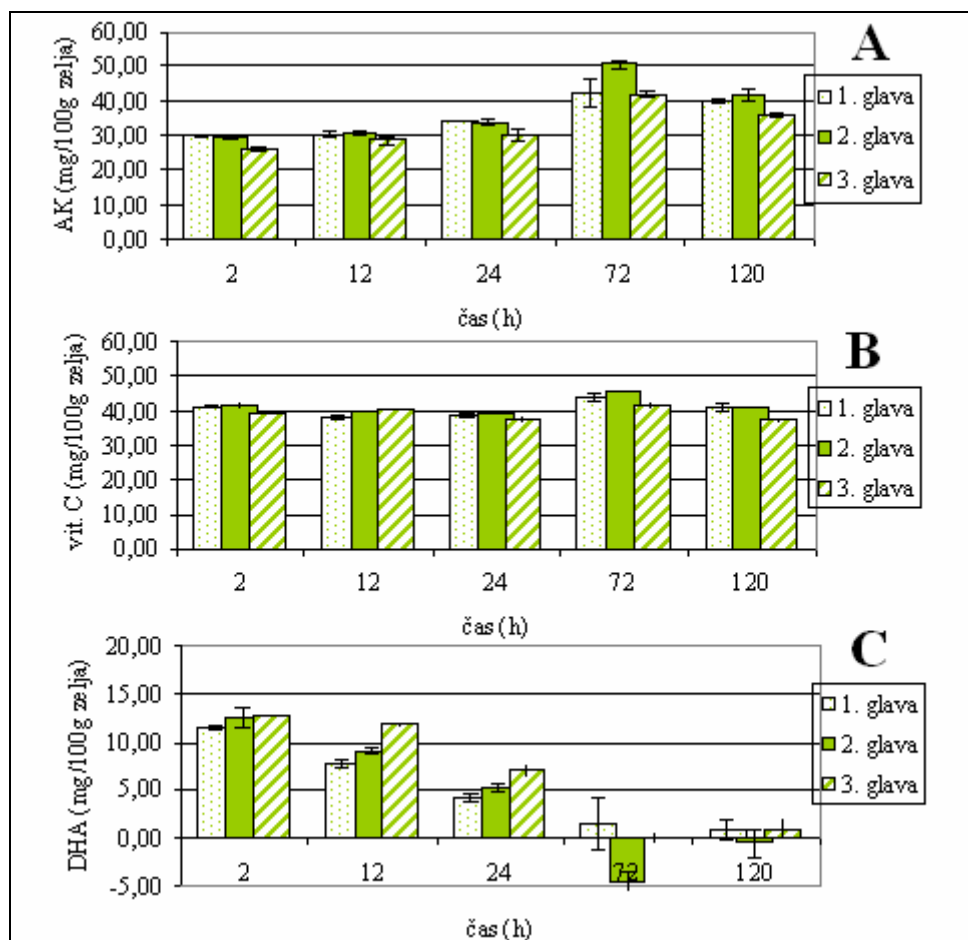


Slika 25: Primerjava povprečnih vrednosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) za vse načine rezanja pri 20 °C

Pri začetnih vrednostih so opazne velike razlike v vsebnosti AK in DHA med zeljem narezanim na debelino rezin 5 mm in zeljem rezanim na debelino 0,5 mm (slika 25-A in B), vendar zaradi velike standardne deviacije razlike niso značilne. Značilno je povečanje vsebnosti AK (slika 25-A) in celotnega vitamina C (slika 25-B) pri zelju narezanem na 5 mm v primerjavi z začetno vrednostjo, saj se vsebnost AK po 12 in 27 urah poveča nad začetno vrednost, medtem ko se vsebnost celotnega vitamina C poveča po 27 urah. Pri DHA je opazna razlika med rezanjem zelja na debelino rezin 0,5 mm in ostalima načinoma rezanja. Vsebnost DHA je značilno večja tudi v intervalu od 30 minut do 12 ur. Po 27 urah skladiščenja določimo pri vseh načinih rezanja najmanj DHA. Razlika je značilna le pri zelju narezanem na debelino 0,5 mm (slika 25-C).

4.3 VPLIV KONTROLIRANE ATMOSFERE NA VSEBNOST AK, CELOTNEGA VITAMINA C IN DHA V NAREZANEM ZELJU

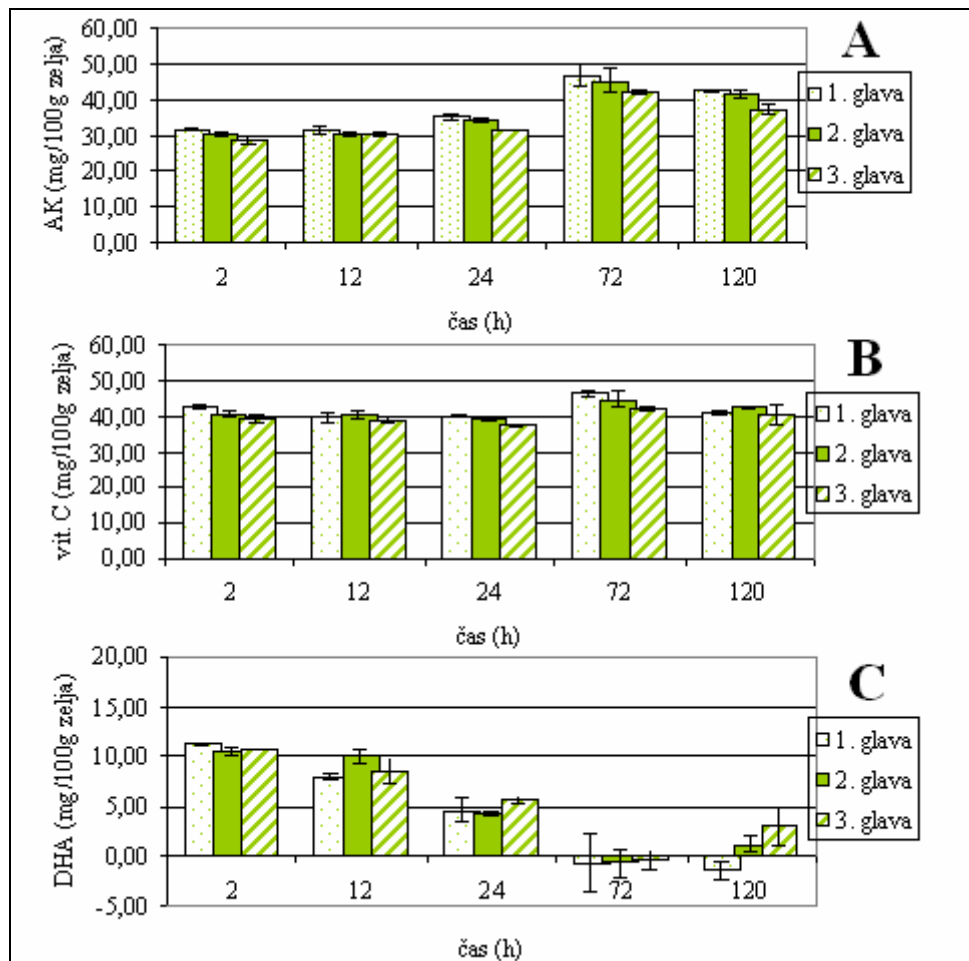
4.3.1 Shranjevanje zelja narezanega na debelino rezin 0,75 mm v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika pri 8 °C



Slika 26: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s 100 % kisikom pri 8 °C

Pri zelju narezanem na debelino rezin 0,75 mm (slika 26) in prepilovanim s 100 odstotnim deležem kisika je opaziti povečevanje vsebnosti AK (A) in skupnega vitamina C (B) pri vseh treh glavah. Iz slike 26 je razvidno povečanje vsebnosti AK (A) glede na začetno vrednost pri vseh glavah zelja ob času 24 ur in vse do konca skladiščenja, pri čemer so največje vrednosti dosežene ob času 72 ur. Tudi vsebnosti celotnega vitamina C (B) so po 72 urah skladiščenja največje. Vrednosti DHA (slika 26-C) pri vseh glavah zelja padajo. Ob času 72 in 120 ur dobimo negativne rezultate vrednosti DHA druge glave, kar je najverjetneje posledica eksperimentalne napake.

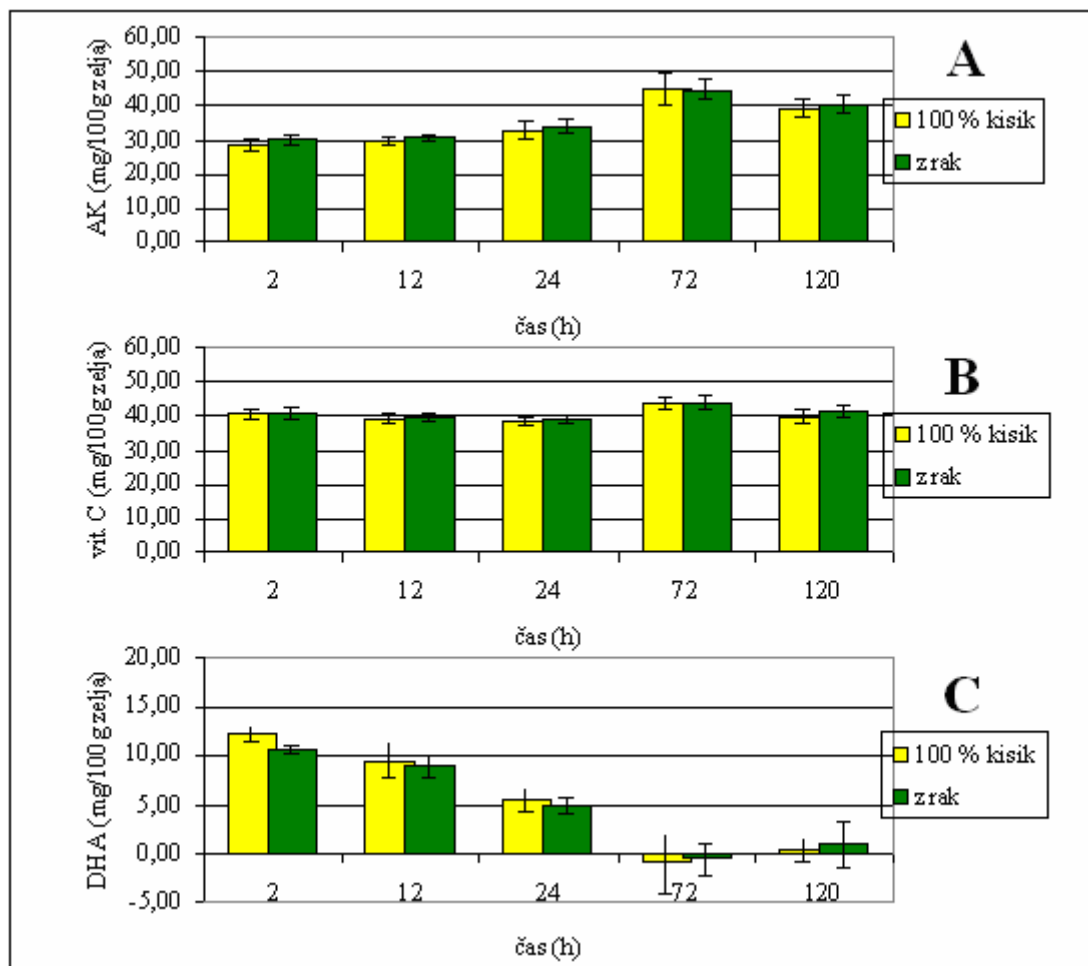
4.3.2 Shranjevanje zelja narezanega na debelino rezin 0,75 mm v atmosferi s sintetičnim zrakom pri 8 °C



Slika 27: Spreminjanje vsebnosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v zelju narezanem na rezine debeline 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s sintetičnim zrakom pri 8 °C

Pri zelju narezanem na debelino rezin 0,75 mm (slika 27) in prepričovanem s sintetičnim zrakom je opaziti povečevanje vsebnosti AK (A) in skupnega vitamina C (B) pri vseh treh glavah. Tudi tu je glede na začetno vrednost opazno povečanje vsebnosti AK (A) pri vseh glavah ob času 24 ur in vse do konca skladiščenja, pri čemer so največje vrednosti dosežene ob času 72 ur. Tudi vsebnosti celotnega vitamina C (B) so po 72 urah največje. Vrednosti DHA (C) pri vseh glavah zelja padajo. Ob času 72 ur dobimo negativne rezultate vrednosti DHA v vseh glavah, vendar se rezultati vsebnosti značilno ne razlikujejo od vrednosti nič.

4.3.3 Primerjava povprečnih vrednosti AK, celotnega vitamina C in DHA v kontroliranih atmosferah s 100 odstotnim deležem kisika in sintetičnim zrakom



Slika 28: Primerjava povprečnih vrednosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C) v atmosferi 100 % kisika in sintetičnega zraka pri 8 °C in debelini rezin 0,75 mm

Na sliki 28, kjer so prikazane povprečne vrednosti AK (A), celotnega vitamina C (B) in DHA (C), je pri obeh atmosferah opaziti značilno povečanje AK (A) ob času 24, 72 in 120 ur, v primerjavi z začetno vrednostjo. Največje vrednosti AK zabeležimo po 72 urah skladiščenja v obeh skladiščnih atmosferah. Tudi vsebnosti celotnega vitamina C (slika 28-B) so po 72 urah skladiščenja značilno največje, in ob istem času skladiščenja so vrednosti DHA (C) negativne, vendar se ne razlikujejo značilno od vrednosti nič. Vsebnosti AK in celotnega vitamina C so v atmosferi s sintetičnim zrakom skozi celotno fazo skladiščenja nekoliko večje, vendar razlike niso značilne. Obratno velja za vsebnost DHA, ki je v prvih 24 urah skladiščenja na zraku manjša.

4.4 SPREMLJANJE VPLIVA ATMOSFERE Z VELIKO VSEBNOSTJO KISIKA NA INTENZITETO DIHANJA NAREZANEGA ZELJA

Intenziteto dihanja narezanega zelja smo podali kot indeks $I_{x\%O_2}$, ki predstavlja razmerje med maso nastalega ogljikovega dioksida v atmosferi z določenim deležem kisika in maso nastalega ogljikovega dioksida v navadni atmosferi (zrak) v nekem časovnem intervalu pri določeni masi zelja (str. 42).

4.4.1 Kontrolirana atmosfera s 60 odstotnim deležem kisika pri 8 °C

Preglednica 7: Primerjava intenzitet dihanja narezanega zelja skladiščenega v 60 odstotnem kisiku in sintetičnem zraku

poskus	seštevek m_z (CO ₂) [mg/100 g zelja na h]	seštevek m_k (CO ₂) [mg/100 g zelja na h]	$I_{60\% O_2}$	povprečni $I_{60\% O_2}$
1	17,1	17,6	103	109 ± 8,7
2	7,94	8,50	107	
3	6,56	8,02	122	
4	5,64	5,92	105	

Iz preglednice 7, kjer so podani rezultati štirih poskusov prepihovanja narezanega zelja s 60 odstotnim deležem kisika je razvidno, da se intenziteta dihanja zelja v primerjavi s sintetičnim zrakom povsod poveča in sicer za najmanj tri odstotke pri 1. poskusu in največ za 22 odstotkov pri tretjem poskusu. Povprečni indeks intenzitete dihanja narezanega zelja se poveča za 9 odstotkov. Iz standardne deviacije je razvidno (preglednica 7), da je intenziteta dihanja narezanega zelja v atmosferi s kisikom značilno večja od intenzitete dihanja v sintetičnem zraku, vendar je razlika majhna.

4.4.2 Kontrolirana atmosfera s 100 odstotnim deležem kisika pri 8 °C

Preglednica 8: Primerjava intenzitet dihanja narezanega zelja skladiščenega v 100 odstotnem kisiku in sintetičnem zraku

poskus	seštevek m_z (CO ₂) [mg/100 g zelja na h]	seštevek m_k (CO ₂) [mg/100 g zelja na h]	$I_{100\% O_2}$	povprečni $I_{100\% O_2}$
1	7,26	5,82	80	90 ± 13
2	9,14	9,57	105	
3	10,5	9,01	86	

Iz preglednice 8 lahko razberemo, da se intenziteta narezanega zelja v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika v 1. in 3. poskusu zmanjša za 20 odstotkov oziroma 14 odstotkov, medtem ko se v 2. poskusu poveča za 5 odstotkov. Iz povprečnega indeksa, ki

smo ga določili v treh poskusih, lahko razberemo, da je intenziteta dihanja narezanega zelja v kisikovi atmosferi manjša kot v sintetičnem, vendar razlika ni značilna.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Številni avtorji so že v preteklosti opazili, da se vsebnost vitamina C večine zelenjave in sadja ob mehanskih poškodbah (rezanje, mečkanje) in skladiščenju spreminja (Hussein in sod., 2000; Leja in sod., 2001; Haase in Weber, 2003). Temperatura in čas skladiščenja vplivata na zmanjševanje vsebnosti vitamina C v živilih (Sablani in sod., 2006; Burdurlu in sod., 2006).

Ker je zelje vrsta zelenjave, katere priprava (solata) zahteva veliko stopnjo mehanske poškodbe, smo se odločili preveriti, kako stopnja mehanske poškodbe vpliva na vsebnost AK, DHA in celotnega vitamina C. Na ta način smo posredno določali tudi antioksidativno aktivnost v zelju, saj AK nastopa kot glavni antioksidant v zelju, zaradi majhne vsebnosti polifenolov. Ko pripravljamo solato, jo lahko pustimo na pultu ali pa damo v hladilnik, zato smo se odločili preveriti tudi vpliv temperature na spremembe v vsebnosti vitamina C.

Posledica delovanja oksidativnega stresa pri rastlinah in njihovih proizvodih je povečana vsebnost DHA (Tudela in sod., 2002; Green in Fry, 2005; Kabasakalis in sod., 2000; Haase in Weber, 2003). Podobno smo opazili tudi mi pri narezanem zelju, saj se s stopnjo mehanskega stresa poveča vsebnost DHA.

Ker je homogenizacija celih listov zelja z ultraturakso, zaradi strukture tkiva praktično nemogoča, lahko za referenčno vrednost vsebnosti DHA v nepoškodovanem zelju vzamemo zelje narezano na debelino 5 mm in hranjeno na 8 °C, kjer smo po petih minutah določili najmanjšo vsebnost DHA (2 mg/100 g zelja), ki predstavlja približno 5 odstotkov celotnega vitamina C. Takšna vsebnost DHA je primerljiva in celo manjša od literaturnih podatkov za nenarezano zelje (Vanderslice in sod., 1990). Gökmen in sodelavci (2000) so določili celo mnogo večjo vsebnost DHA v zelju, a je ta najverjetneje artefakt eksperimentalnega postopka, saj so zelje homogenizirali v vodi in ne v metafosforni kislini.

V okviru našega eksperimenta smo ugotovili, da se pri zelju narezanem na debelino 5 mm in hranjenem na 8 °C, vsebnost DHA povečuje s skladiščenjem. Največjo vsebnost smo določili po dveh urah (5 mg/100 g zelja) in predstavlja okoli 12 odstotkov skupnega vitamina C. Vsebnost DHA se je nato zniževala in je dosegla začetno vrednost (2 mg/100 g zelja) po 27 urah (slika 21-C). Pri narezanem zelju hranjenem na 20 °C določimo že po petih minutah največjo vsebnost DHA (4 mg/100 g zelja), ki znaša 9 % celotnega vitamina C (slika 25-C). Tako visoko vrednost DHA na začetku skladiščenja lahko pripišemo vplivu temperature na hitrost encimske in ne encimske oksidacije AK (Arrigoni in sod., 2002). Pri kasnejših meritvah so vrednosti nižje, vendar razlike med meritvami niso značilne. Najnižjo vrednost smo podobno kot pri 8 °C, določili po 27 urah.

Pri zelju narezanem na debelino 2 mm in hranjenem na 8 °C smo že po petih minutah določili za 130 odstotkov večjo vsebnost DHA kot pri zelju narezanem na debelino 5 mm (slika 21-C). Maksimalno vsebnost (5 mg/100 g zelja), kar predstavlja 12 odstotkov

celotnega vitamina C, smo določili po dveh urah. Vsebnost DHA se je v 27 urah zmanjšala na začetno vrednost, vendar je bila še vedno značilno večja kot pri zelju narezanem na 5 mm. Pri temperaturi 20°C (slika 25-C) smo največ DHA določili že po 30 minutah (7 mg/100 g zelja) in hkrati ugotovili, da je vsebnost DHA po 27 urah manjša kot pri nižji temperaturi. Povišana temperatura je očitno vplivala ne le na hitrejšo oksidacijo AK, ampak tudi na hitrost reakcij redukcije DHA v AK z dehidroaskorbat reduktazo (Barata-Soares in sod., 2004) in ireverzibilno izgubo vitaminske aktivnosti zaradi hidrolize DHA v diketogulonat, ki poteka hitreje pri višji temperaturi (Bode in sod., 1990; Matthews in Hall, 1978).

V primeru rezanja zelja na debelino 0,5 mm se je zaradi dodatne stopnje oksidativnega stresa tvorilo še več DHA. Največjo vsebnost, za razliko od prejšnjih dveh načinov rezanja pri 8 °C, smo določili po 12 urah skladiščenja in predstavlja 33 % celotnega vitamina C (slika 21-C). Pri višji temperaturi 20 °C je proces razgradnje mnogo hitrejši, saj se je vsebnost DHA po 12 urah v primerjavi (slika 25-C) z maksimalno določeno vrednostjo po 30 minutah enkrat zmanjšala.

Mehanske poškodbe sadja in zelenjave in posledično oksidativni stres, imajo pomembno vlogo tudi pri spreminjanju vsebnosti AK v sadju in zelenjavi (Lee in sod., 2000). Nekateri avtorji poročajo, da je v času skladiščenja opaziti padanje vsebnosti AK v zelenjavi in sadju ne glede na temperaturo shranjevanja, vendar so izgube hitrejše pri višji temperaturi (Favell, 1998; Kabasakalis in sod., 2000).

Pri svojem delu smo ugotovili, da rezanje zelja na debelino 5 mm pri 8 °C, praktično nima vpliva na vsebnost AK (slika 21-A), opaziti je le neznatno povečevanje določene vsebnosti AK od dveh ur naprej, ki po 12 urah doseže maksimalno vrednost (42 mg/ 100 g zelja). Pri višji temperaturi shranjevanja (slika 25-A) smo po 27 urah zaznali značilno povečanje AK, ki je glede na začetno vrednost za 18 odstotkov večje. To je v nasprotju z literaturnimi podatki (Favell, 1998; Kabasakalis in sod., 2000), da je pri višji temperaturi manjša vsebnost AK. Nekateri avtorji navajajo povečanje vsebnosti AK na sobni temperaturi skladiščenja (20 °C) v roku 1-2 dni, ki znaša od 250-400 odstotkov (Mondy in Leja, 1986; Leja in sod., 2001). K povečanju vsebnosti AK v našem primeru bi lahko prispevalo več faktorjev, na primer že delno razgrajena askorbinska kislina pri višji temperaturi, saj smo že po 5 minutah določili skoraj 3-krat več DHA kot pri nižji temperaturi. Tudi izhlapevanje vode skozi luknjice parafilma bi lahko vplivalo na porast vsebnosti AK, čeprav malo verjetno, saj smo za popolnoma narezano in odkrito zelje v posodi po 27 urah opazili le približno 10 odstotno zmanjšanje mase. Ezell in Wilcox (1959) navajata, da se z izsuševanjem zelenjave vsebnost vitamina C zmanjšuje, saj je le ta močno odvisen od same vlage v zelenjavi. Najverjetneje lahko povišano vsebnost askorbinske kisline pripišemo delni regeneraciji AK iz DHA (Arrigoni in sod., 2002) in indukciji biosinteze askorbinske kisline v primeru oksidativnega stresa (Mittler, 2002).

Do podobnih rezultatov kot v prejšnjem primeru smo prišli tudi, ko smo zelje narezali na debelino 2 mm. Pri temperaturi 8 °C opazimo, da se končna vrednost AK ne razlikuje značilno od začetne, za okoli 7 %, vendar je opazno značilno povečanje vsebnosti od 2 ur naprej, ko je določena najnižja vsebnost AK (takrat je vsebnost DHA največja), do 27 ur (slika 21-A). Pri višji temperaturi (slika 25-A) se začne vsebnost AK povečevati že od 30

minut naprej, saj je pri tej temperaturi in času že dosežena maksimalna vrednost DHA. Po 27 urah skladiščenja je vrednost AK za okoli 9 % večja kot na začetku.

Zelo velike spremembe v vsebnosti AK pa lahko zaznamo pri zelju narezanem na debelino 0,5 mm. Pri obeh temperaturah je vsebnost askorbinske kisline po 27 urah manjša od začetne, v prvem celo značilno manjša in doseže 76 % začetne vrednosti AK pri 8 °C (slika 21-A) ter 82 % začetne vrednosti pri 20 °C (slika 25-A). Vendar je podobno kot pri ostalih debelostih rezanja opazno povečevanje vsebnosti AK od 12 ur do 27 ur, ki pa pri nobeni od merjenih temperatur ni značilno. Na osnovi pridobljenih rezultatov lahko ugotovimo, da rezanje na debelino 0,5 mm negativno vpliva na vsebnost AK in s tem na antioksidativni potencial zelja v okviru enega dne.

Vsebnost celotnega vitamina C, ki predstavlja vsoto AK in DHA (Podsšek, 2007), se je od vseh merjenih parametrov najmanj spreminjala, saj smo ugotovili, da ob zmanjševanju vsebnosti AK opazimo povečevanje vsebnosti DHA in obratno, kar lahko v določeni meri pripišemo delovanju encimov askorbat oksidaza (Imer in sod., 2003) in dehidroaskorbat reduktaza (Mittler, 2002). Pri temperaturi 8 °C (slika 21-B), kjer so spremembe, zaradi nižje temperature manjše, opazimo edino značilno razliko glede na začetno stanje pri zelju narezanem na 0,5 mm, ko se vsebnost celotnega vitamina C po 27 urah zmanjša za 12 odstotkov v primerjavi z začetnim stanjem.

Pri temperaturi 20 °C (slika 25-B) so spremembe večje, saj pri zelju narezanem na 0,5 mm opazimo značilno zmanjšanje vsebnosti celotnega vitamina C, tako po 12 urah (28 %) kot po 27 urah (33 %). Pri obeh ostalih debelinah rezanja pa se vsebnost po 27 urah poveča, vendar razlika ni značilna. Povečanje celotnega vitamina C lahko pripišemo povečani vsebnosti AK (slika 25-A).

Pri eksperimentih, kjer smo v roku 27 ur spremljali vsebnost DHA, AK in celotnega vitamina C, smo ugotovili, da debelina rezanja in temperatura skladiščenja močno vplivata na pretvorbe vitamina C in s tem na prehransko vrednost. Z opravljenimi eksperimenti smo simulirali pripravo zelja za solato v gospodinjstvu, kjer to pogostokrat narežemo nekaj ur pred uporabo, nakar jo hranimo v hladilniku ali na sobni temperaturi. Pri zelju, ki ga predhodno narežejo in kot takšnega prodajajo, od mehanske poškodbe do uporabe največkrat preteče dalj časa, pri čemer se lahko rok trajanja izdelka poveča s pakiranjem v modificirano atmosfero (Husseini in sod., 2000). Ker rezultati nekaterih študij kažejo na to, da se lahko kakovost ohrani s pakiranjem v atmosfere z veliko vsebnostjo kisika (Jacxsens in sod., 2001; Van der Steen in sod., 2003), smo preverili tudi vpliv atmosfere s 100 odstotnim deležem kisika na spremembe vsebnosti DHA, AK in celotnega vitamina C pri zelju narezanem na debelino 0,75 mm in hranjenem pri temperaturi 8 °C.

Vsebnost DHA v narezanem zelju smo prvič določili po 2 urah skladiščenja in določili majhno, a značilno razliko v vsebnosti DHA med zeljem preprihovanim s 100 odstotnim deležem kisika in sintetičnim zrakom. Pri zelju hranjenem v atmosferi kisika smo določili 12 mg DHA/100 g zelja, pri preprihovanju z zrakom pa skoraj 11 mg DHA/100 g zelja (slika 28-C). Vsebnost DHA po dveh urah je pričakovana, saj je stopnja mehanske poškodbe (rezanje na 0,75 mm debele rezine zelja) med obema debelinama rezanja 0,5 in 2 mm. Po dveh urah skladiščenja na 8 °C smo pri debelini rezanja 0,5 mm določili ustrezno

več vsebnosti DHA (slika 21-C), oziroma manj DHA pri debelini rezanja 2 mm (slika 21-C). Pri naknadnem skladiščenju opazimo zmanjševanje vsebnosti DHA, vendar razlika med zrakom in kisikom ni več značilna. Vsebnost DHA se po 72 urah zmanjša praktično na 0 in določimo celo negativne vrednosti, kar je teoretično nemogoče. Standardni odklon je relativno velik in izmerjene vrednosti zato lahko pripišemo eksperimentalni napaki. Kljub temu lahko ugotovimo, da je dejanska vsebnost DHA zelo majhna, kar se tudi sklada s trditvami nekaterih avtorjev, da je v svežem sadju in zelenjavi vsebnost DHA zelo majhna (Vanderslice in sod., 1990).

Pri askorbinski kislini in celotnem vitaminu C ob nobenem času ne opazimo značilnih razlik med zrakom in kisikom. V prvih 12 urah se vsebnost AK ne spremeni (slika 28-A), nato pa začne naraščati. Po 24 urah določimo značilno povečanje vsebnosti AK. Največjo vrednost določimo po 72 urah skladiščenja, ko se vsebnost poveča za 33 odstotkov na zraku in 38 odstotkov v zelju preprihovanem s kisikom. Po 120 urah določimo manjšo vrednost AK, vendar je še vedno za 27 % in 28 % večja od vsebnosti po dveh urah. Na osnovi izmerjenih rezultatov lahko nedvoumno trdimo, da je z vidika AK boljše zaužiti zelje, ki nekaj dni stoji narezano v hladilniku, kot pa, če ga zaužijemo še isti dan.

Vsebnost celotnega vitamina C (slika 28-B) v narezanem zelju se skozi fazo skladiščenja minimalno spreminja. Po 24 urah vsebnosti pri obeh načinih preprihovanja padeta pod začetno vrednost, vendar ni opaziti značilnih razlik kot jih opazimo pri askorbinski kislini v primeru, ko je bilo zelje skladiščeno v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika (slika 28-A). Po 72 urah skladiščenja določimo za 8 % večje vsebnosti celotnega vitamina C v primerjavi z dvema urama, ki so značilne v obeh atmosferah. Na koncu skladiščenja po 120 urah, se vsebnost celotnega vitamina C značilno zmanjša pri zelju, ki je bilo hranjeno v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika glede na 72 ur. Pri zelju, skladiščnem v sintetičnem zraku, se vsebnost celotnega vitamina C v primerjavi z 24 ur značilno poveča. Tudi tu lahko z vidika celotnega vitamina C nedvoumno trdimo, da se nam bolj splača narezano zelje dati v hladilnik in ga zaužiti nekaj dni kasneje.

Mehanska obdelava sveže narezanega sadja ali zelenjave, ki bi jo hranili v hladilniku ali pakirali v embalažo, drastično pospeši proces metabolizma, kar se kaže v povečani produkciji CO₂ (Jacxsens in sod., 2001), smo želeli preveriti vpliv atmosfere s povečanim deležem kisika in sintetičnega zraka na intenziteto dihanja narezanega zelja. V primeru povišane tvorbe ogljikovega dioksida in porabe kisika se lahko tvorijo anaerobni pogoji, ki poslabšajo prehransko kakovost izdelka, kar bi lahko imelo za posledico tudi zmanjšanje vsebnosti vitamina C (Veltman in sod., 2000). V literaturi zasledimo, da se intenziteta dihanja sadja in zelenjave v atmosferah z velikim kisikom lahko poveča, zmanjša ali pa ne spremeni, kar zavisi od več faktorjev (Kader in Ben-Yehoshua, 2000; Escalona in sod., 2006). V našem primeru smo preverili vpliv 60 odstotnega in 100 odstotnega kisika na respiracijo narezanega zelja pri 8 °C v primerjavi s sintetičnim zrakom (20 % O₂) in prišli do podobnih rezultatov kot drugi avtorji.

V primeru, da smo narezano zelje skladiščili v atmosferi s 60 odstotnim deležem kisika, je bila intenziteta dihanja za 3-22 % večja kot na zraku. Če smo zelje hranili v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika je bila intenziteta dihanja manjša za 14 % oziroma 20 odstotkov, v enem pa se je povečala za 5 %, v primerjavi z zrakom. Do podobnih

rezultatov je prišel tudi Escalona s sodelavci (2006), ki je v narezani zeleni solati v atmosferi s 75 odstotnim kisikom pri 9 °C ugotovil 10 % in 15 % povečanje intenzitete dihanja v primerjavi z atmosfero, ki je vsebovala 20 oziroma 100 odstotkov kisika. V primeru atmosfere s 100 odstotnim deležem kisika je intenziteta dihanja, v primerjavi z atmosfero z 20 odstotki kisika, manjša za 5 odstotkov.

Če med seboj primerjamo povprečna indeksa intenzitete dihanja narezanega zelja hranjenega v atmosferi s 60 in 100 odstotnim kisikom pri 8 °C, lahko ugotovimo, da je intenziteta dihanja v 100 % kisiku za približno 20 % manjša kot v 60 % kisiku.

5.2 SKLEPI

Na osnovi opravljenega dela lahko povzamemo naslednje sklepe:

- Pri temperaturi skladiščenja 20 °C se po enem dnevu poveča vsebnost askorbinske kisline nad začetno vrednost v zelju, narezanem na 5 mm debele rezine.
- Pri zelju, narezanem na 0,5 mm debele rezine, po enem dnevu skladiščenja na zraku določimo manjše vsebnosti celotnega vitamina C in askorbinske kisline, tako pri skladiščenju na 8 °C kot pri 20 °C.
- Pri zelju, narezanem na 0,5 mm debele rezine in hranjenem na temperaturi 20 °C, sta po 5 in 30 minutah skladiščenja vsebnosti dehidroaskorbinske kisline večji kot pri zelju, hranjenem pri 8 °C.
- V zelju, narezanem na 0,5 mm debele rezine, je po enem dnevu skladiščenja vsebnost dehidroaskorbinske kisline večja pri zelju, skladiščenem na 8 °C kot v zelju, hranjenem pri 20 °C.
- Po treh dneh skladiščenja zelja, narezanega na rezine debeline 0,75 mm in v atmosferi s sintetičnim zrakom ali 100 odstotnim deležem kisika, se vsebnosti askorbinske kisline in celotnega vitamina C povečajo.
- Intenziteta dihanja narezanega zelja je manjša v atmosferi s 100 % deležem kisika kot v atmosferi s 60 odstotnim deležem kisika.
- V atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika, v primerjavi z atmosfero s sintetičnim zrakom, se intenziteta dihanja zelja ne poveča.

6 POVZETEK

V okviru diplomske naloge smo preiskovali vpliv rezanja, kontrolirane atmosfere in temperature na vsebnost askorbinske in dehidroaskorbinske kisline v zelju, ki smo ju določali s HPLC. Preverili smo tudi vpliv atmosfere z velikim deležem kisika na tvorbo ogljikovega dioksida v narezanem zelju, katere vrednosti smo merili neposredno z nevtralizacijo $\text{Ba}(\text{OH})_2$ in titracijo s standardizirano HCl. Cilj diplomskega dela je bil določiti vpliv vseh naštetih dejavnikov na vsebnost vitamina C v narezanem zelju in ovrednotiti splošno uporabnost atmosfer z velikim deležem kisika za shranjevanje narezanega zelja.

Vpliv rezanja in temperature na vsebnost vitamina C smo spremljali tako, da smo zelje narezali na različne debeline, hranili na 8 °C ali 20 °C ter v točno določenih časovnih intervalih homogenizirali v MFK in še isti dan s HPLC določili askorbinsko kislino in celotni vitamin C. Vsebnost celotnega vitamina C smo dobili tako, da smo dehidroaskorbinsko kislino pred analizo reducirali s TCEP, ki se je izkazal kot dober reducent. V primeru, da smo zelje narezali na 2 mm in 5 mm debele rezine in hranili na 20° C, se je vsebnost askorbinske kisline po 27 urah skladiščenja povečala nad začetno vrednost, medtem ko je vsebnost DHA padla. Pri zelju, narezanem na 0,5 mm debele rezine, se je izmed vseh preostalih načinov rezanja, tu tvorilo največ dehidroaskorbinske kisline.

Diplomsko delo smo nadaljevali s pripravo kontroliranih atmosfer s 100 odstotnim deležem kisika in sintetičnim zrakom, s pomočjo katerih smo določili vpliv velikega deleža kisika in skladiščenja na vsebnost vitamina C pri 8 °C. Narezano zelje debeline 0,75 mm smo skladiščili več dni in v točno določenih časovnih intervalih homogenizirali in še isti dan s HPLC določili askorbinsko kislino in celotni vitamin C. Ugotovili smo, da atmosfera s 100 odstotnim kisikom nima vidnejšega vpliva na spremembo vsebnosti vitamina C v primerjavi s sintetičnim zrakom, medtem ko čas skladiščenja vpliva na povišanje vsebnosti askorbinske kisline in celotnega vitamina C po 72 urah skladiščenja v obeh vrstah atmosfer.

V zelju smo poleg vitamina C določali tudi vpliv kontroliranih atmosfer na tvorbo ogljikovega dioksida, ki je merilo intenzitete dihanja. Iz mase nastalega ogljikovega dioksida smo izračunali intenziteto dihanja, ki je bila v primerjavi s sintetičnim zrakom največja v atmosferi s 60 odstotnim kisikom in najmanjša v primeru, da smo zelje pripihovali oziroma skladiščili v atmosferi s 100 odstotnim deležem kisika.

Če povzamemo dobljene rezultate diplomskega dela, bi bilo v prihodnosti smotno narediti poskuse, v katerih bi uporabili na različne načine narezano sadje ali zelenjavo, atmosfere z različnim deležem kisika ter različne temperature skladiščenja in določili vpliv temperature na vsebnost vitamina C v spremenjenih atmosferah.

7 VIRI

- Agar I.T., Massantini R., Hess-Pierce B., Kader A.A. 1999. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices. *Journal of Food Science*, 64: 433-440
- Amanatidou A., Slump R.A., Smid E.J. 2003. Microbial interactions on minimally processed carrots under elevated oxygen and carbon dioxide concentrations. *Acta Horticulturae*, 600: 621-628
- Amanatidou A., Slump R.A., Smid E.J., Gorris L.G.M. 1999. Effect of elevated oxygen and carbon dioxide on the surface growth of vegetable associated microorganisms. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 429-438
- Amanatidou A., Smid E.J., Gorris L.G. M. 2000. High oxygen and high carbon dioxide modified atmospheres for shelf life extension of minimally processed carrots. *Journal of Food Science*, 65: 61-66
- Ambrosone C.B., McCann S.E., Freudenheim J.L., Marshall J.R. Zhang Y., Shields P.G. 2004. Breast cancer risk in premenopausal women is inversely associated with consumption of broccoli, a source of isothiocyanates, but is not modified by GST genotype. *Journal of Nutrition*, 134: 1134-1138
- Arrigoni O., De Tullio M.C. 2002. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1569: 1-9
- Asada K. 1992. Ascorbate peroxidase- a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*, 85, 2: 235-241
- Augustin J. 1975. Variations in the nutritional composition of fresh potatoes. *Journal of Food Science*, 40: 1295-1299
- Baloh N. 2002. Vsebnost vitamina C v kitajskem kapusu in zelju. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 3-46
- Bangerth F. 1976. Relationship between calcium content and the content of ascorbic acid in apple, pear and tomato fruits. *Qualitas Plantarum- Plant foods for Human Nutrition*, 26: 341-348
- Barata-Soares A.D., Gomez M.L.P.A., Henrique de Mesquita C., Lajolo F.M. 2004. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16, 3:147-154
- Barry-Ryan C., O'Beirne D. 1999. Ascorbic acid retention in shredded iceberg lettuce as affected by minimal processing. *Journal of Food Science*, 64: 498-500

- Barth M.M., Kerbel E.L., Perry A.K., Schmidt S.J. 1993. Modified atmosphere packaging affects ascorbic acid, enzyme activity and market quality of broccoli. *Journal of Food Science*, 58: 140-143
- Basu T.K., Dickerson J.W.T. 1996. *Vitamins in human health and disease*. Wallingford, CAB International: 125-146
- Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P. 2004. *Food chemistry*. 3rd ed. New York, Springer: 423-424
- Berard L.S. 1985. Effects of CA on several storage disorders of winter cabbage. V: *Proceedings, Fourth National Controlled Atmosphere Research Conference, 23-26 July 1985 Raleigh, North Carolina. Horticultural Report*, 26: 150-159
- Bode M.A., Cunningham L., Rose R. 1990. Spontaneous decay of oxidized ascorbic acid (dehydro-L-ascorbic acid) evaluated by high pressure liquid chromatography. *Clinical Chemistry*, 36: 1807-1809
- Brecht J.K., Chau K.V., Fonseca S.C., Oliveira F.A.R., Silva F.M., Nunes M.C.N., Bender J.R. 2003. Maintaining optimal atmosphere conditions for fruits and vegetables throughout the postharvest handling chain. *Postharvest Biology and Technology*, 27: 87-101
- Burdurlu H.S., Koca N., Karadeniz F. 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*, 74: 211-216
- Bushway R.J., Helper P.R., King J., Perkins B., Krishnan M. 1989. Comparison on ascorbic acid content of supermarket versus roadside stand produce. *Journal of Food Quality*, 12: 99-105
- Černe M. 1998. *Kapusnice*. Ljubljana, Kmečki glas: 173 str.
- Černe M., Vrhovnik I. 1992. *Vrtnine vir zdravja in naša hrana*. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 219 str.
- Cook J.D., Watson S.S., Simpson K.M., Lipschitz D.A., Skikne B.S. 1984. The effect of high ascorbic acid supplementation on body iron stores. *Blood*, 64: 721-726
- Day B.P.E. 1996. High oxygen modified atmosphere packaging for fresh prepared produce. *Postharvest News and Information*, 7: 31-34
- Dennehy M. 2003. BCGA Code of practice for liquid oxygen storage at user premises. *Cryogenics*, 28, 12: 818-822
- Deutsch J.C. 2000. Dehydroascorbic acid. *Journal of Chromatography A*, 881: 299-307

- Douce R., Brouquiss R., Journet E.P. 1987. Electron transfer and oxidative phosphorylation in plant mitochondria. V: The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Vol. 11. Davis D. D. (ed.). New York, Academic Press: 177-213
- Escalona V.H., Verlinden B.E., Geysen S., Nicola B.M. 2006. Changes in respiration of fresh-cut butterhead lettuce under controlled atmospheres using low and superatmospheric oxygen conditions with different carbon dioxide levels. *Postharvest Biology and Technology*, 39: 48-55
- Esteve M., Farre R., Frigola A. 1995. Changes in ascorbic acid content of green asparagus during the harvesting period and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2058-2061
- Ezell B.D., Darrow G.M., Wilcox M.S., Scott D.H. 1947. Ascorbic acid content of strawberries. *Food Research*, 12: 510-526
- Ezell B.D., Wilcox M.S. 1959. Loss of vitamin C in fresh vegetables as related to wilting and temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 7: 507-509
- Favell D.J. 1998. A comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables. *Food Chemistry*, 62, 1: 59-64
- Fellows P. 2000. Controlled or modified atmosphere storage and packaging. V: Food processing technology: Principles and practice. Fellows P. (ed.). 2nd ed. Cambridge, Woodhead Publishing Limited and CRC Press: 406-417
- Fowke J.H., Chung F.L., Jin F., Qi D., Cai Q., Conaway C., Cheng J.R., Shu X.O., Gao Y.T., Zheng W. 2003. Urinary isothiocyanate levels, brassica, and human breast cancer. *Cancer Research*, 63: 3980-3986
- Freyman S., Toivonen P.M., Perrin P.W., Lin W.C., Hall J.W. 1991. Effect of nitrogen fertilization on yield, storage losses and chemical composition of winter cabbage. *Canadian Journal of Plant Science*, 71: 943-946
- Geysen S., Geeraerd A.H., Verlinden B.E., Michiels C.W., Van Impe J.F., Nicola B.M. 2005. Predictive modelling and validation of *Pseudomonas fluorescens* growth at superatmospheric oxygen and carbon dioxide concentrations. *Food Microbiology*, 22: 149-158
- Gibbons E., Allwood M.C., Neal T., Hardy G. 2001. Degradation of dehydroascorbic acid in parenteral nutrition mixtures. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25: 605-611
- Gil M.I., Ferreres F., Tomasbarberan F.A. 1999. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 6: 2213-2217

- Gökmen V., Kahraman N., Demir N., Acar J. 2000. Enzymatically validated liquid chromatographic method for the determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 881: 309-316
- Green M.A., Fry S.C., 2005. Vitamin C degradation in plant cells via enzymatic hydrolysis of 4-O-oxalyl-L-threonate. *Nature*, 433: 83-87
- Greenberg E.R., Baron J.A., Tosteson T.D., Freeman D.H., Beck J.G., Bond J.H., Colacchio T.A., Collier J.A., Frankl H.D., Haile R.W., Mandel J.S., Nierenberg D.W., Rothstein R., Snover D.C., Stevens M.M., Summers R.W., van Stolk R.U. 1994. A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *New England Journal of Medicine*, 331: 141-147
- Guyton C.A. 1988. *Medicinska fiziologija*. 9th ed. Hrvatskosrbsko izdanje. Beograd, Zagreb, Medicinska knjiga: 1221-1222
- Haase N.U., Weber L. 2003. Ascorbic acid losses during processing of French fries and potato chips. *Journal of Food Engineering*, 56: 207-209
- Hagg M., Hakkinen U., Kumpulainen J., Ahvenainen R., Hurme E. 1998. Effects of preparation procedures, packaging and storage on nutrient retention in peeled potatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77: 519-526
- Harris R.S. 1975. Effects of agricultural practices on the composition of foods. V: Nutritional evaluation of food processing. Harris R. S., Karmas E. (Eds.). 2nd ed. Westport, AVI Publishing Company, CT: 33-57
- Hayley B., Kreith M. 2006. Commodity profile: Cabbage. Davis, University of California (February 2006)
http://aic.ucdavis.edu/profiles/Cabbage_2006.pdf (November 2006): 1-7
- Howard L.R., Hernandez-Brenes C. 1998. Antioxidant content and market quality of jalapeno pepper rings as affected by minimal processing and modified atmosphere packaging. *Journal of Food Quality*, 21: 317-327
- Howard L.R., Smith R.T., Wagner A.B., Villalon B., Burns E.E. 1994. Provitamin A and ascorbic acid content of fresh pepper cultivars (*Capsicum annuum*) and processed jalapenos. *Journal of Food Science*, 59: 362-365
- Howard, L.A., Wong, A.D., Perry, A.K., Klein, B.P. 1999. β -carotene and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables. *Journal of Food Science*, 64: 929-936
- Hrnčirik K., Valušek J., Velíšek J. 1998. A study on the ascorbigen formation and stability of in an aqueous system. *Food Chemistry*, 63, 3: 349-355

- Hussein A., Odumeru J.A., Ayanbadejo T., Faulkner H., McNab W.B, Hager H., Szijarto L. 2000. Effect of processing and packaging on vitamin C and β -carotene content of ready-to-use (RTU) vegetables. *Food Research International*, 33: 131-136
- Imer F., Sonmezoglu I.C., Kozcaz M. 2003. The role of buffers on the kinetics of L-ascorbic acid oxidation catalyzed by copper (II). *Italian Journal of Food Science*, 15: 521-529
- Jacxsens L., Devlieghere F., Van der Steen C., Debevere J. 2001. Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*, 71: 197-210
- Kabasakalis V., Siopidou D., Moshatou E. 2000. Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. *Food Chemistry*, 70: 325-328
- Kader A.A. 1980. Prevention of ripening in fruits by use of controlled atmospheres. *Food Technology*, 34:51-54
- Kader A.A., Ben-Yehoshua S. 2000. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 1-13
- Kader A. A., Morris L. L. 1978. Prompt handling reduces processing-tomato losses. *California Agriculture*, 32, 5: 21-22
- Kader A.A., Stevens M.A., Albright-Holten M., Morris L.L., Algazi M. 1977. Effect of fruit ripeness when picked on flavor and composition in fresh market tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102: 724-731
- Kader A.A., Zagory D., Kerbel E.L. 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28: 1-30
- Kaur C., Kapoor H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 703-725
- Kays S.J. 1991. Postharvest physiology of perishable plant products. New York, AVI book Van Nostrand Reinhold: 532 str.
- Keijbets M.J.H., Ebbenhorst-Seller G. 1990. Loss of vitamin C (L-ascorbic acid) during long-term cold storage of Dutch table potatoes. *Potato Research*, 33: 125-130
- Klein B.P., Perry A.K. 1982. Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *Journal of Food Science*, 47: 941-945
- Klieber A., Franklin B. 2000. Ascorbic acid content of minimally processed Chinese cabbage. *Acta Horticulturae*, 518: 201-204

- Klofutar C., Šmalc A., Rudan-Tasič D. 1998. Kvantitativno določanje vitamina C. V: Laboratorijske vaje iz kemije. Klofutar C., Šmalc A., Rudan-Tasič D. (ur.). 3. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 282-285
- Kobovc T. 2000. Določanje vsebnosti vitamina C v različnih vrstah zelenjave. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 4-60
- Kueller V. 1999. Vitamins: Ascorbic acid. V: Wiley encyclopedia of food science and technology: 4 volume set. 2nd ed. Francis F. J. (ed.). John Wiley & Sons: 2449-2467
- Lee H.S., Chen C.S. 1998. Rates of vitamin C loss and discoloration in clear orange juice concentrate during storage at temperatures of 4-24 °C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 11: 4723-4727
- Lee L., Arul J., Lencki R., Castaigne F. 1995. A review on modified atmosphere packaging and preservation of fresh fruits and vegetables: physiological basis and practical aspects. Part II. *Packaging Technology and Science*, 9: 1-17
- Lee S.K., Kader A.A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 207-220
- Lee Y., Howard L.R., Villalon B. 1995. Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *Journal of Food Science*, 60: 473-476
- Lehninger A.L. Nelson D.L., Cox M.M. 1993. Principles of biochemistry. 2nd ed. New York, Worth Publishers, Inc.: 397-428
- Leja M., Mareczek A., Starzyńska A., Rozek S. 2001. Antioxidant ability of broccoli flower buds during short-term storage. *Food Chemistry*, 72: 219-222
- Levine M., Rumsey S. C., Duruwala R., Park J. B., Wang Y. 1999. Criteria and recommendation for vitamin C intake. *Journal of the American Medical Association*, 281, 15: 1-9
- Liang Y., Lu J., Shang S. 1996. Effect of gibberellins on chemical composition and quality of tea (*Camellia sinensis* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72: 411-414
- Lipton W.J., Mackey B.E. 1987. Physiological and quality responses of Brussels sprouts to storage in controlled atmospheres. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 112: 491-496
- Lisiewska Z., Kmiecik W. 1996. Effect of level of nitrogen fertilizer, processing conditions and period of storage for frozen broccoli and cauliflower on vitamin C retention. *Food Chemistry*, 57: 267-270

- Lucier G., Lin B.-H. 2002. Cabbage heads higher. Washington DC, United States Department of Agriculture, Agricultural Outlook (September 2002)
<http://www.ers.usda.gov/publications/agoutlook/sep2002/ao294e.pdf> (Avgust 2006): 10-14
- Lykkesfeldt J. 2000. Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in biological samples by high-performance liquid chromatography using subtraction methods: Reliable reduction with tris[2-carboxyethyl]phosphine hydrochloride. Analytical Biochemistry, 282: 89-93
- Mali B. 1999. Vsebnost L-askorbinske kisline v izdelkih iz paprike. Diplomaska naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 4-64
- Matthews R.F., Hall J.W. 1978. Ascorbic acid, dehydroascorbic acid and diketogulonic acid in frozen green peppers. Journal of Food Science, 43: 532-534
- Mehlhorn H. 1990. Ethylene-promoted ascorbate peroxidase activity protects plants against hydrogen peroxide, ozone and paraquat. Plant, Cell and Environment, 13, 9: 971-976
- Memon A.M., Memon H.M., Dahot U.M., Ansari I.A. 2000. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceuticals by flow injection analysis using brown mono 1, 10-phenanthroline-iron (III) complex as an oxidant. Medical Journal of Islamic Academy of Sciences, 13, 2: 69-74
- Mihajlovič B.M. 1997. Zdravljenje s sadjem in zelenjavo. Ljubljana, ČZP, Kmečki glas: 168-312
- Miller E.V., Heilman A.S. 1952. Ascorbic acid and physiological breakdown in the fruits of the pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). Science, 116: 505-506
- Miquel E., Alegría A., Barberá R., Farré R., Clemente G. 2004. Stability of tocopherols in adapted milk-based infant formulas during storage. International Dairy Journal, 14: 1003-1011
- Mitchell G.E., McLauchlan R.L., Isaacs A.R., Williams D.J., Nottingham S.M. 1992. Effect of low dose irradiation on composition of tropical fruits and vegetables. Journal of Food Composition and Analysis, 5: 291-311
- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7, 9: 405-410
- Mohamed S., Kyi K.M.M., Sharif Z.M. 1993. Protective effect of cysteine-HCl on vitamin C in dehydrated pickled: candied pineapples and guava. Journal of the Science of Food and Agriculture, 61: 133-136

- Mondy N.I., Leja M. 1986. Effect of mechanical injury on the ascorbic acid content of potatoes. *Journal of Food Science*, 51: 355-357
- Moretti C.L., Sargent S.A., Huber D., Calbo A.G., Puschmann R. 1998. Chemical composition and physical properties of pericarp, locule, and placental tissues of tomatoes with internal bruising. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123: 656-660
- Mosha T.C., Gaga H.E., Pace R.D., Laswai H.S., Mtebe K. 1995. Effect of blanching on the content of anti nutritional factors in selected vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, 47: 361-367
- Mozafar A. 1993. Nitrogen fertilizers and the amount of vitamins in plants. *Journal of Plant Nutrition*, 16: 2479-2506
- Mozafar A. 1994. *Plant vitamins: Agronomic, physiological and nutritional aspects*. Boca Raton, Florida, CRC Press: 186-196
- Muller K., Hippe J. 1987. Influence of differences in nutrition on important quality characteristics of some agricultural crops. *Plant Soil*, 100: 35-45
- Nagy S. 1980. Vitamin C contents of citrus fruit and their products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28: 8-18
- Nelson J.W., Barritt B.H., Wolford E.R. 1972. Influence of location and cultivar on color and chemical composition of strawberry fruit. *Washington Agricultural Experiment Station, Technical Bulletin*, 74: 1-7
- Nisperos-Carriedo M.O., Buslig B.S., Shaw P.E. 1992. Simultaneous detection of dehydroascorbic, ascorbic, and some organic acids in fruits and vegetables by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1127-1130
- Oerlemans K., Barrett D., Suades C.B., Verkerk R., Dekker M. 2006. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chemistry*, 95: 19-29
- Oruna-Concha M.J., Gonzalez-Castro M.J., Lopez-Hernandez J., Simal-Lozano J. 1997. Monitoring of the vitamin C content of frozen green beans and Padron peppers by HPLC. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76: 477-480
- Osvald J., Kogoj-Osvald M. 1994. *Pridelovanje zelenjave na vrtu*. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 241 str.
- Pantos C.E., Markakis P. 1973. Ascorbic acid content of artificially ripened tomatoes. *Journal of Food Science*, 33: 550-551

- Paradis C., Castaigne F., Desrosiers T., Fortin J., Rodrigue N., Willemot C. 1996. Sensory, nutrient and chlorophyll changes in broccoli florets during controlled atmosphere storage. *Journal of Food Quality*, 19: 303-316
- Park E.J. and Pezzuto J.M. 2002. Botanicals in cancer chemoprevention. *Cancer and Metastasis Reviews*, 21: 231-255
- Pe´rez A.G. and Sanz C. 2001. Effect of high-oxygen and high-carbondioxide atmospheres on strawberry flavor and other quality traits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2370-2375
- Podsędek A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 40: 1-11
- Ponne C.T., Baysal T., Yuksel D. 1994. Blanching leafy vegetables with electromagnetic energy. *Journal of Food Science*, 59: 1037-1041
- Poredoš T. 2006. Stabilnost askorbinske in dehidroaskorbinske kisline v vodnih raztopinah. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 3-51
- Požrl T. 2001. Regulacija metabolnih sprememb zelja s pakiranjem v modificirano atmosfero. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 3-23
- Prange R.K., Lidster P.D. 1991. Controlled atmosphere and lighting effects on storage of winter cabbage. *Canadian Journal of Plant Science*, 71: 263-268
- Referenčne vrednosti za vnos hranil. 2004. 1. izd. Ljubljana, Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 119-125
- Riad G. 2004. Atmosphere modification to control quality deterioration during storage of fresh sweetcorn cobs and fresh-cut kernels. Dissertation. Gainesville, University of Florida: 125-126
- Rubatzky V.E., Yamaguchi M. 1997. World vegetables: principles, production and nutritive values. 2nd ed. New York, Chapman and Hall: 551-561
- Sablani S.S., Opara L.U., Al-Balushi K. 2006. Influence of bruising and storage temperature on vitamin C content of tomato fruit. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 4, 1: 54-56
- Sarić M., Krstič B., Stanković Ž. 1987. Fiziologija biljaka. Beograd, Naučna knjiga: 538 str.
- Seung L.K., Kader A.A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 207-220

- Sorensen J.N., Johansen A.S., Poulsen N. 1994. Influence of growth conditions on the value of crisphead lettuce. 1. Marketable and nutritional quality as affected by nitrogen supply, cultivar and plant age. *Plant Foods for Human Nutrition*, 46: 1-11
- Statistični urad Republike Slovenije. 2005. Kmetijstvo in ribištvo. Ljubljana, Statistični letopis Republike Slovenije (december 2005)
<http://www.stat.si/letopis/2005/16-05.pdf> (november 2006): 298-299
- Stewart D. 2003. Effect of high O₂ and N₂ atmospheres on strawberry quality. *Acta Horticulturae*, 600: 567-570
- Svirbely J.L., Szent-Gyorgyi A. 1932. The chemical nature of vitamin C. *Biochemical Journal*, 26: 865-870
- Szent-Gyorgyi A. 1928. Observations on the function of peroxidase systems and the chemistry of the adrenal cortex. *Biochemical Journal*, 22: 1387-1409
- Tian S.P., Xu Y., Jiang A.L., Gong Q.Q. 2002. Physiological and quality responses of longan fruits to high-O₂ or high-CO₂ atmospheres in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 24: 335-340
- Tian S.-P., Li Q.-B., Xu Y. 2005. Effects of O₂ and CO₂ concentrations on physiology and quality of litchi fruit in storage. *Food Chemistry*, 91: 659-663
- Tudela J.A., Espín J.C., Gil M.I. 2002. Vitamin C retention in fresh-cut potatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 26: 75-84
- Van der Steen C., Devlieghere F. and Debevere J. 2003. High oxygen concentration in combination with elevated carbon dioxide to affect growth of fresh-cut produce microorganisms. *Acta Horticulturae*, 599: 141-147
- Van der Steen C., Jacxsens L., Devlieghere F., Debevere J. 2002. Combining high oxygen atmospheres with low oxygen modified atmosphere packaging to improve the keeping quality of strawberries and raspberries. *Postharvest Biology and Technology*, 26: 49-58
- Vanderslice J.T., Higgs D.J., Hayes J.M., Block G. 1990. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid content of foods-as eaten. *Journal of Food Composition and Analysis*, 3, 2: 105-118
- Veltman R.H., Kho R.M., van Schaik A.C.R., Sanders M.G., Oosterhaven J. 2000. Ascorbic acid and tissue browning in pears (*Pyrus communis* L. cv. Rocha and Conference) under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 19: 129-137
- Veltman R.H., Sanders M.G., Persijn S. T., Peppelenbos H.W., Oosterhaven J. 1999. Decreased ascorbic acid levels and brown core development in pears (*Pyrus communis* L. cv. Conference). *Physiologia Plantarum*, 107: 39-45

- Verkerk R. 2002. Evaluation of glucosinolate levels throughout the production chain of Brassica vegetables. Towards a novel predictive modeling approach. Thesis. Wageningen, Wageningen University: 2-38
- Vidrih R. 1996. Metabolne in molekularne spremembe v aerobno-anaerobnem ravnotežju v plodovih breskev in kivija. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 86 str.
- Wang C.Y. 1983. Postharvest responses of Chinese cabbage to high CO₂ treatment or low O₂ storage. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 108: 125-129
- Watada A.E., Aulenbach B.B., Worthington J.T. 1976. Vitamins A and C in ripe tomatoes as affected by stage of ripeness at harvest and supplementary ethylene. *Journal of Food Science*, 41: 856-858
- Watada, A.E., Ko N.P., Minott D.A. 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 115-125
- Wechtersbach L. 2005. Stabilnost polarnih in nepolarnih antioksidantov v kompleksnem matriksu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 3-26
- Wszelaki A., Mitcham E. 1999. Elevated oxygen atmospheres as a decay control alternative on strawberry. *HortScience*, 34:514-515
- Wu Y., Perry A.K., Klein B.P. 1992. Vitamin C and β -carotene in fresh and frozen green beans and broccoli in simulated system. *Journal of Food Quality*, 15: 87-96
- Yong L.C., Brown C.C., Schatzkin A., Dresser C.M., Slesinski M.J., Cox C.S., Taylor P.R. 1997. Intake of vitamins E, C and A and risk of lung cancer. *American Journal of Epidemiology*, 146: 231-243
- Zepplin M., Elvehjein C.A. 1944. Effect of refrigeration on retention of ascorbic acid in vegetables. *Food Research*, 9: 100-111
- Zheng Y., Wang S.Y., Wang C.Y., Zheng W. 2007. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 40: 49-57

ZAHVALA

Za vso strokovno pomoč, vodenje, koristne nasvete pri izdelavi diplomskega dela in potrpežljivost z mano se v največji meri iskreno zahvaljujem mentorju doc. dr. Blažu Čigiću.

Prav tako se zahvaljujem recenzentu doc. dr. Andreju Plestenjaku za nasvete in popravke pri zaključnem oblikovanju diplomskega dela.

Posebna zahvala gre tudi mag. Tomažu Požrlu, ki mi je stal ob strani in pomagal priskrbeti ves potreben material, ki sem ga potreboval za uspešno izvedbo svojih poskusov.

Zahvalo dolgujem osebju knjižnice Oddelka za živilstvo, ki je strpno prenašalo zamujanje z vračanjem literature.

Zahvalil bi se tudi svoji družini za razumevanje in potrpežljivost v mojih dolgih letih študija in jamranja. Hvala!

In na koncu naj se zahvalim še svoji ljubi puncici Ani. Hvala ker mi stojiš ob strani in me venomer podpiraš in razumeš!