

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tjaša ŠTRUKELJ

**SPREMEMBE VSEBNOSTI GLUKOZINOLATOV IN NEKATERIH
ANTIOKSIDANTOV V NAREZANEM ZELJU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**CHANGES IN CONTENT OF GLUCOSINOLATES AND SOME
ANTIOXIDANTS IN SHREDDED CABBAGE**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologije, prehrano in vino, Katedri za kemijo in biokemijo in na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Za mentorja diplomskega dela je imenovan doc. dr. Tomaž Požrl, za somentorja doc. dr. Blaž Cigić in za recenzenta prof. dr. Marjan Simčič.

Mentor: doc. dr. Tomaž POŽRL

Somentor: doc. dr. Blaž CIGIĆ

Recenzent: prof. dr. Marjan SIMČIČ

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Tjaša Štrukelj

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 664.8.035 : 635.34 : 547.9 : 577.16 (043) = 163.6
KG	zelje/ narezano zelje/ dihanje/ kontrolirana atmosfera/ skladiščenje zelja/ glukozinolati/ L-askorbinska kislina/ vitamin C/ glutation/ antioksidanti
AV	ŠTRUKELJ, Tjaša
SA	POŽRL, Tomaž (mentor)/ CIGIČ, Blaž (somentor)/ SIMČIČ, Marjan (recenzent)
KZ	SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2012
IN	SPREMEMBE VSEBNOSTI GLUKOZINOLATOV IN NEKATERIH ANTIOKSIDANTOV V NAREZANEM ZELJU
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XII, 62 str., 12 pregl., 15 sl., 28 pril., 115 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Mehanska obdelava zelja vodi do sprememb v vsebnosti biološko aktivnih molekul kot so glukozinolati, antioksidanti in vitamini. Naš namen je bil ugotoviti, kako stopnja mehanske poškodbe (2 mm in 0,5 mm debelina rezanja), temperatura skladiščenja (8 °C in 20 °C), čas in sestava plinske faze (normalna atmosfera in 100 % O ₂), vpliva na vsebnost glukozinolatov, askorbinske kisline, skupnega vitamina C, glutationa in skupnih antioksidantov. V vzorcih zelja smo določili večje vsebnosti glukobrazicina, neoglukobrazicina, sinigrina in glukonasturtina. Vsebnost skupnih glukozinolatov v zelju je bila 73-119 µmol/100 g sveže vrtnine. Pri rezanju na debelino 0,5 mm smo določili po petih minutah manj skupnih glukozinolatov kot v nenarezanem zelju, medtem ko se je vsebnost skupnih glukozinolatov v zelju narezanem na 2 mm povečala. Vsebnost glukozinolatov se je spreminjala tudi s časom in temperaturo, sestava plinske faze pa ni vplivala na vsebnost glukozinolatov. Pri 20 °C smo takoj po rezanju določili manjšo vsebnost glutaciona v primerjavi z 8 °C. Med shranjevanjem narezanega zelja se je vsebnost glutaciona in skupnih antioksidantov povečala. Atmosfera s 100 % O ₂ ni značilno vplivala na povečano vsebnost glutaciona in skupnih antioksidantov.

KEY WORD DOCUMENTATION

DN	Dn
DC	UDC 664.8.035 : 635.34 : 547.9 : 577.16 (043) = 163.6
CX	cabbage/ shredded cabbage/ respiration/ controlled atmosphere/ storage of cabbage/ glucosinolates/ L-ascorbic acid/ vitamin C/ glutathione/ antioxidants
AU	ŠTRUKELJ, Tjaša
AA	POŽRL, Tomaž (supervisor)/ CIGIĆ, Blaž (co-advisor)/ SIMČIČ, Marjan (reviewer)
PP	SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB	University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY	2012
TI	CHANGES IN CONTENT OF GLUCOSINOLATES AND SOME ANTIOXIDANTS IN SHREDDED CABBAGE
DT	Graduation Thesis (University studies)
NO	XII, 62 p., 12 tab., 15 fig., 28 ann., 115 ref.
LA	Sl
AL	sl/en
AB	Mechanical tissue damage of fresh shredded cabbage results in the changes in the content of biologically active molecules as glucosinolates, antioxidants and vitamins. The purpose of the investigation was to determine how the degree of mechanical injury (cutting thickness of 2 mm and 0,5 mm), storage temperatures (8 °C and 20 °C), time and composition of the gas phase (normal atmosphere and 100 % O₂), affects the content of glucosinolates, ascorbic acid, total vitamin C, glutathione and total antioxidant content. In cabbage samples high contents of glucobrassicin, neoglucobrassicin, sinigrin and glukonasturtiin were determined. The content of total glucosinolates in cabbage varied from 73 to 119 µmol/100 g of fresh vegetables. When cut at a thickness of 0,5 mm, less total glucosinolates were determined after five minutes in shredded cabbage than in uncut cabbage, while the content of total glucosinolates in cabbage sliced into 2 mm thickness increased. The content of glucosinolates has also changed with time and temperature, but the gas phase composition did not affect the glucosinolates content. At 20 °C immediately after cutting lower content of glutathione was determined in comparison to 8 °C. During storage the content of glutathione and total antioxidants in shredded cabbage increased. Atmosphere with 100 % O₂ did not significantly affect the increased content of glutathione and total antioxidants.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORD DOCUMENTATION.....	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DIPLOMSKE NALOGE.....	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE.....	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 ZELJE.....	2
2.1.1 Pridelovanje	3
2.1.2 Sorte zelja	3
2.1.3 Skladiščenje.....	3
2.2 DIHANJE	4
2.2.1 Dejavniki, ki vplivajo na intenziteto dihanja	5
2.3 MODIFICIRANA IN KONTROLIRANA ATMOSFERA	7
2.3.2 Atmosfera z velikim deležem kisika.....	7
2.3.1 Atmosfera z majhnim deležem kisika	7
2.4 GLUKOZINOLATI	8
2.4.1 Kemijska zgradba in delitev glukozinolatov	8
2.4.2 Vloga glukozinolatov v rastlinah in njihova funkcija	11
2.4.3 Hidroliza glukozinolatov in mirozinaza	12
2.4.4 Vpliv predelave na vsebnost glukozinolatov	14
2.5 ANTIOKSIDANTI.....	16
2.5.1 Oksidativni stres	17
2.5.2 L-askorbinska kislina	17
2.5.2.1 Določanje skupnega vitamina C	18
2.5.3 Glutation.....	19
2.5.3.1 Določanje glutaciona.....	20
2.5.4 Določanje skupnih antioksidantov s Folin-Ciocaltejevim reagentom	20
3 MATERIALI IN METODE DELA	22
3.1 MATERIALI	22
3.2 NAČRT DELA	24
3.2.1 Analiza vzorcev.....	27
3.3 METODE DELA	28
3.3.1 Določanje glukozinolatov v zelju.....	28
3.3.2 Določanje L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C.....	30
3.3.2.1 Izračun vsebnosti askorbinske kisline (L-AK)	32
3.3.2.2 Izračun vsebnosti skupnega vitamina C	32
3.3.3 Določanje glutaciona.....	33
3.3.4 Določanje skupnih antioksidantov s Folin-Ciocaltejevim reagentom	34
4 REZULTATI.....	36
4.1 VSEBNOST GLUKOZINOLATOV V NAREZANEM ZELJU.....	36

4.1.1 Vpliv debeline rezanja in časa skladiščenja pri 8 °C na vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju	36
4.1.1.1 Rezanje zelja na debelino 0,5 mm	36
4.1.1.2 Rezanje zelja na debelino 2 mm	37
4.1.2 Vpliv debeline rezanja in časa skladiščenja pri 20 °C na vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju	38
4.1.2.1 Rezanje zelja na debelino 0,5 mm	38
4.1.2.2 Rezanje zelja na debelino 2 mm	38
4.1.3 Vpliv sestave plinske faze na vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju..	39
4.2 VSEBNOST L-ASKORBINSKE KISLINE IN SKUPNEGA VITAMINA C V ZELJU	40
4.2.1 Vpliv debeline rezanja in temperature skladiščenja na spremembe vsebnosti L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C v narezanem zelju	40
4.2.2 Vpliv sestave plinske faze na spremembe vsebnosti L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C v narezanem zelju	41
4.3 VSEBNOST GLUTATIONA IN SKUPNIH ANTIOKSIDANTOV V NAREZANEM ZELJU	42
4.3.1 Vpliv debeline rezanja in temperature skladiščenja na spremembe vsebnosti glutaciona in skupnih antioksidantov s Folin-Ciocalteujevim reagentom v narezanem zelju	42
4.3.2 Vpliv sestave plinske faze na spremembe vsebnosti glutaciona in skupnih antioksidantov določenih s F.C. reagentom v narezanem zelju	44
5 RAZPRAVA IN SKLEPI.....	45
5.1 RAZPRAVA.....	45
5.1.1 Glukozinolati.....	45
5.1.1.1 Vpliv debeline rezanja, temperature in časa skladiščemja na spremembe vsebnosti glukozinolatov v narezanem zelju	47
5.1.1.2 Vpliv sestave plinske faze na spremembe vsebnosti glukozinolatov v narezanem zelju	47
5.1.2 L-askorbinska kislina in skupni vitamin C v narezanem zelju	47
5.1.3 Glutacion in skupni antioksidanti v narezanem zelju	48
5.1.3.1 Vpliv debeline rezanja, temperature in časa skladiščenja na spremembe vsebnosti reducirane oblike glutaciona in skupnih antioksidantov v narezanem zelju	48
5.1.3.2 Vpliv sestave plinske faze na spremembe vsebnosti reducirane oblike glutaciona in skupnih antioksidantov v narezanem zelju	49
5.2 SKLEPI.....	50
6 POVZETEK.....	51
7 VIRI	53
ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Kemijska sestava zelja (Hribar, 2002).....	2
Preglednica 2: Najbolj pogosti glukozinolati v vrtninah iz družine križnic (Verkerk, 2002:15).....	9
Preglednica 3: Vsebnost skupnih glukozinolatov v različnih vrtninah ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$ sveže vrtnine) (Verkerk, 2002: 10-14)	11
Preglednica 4: Gradient mobilne faze	29
Preglednica 5: Vsebnost glukozinolatov v certificiranem referenčnem materialu BCR-367 (Fluka) (zrna oljne repice).....	30
Preglednica 6: Priprava standardnih raztopin L-askorbinske kisline za umeritveno krivuljo (priloga K)	32
Preglednica 7: Priprava standardnih raztopin glutaciona za umeritveno krivuljo	34
Preglednica 8: Priprava standardnih raztopin L-askorbinske kisline za umeritveno krivuljo	35
Preglednica 9: Vpliv debeline rezanja na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C v narezanem zelju, skladiščenem pri 8 °C in 20 °C.....	41
Preglednica 10: Vpliv sestave atmosfere na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C v narezanem zelju, rezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem pri 8 °C.....	42
Preglednica 11: Vpliv debeline rezanja na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) glutaciona in skupnih antioksidantov določenih s F.C. reagentom v narezanem zelju, skladiščenem pri 8 °C in 20 °C.....	43
Preglednica 12: Vpliv sestave atmosfere na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) glutaciona in skupnih antioksidantov določenih s F.C. reagentom v narezanem zelju na debelino 0,75 mm in skladiščenem pri 8 °C	44

KAZALO SLIK

Slika 1: Glavne metabolične poti glukoze pri rastlinah in živalih (Boyer, 2005:394)	4
Slika 2: Osnovna struktura glukozinolatov (Robertson in Batting, 1999)	8
Slika 3: Kemijske formule glukozinolatov analizirane v diplomskem delu (Požrl, 2009) .	10
Slika 4: Primeri osnovnih oblik glukozinolatov, hidroliza in razgradni produkti hidrolize glukozinolatov (Travers-Martin in sod., 2008).	13
Slika 5: L-askorbinska kislina (L-AK) (Kuellmer, 1999)	17
Slika 6: Mehanizem redukcije DHA v AK s TCEP (Lykkesfeld, 2000).....	19
Slika 7: Hladilna komora (8 °C) z vzorci zelja narezanimi na ustrezni debelini (0,5 mm in 2 mm).....	25
Slika 8: Vpliv kontrolirane atmosfere (100 % O ₂ in sintetični zrak) na vsebnost glukozinolatov in nekaterih antioksidantov v narezanem zelju.....	26
Slika 9: Shema priprave vzorcev narezanega zelja	27
Slika 10: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 0,5 mm in skladiščenem pri 8 °C.....	36
Slika 11: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 2 mm in skladiščenem pri 8 °C.....	37
Slika 12: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 0,5 mm in skladiščenem pri 20 °C.....	38
Slika 13: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 2 mm in skladiščenem pri 20 °C.....	38
Slika 14: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s 100 % kisikom pri 8 °C.....	39
Slika 15: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s sintetičnim zrakom pri 8 °C	39

KAZALO PRILOG

Priloga A: Umeritvena krivulja za progoitrin

Priloga C: Umeritvena krivulja za glukonapin

Priloga D: Umeritvena krivulja za 4-hidroksiglukobrazicin

Priloga E: Umeritvena krivulja za glukobrazikanapin

Priloga F: Umeritvena krivulja za glukobrazicin

Priloga G: Umeritvena krivulja za glukotalizin

Priloga H: Umeritvena krivulja za neoglukobrazicin

Priloga I: Umeritvena krivulja za glukonasturtin

Priloga J: Umeritvena krivulja za sinigrin

Priloga K: Umeritvena krivulja za L-askorbinsko kislino

Priloga L: Umeritvena krivulja za določanje glutationa

Priloga M: Umeritvena krivulja za določanje skupnih antioksidantov s Folin-Ciocalteaujevim reagentom

Priloga N1: Vsebnost L-AK v narezanem zelju pri različni debelini (0,5 mm in 2 mm), temperaturi 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

Priloga N2: Vsebnost L-AK v narezanem zelju pri različni debelini (0,5 mm in 2 mm), temperaturi 8 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

Priloga N3: Vsebnost L-AK v narezanem zelju pri prepihovanju s kisikom ali zrakom pri določenem času (2 h, 12 h, 24 h, 72 h, 120 h)

Priloga O1: Vsebnost skupnega vit C v narezanem zelju pri različni debelini (0,5 mm in 2 mm), temp. 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

Priloga O2: Vsebnost skupnega vit C v narezanem zelju pri različni debelini (0,5 mm in 2 mm), temp. 8 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

Priloga O3: Vsebnost skupnega vit C v narezanem zelju pri prepihovanju s kisikom ali zrakom pri določenem času (2 h, 12 h, 24 h, 72 h, 120 h)

Priloga P1: Vsebnost reducirane oblike glutaciona v narezanem zelju pri debelini 0,5 mm, temperaturi 8 °C in 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

Priloga P2: Vsebnost reducirane oblike glutaciona v narezanem zelju pri debelini 2 mm, temperaturi 8 °C in 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

Priloga P3: Vsebnost reducirane oblike glutaciona v narezanem zelju pri prepihovanju s kisikom ali zrakom pri določenem času (2 h, 12 h, 24 h, 72 h, 120 h)

Priloga R1: Vsebnost skupnih antioksidantov s F.C. reagentom v narezanem zelju pri debelini 0,5 mm, temperaturi 8 °C in 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

Priloga R2: Vsebnost skupnih antioksidantov s F.C. reagentom v narezanem zelju pri debelini 2 mm, temperaturi 8 °C in 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

Priloga R3: Vsebnost skupnih antioksidantov s F.C. reagentom v narezanem zelju pri prepihovanju s kisikom ali zrakom pri določenem času (2 h, 12 h, 24 h, 72 h, 120 h)

Priloga S1: Vpliv intenzitete mehanske poškodbe in časa merjenja na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) glukozinolatov v narezanem zelju, skladiščenem pri 8 °C

Priloga S2: Vpliv intenzitete mehanske poškodbe in časa merjenja na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) glukozinolatov v narezanem zelju, skladiščenem pri 20 °C

Priloga S3: Vpliv atmosfere, s katero smo vzorce prepihovali na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) glukozinolatov v narezanem zelju, skladiščenem pri 8 °C

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ADP	adenozindifosfat
AH	antioksidant
AK	askorbinska kislina
ATP	adenozintrifosfat
CA	kontrolirana atmosfera
CoA	koencim A
CyP450	citokrom P450
C ₆ H ₁₂ O ₆	glukoza
DHA	dehidroaskorbinska kislina
DHAR	DHA-reduktaza
DNK	deoksiribonukleinska kislina
DPPH·	2,2-difenil-1-pikril-hidrazil
DTNB	5,5-ditio-bis-2-nitrobenzojska kislina
DTT	ditiotreitol
EDTA	etilendiamin tetraacetat
EMA	ravnotežna modificirana atmosfera
ESI	elektrosprej ionizacija
ESP	(ang. epithiospecifier protein)
EVOH	etilen vinil alkohol
F.C.	Folin-Ciocalteujev reagent
FAD	flavinadenindinukleotid
FADH ₂	flavinadenindinukleotid (reducirana oblika)
GSH	glutation (reducirana oblika)
GSSG	glutation (oksidirana oblika)
GTP	gvanintrifosfat
HPLC	visokotlačna tekočinska kromatografija
ITC	izotiocianat
L-AK	L-askorbinska kislina
LC/MS	tekočinska kromatografija sklopljena z masnim spektrometrom
MAM	metil tioalkil malat
MAP	pakiranje v modificirano atmosfero
MDA	monodehidroaskorbinska kislina
MeOH	metanol
MFK	metafosforna kislina
m/z	kvocient masa/naboj
NAD ⁺	nikotinamid dinukleotid (oksidirana oblika)
NADH	nikotinamid dinukleotid (reducirana oblika)
NADPH	nikotinamid dinukleotid fosfat (reducirana oblika)
PAPS	3-fosfoadenozin 5-fosfosulfat
PE	polietilen
PP	polipropilen
R	stranska veriga
RNK	ribonukleinska kislina
ROS	reaktivne kisikove zvrsti

TCEP	tris(2-karboksietil)fosfin
TFA	trifluoroocetna kislina
TNB	2-nitro-5-tiobenzojska kislina
UDP	uridindifosfat
UV	ultravijolično valovanje

1 UVOD

Zaradi hitrega in sodobnega načina življenja so se v zadnjih letih zelo spremenile prehranske navade. Vse večje je povpraševanje po živilih rastlinskega izvora, ki jih je mogoče hitro in enostavno pripraviti (ready to use-pripravljeno za direktno uporabo), kamor spada tudi sveže narezano sadje in zelenjava (fresh cut food). Poraba teh izdelkov strmo narašča, zato je potrebno med samo proizvodnjo zagotoviti čim manjšo izgubo biološko aktivnih molekul (glukozinolatov, antioksidantov). Zahteve potrošnikov težijo k sveže pripravljeni zelenjavi in sadju, ki je nespremenjenega okusa z nižjo energetsko gostoto, veliko prehransko vrednostjo in naravnimi antioksidanti.

Mehanske poškodbe (rezanje) zelja oz. kapusnic vplivajo na vsebnost biološko aktivnih komponent (glukozinolatov, antioksidantov, vitaminov, barvil in drugih), spreminjajo sestavo, dostopnost in učinkovitost le teh. Proces predelave začeni s skladiščenjem in kasneje procesiranjem ter pakiranjem lahko s fizikalnimi parametri kot so temperatura, vlaga, sestava atmosfere, barierne lastnosti embalažnih materialov in ne nazadnje čas skladiščenja in obdelave, močno vpliva na vsebnost in sestavo bioaktivnih substanc. Detaljnije poznavanje sprememb različnih komponent sadja in zelenjave bi lahko dalo odgovor, ali so „fresh cut“ izdelki lahko ustrezna zamenjava za sveže pripravljeno hrano.

V diplomskem delu smo se posvetili predvsem raziskavam glukozinolatov ter nekaterih antioksidantov.

1.1 NAMEN DIPLOMSKE NALOGE

Namen diplomske naloge je bil spremljati spremembe vsebnosti glukozinolatov in nekaterih antioksidantov (L-askorbinske kisline, skupni vitamin C, glutation, skupni antioksidanti) pri različni debelini rezanja zelja, času, temperaturi in atmosferi v kateri smo zelje hranili.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Pričakujemo, da bo mehanska obdelava, čas, temperatura in sestava atmosfere v kateri smo zelje hranili vplivala na vsebnost glukozinolatov, L-askorbinske kisline, skupnega vitamina C, reducirane oblike glutaciona in antioksidativni potencial oz. vsebnost skupnih antioksidantov.

Predvidevamo, da bo pri višji intenziteti rezanja vsebnost skupnih glukozinolatov nižja, da se bo vsebnost glukozinolatov s časom spreminjala in, da bodo pri nižji temperaturi višje vsebnosti skupnih glukozinolatov.

Menimo, da se bo pri intenzivnejši mehanski obdelavi bolj zmanjšala vsebnost askorbinske kisline in glutaciona. Pričakujemo, da bomo s shranjevanjem v atmosferi z velikim deležem kisika (100 %) uspeli podaljšati aerobno fazo in s tem podaljšali čas, v katerem se bodo tvorili antioksidanti, katerih vrednost naj bi se zaradi mehanske obdelave zmanjšala.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ZELJE

Zelje (*Brasica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) var. *capitata*) spada v družino križnic *Brassicaceae* (Cruciferae), kamor uvrščamo tudi ohrovt, brokoli, cvetačo, brstični ohrovt, kolerabo in druge (Singh in sod., 2006). Vzgojili so ga iz divje vrste, ki ponekod še zdaj raste avtohtono. Pridelovali so ga že stari Grki in Rimljani (Osvald in Kogoj-Osvald, 2003).

Zelje ima kar močno razvito korenino, ki je lahko dolga tudi do 1,5 m z mnogimi stranskimi koreninicami. Glavo z vretenom in kocenom razvije nad tlemi. Glave obkrožajo listi, imenovani vehe, ki se ločijo po obliki, barvi, številu in legi. Cvet je rumene barve (Osvald in Kogoj-Osvald, 2003).

Dokler ni bilo agrumov, so bili glavni zimski viri vitamina C kapusnice, predvsem zelje. Pomen zelja za prehrano ljudi je bil v preteklosti večji kot danes, saj je bilo zelje v zimskih mesecih skoraj 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).

Preden se je zelje uporabljalo za prehrano ljudi, so ga uporabljali v medicinske namene za blažitev glavobolov, diareje in za zdravljenje ran na želodcu (Singh in sod., 2006). Epidemiološke raziskave so potrdile, da ima zelje močan antioksidativen učinek na organizem, preprečuje degenerativne bolezni ter nastanek raka in kardiovaskularnih bolezni (Block in sod., 1992). Zaščitno vlogo imajo predvsem askorbinska kislina, α -tokoferol in β -karoten (Prior in Cao, 2000).

V zadnjem času je presno zelje postalo pomembna vrtnina, saj glukozinolatom pripisujejo antikancerogene učinke (Van Duyn in Pivonka, 2000).

Presno zelje vsebuje esencialne aminokisline (arginin, izolevcin, levcin, valin, lizin, histidin, treonin), prehranske vlaknine, organske kisline, vitamine in minerale (Černe, 1998).

Preglednica 1: Kemijska sestava zelja (Hribar, 2002)

SESTAVA	(%)
Voda	88 – 99,4
Sladkorji	2,9 – 8
Surova vlaknina (celuloza)	0,5 – 1,6
Beljakovine	1,3 – 2,7
Maščobe	0,15 – 0,20
Kisline (citronska, jabolčna, oksalna)	0,25
Pepel	0,4 – 2,4
Askorbinska kislina	0,04 – 0,05
Žveplove spojine	0,075 - 0,340

2.1.1 Pridelovanje

Kapusnice dobro uspevajo v zmernem in toplem vremenu. Zahtevajo veliko vlage, zato so v letih z obilnimi padavinami in nižjimi temperaturami pridelki izredno veliki ter prej dozoriijo. Kapusnice niso zahtevne vrtnine, zato jih lahko uspešno pridelujemo skoraj povsod. Zelje najboljše uspeva v srednje težkih, humosnih, peščeno-glinastih, globokih tleh (Černe, 1998). Glede kolobarjenja pa so zahtevne, zato jih lahko sadimo na isto mesto vsake 3 do 4 leta (Osvald in Kogoj-Osvald, 2003).

Pridelke zelja spravljamo, ko so glave povsem sklenjene – na prehodu v tehnološko zrelost, ko se teme glave pobeli. Tehnološki zrelosti sledi faza odmiranja. Tukaj nežni listi postanejo temnejši in črnijo, pri nekaterih sortah glave celo pokajo (Osvald in Kogoj-Osvald, 1994).

2.1.2 Sorte zelja

V Sloveniji poznamo avtohtone sorte zelja (Ljubljansko, Kašeljško ...), vendar pri pridelovanju prevladujejo hibridi, ker omogočajo boljšo kakovost pridelka. S tem dobimo možnost sočasnega pobiranja, večji pridelek, bolj primerni so za skladiščenje, odpornejši proti boleznim in pokanju in so lahko zato dalj časa na polju (Osvald in Kogoj-Osvald, 2003).

Glede na čas pobiranja ločimo: zgodnje sorte belega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti 50 do 70 dni), srednje zgodnje sorte belega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti 71 do 100 dni), srednje pozne sorte belega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti 100 do 130 dni) in pozne sorte belega zelja (od presajanja do tehnološke zrelosti več kot 130 dni) (Osvald in Kogoj-Osvald, 1994).

Glede na namen porabe razlikujemo:

- sorte, ki se neposredno prodajajo na trg (pomembna je velikost glav, zunanja kakovost in oblika glav, barva, debelina listov)
- sorte primerne za kisanje (pomembna je trdota glav, masa, debelina listov)
- sorte primerne za skladiščenje (čvrstost glav, odpornost proti pokanju, vsebovati veliko sušine in biti odporne proti različnim fiziološkim boleznim) (Černe, 1998).

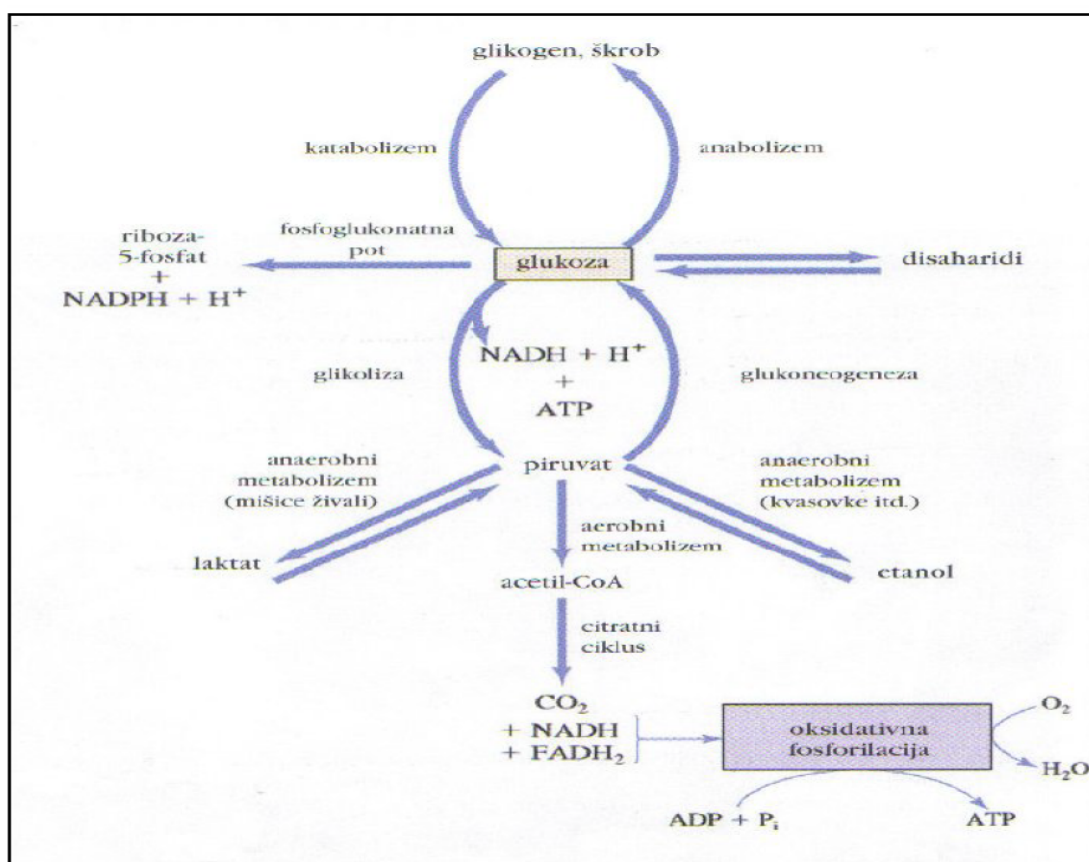
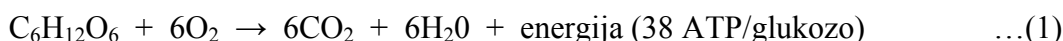
2.1.3 Skladiščenje

Shranjevanje zelja lahko poteka več mesecev v skladiščih s kontrolirano atmosfero, kjer je do 6 % CO₂ in do 3 % O₂ pri temperaturi od 0-1 °C in relativni vlagi 92-98 %. S kontrolirano atmosfero se zmanjšajo izgube zaradi dihanja, manj je bolezni, listi pa ohranijo prvotno barvo (Černe, 1998).

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 oksidativno razgradnjo kompleksnih spojin kot so ogljikovi hidrati, proteini in lipidi v preprostejše molekule kot sta ogljikov dioksid in voda, pri tem 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 prikažemo s kemijsko reakcijo:



Slika 1: Glavne metabolične poti glukoze pri rastlinah in živalih (Boyer, 2005:394)

Sproščena energija se v večini pretvori v toplotno energijo, ki jo sadje in zelenjava oddajata v okolje. Del energije pa se ohrani v kemijski obliki v energetsko bogatih molekulah, ki se porabijo za procese sinteze v celici. Sadje in zelenjava dihata tudi po obiranju in s tem porabljata rezervne snovi.

Razgradnja ogljikovih hidratov pri celičnem dihanju poteka v treh večjih sklopih:

- **Glikoliza**

Prvi odkriti in najpomembnejši proces metabolizma ogljikovih hidratov je glikoliza (Boyer, 2005). Molekula glukoze se z encimsko kataliziranimi reakcijami razgradi v dve spojini s 3C atomi (gliceraldehid-3-fosfata in dihidroksiaceton fosfat). Gliceraldehid-3-fosfat se v drugi fazi pretvori do piruvata. Energija, ki se pri tem sprosti, se shrani v obliki energetske bogatih vezi (Lehninger in Cox, 2005).

Glikoliza poteka tako, da α -D-glukoza vstopa kot substrat, ki se mora razgraditi. V prvih petih stopnjah se glukoza fosforilira in cepi na dve molekuli gliceraldehid-3-fosfata. Nato pa se v naslednjih petih stopnjah gliceraldehid-3-fosfat pretvori v piruvat. Celotno zaporedje reakcij vodi k nastanku dveh molekul ATP in dveh NADH za vsako molekulo glukoze, ki vstopi v metabolični proces glikolize. Cikel glikolize poteka po linearni poti, encimi zanj pa se nahajajo v citosolu celice (Boyer, 2005).

- **Citratni cikel (Krebsov cikel, TCA cikel)**

Pri glikolizi nastane piruvat, ki preide iz citoplazme v mitohondrij. Citratni cikel je metabolični proces, njegov namen je razgraditi acetil-CoA.

V citratni cikel piruvat vstopa kot acetil-CoA. Acetat, enota C_2 vstopi kot acetil-CoA in dva C-atoma zapustita cikel v dveh ločenih redukcijsko oksidacijskih reakcijah kot CO_2 . Tri molekule NAD^+ se reducirajo do NADH. Ena molekula FAD pa se reducira do $FADH_2$. Nastane pa ena molekula GTP.

Pri citratnem ciklu, kot pri glikolizi, se tvori anhidridna vez s fosforilacijo na nivoju substrata ob sproščanju energije pri oksidoredukcijskih reakcijah. Cikel proizvaja le majhne količine ATP (Boyer, 2005).

- **Oksidativna fosforilacija (dihalna veriga)**

Tukaj se elektroni, ki jih oddajata NADH in $FADH_2$ iz glikolize in citratnega cikla, prenašajo preko sistema prenašalcev elektronov v dihalni verigi na kisik, ki se reducira do vode. Del energije, ki se sprosti pri prenosu elektronov, se shrani v obliki protonskega gradienta, ki se porablja za sintezo ATP.

Druga pot:

Pentozno fosfatna pot oziroma sekundarna razgradnja glukoze, ki je pomembna pri zagotavljanje zadostnih količin pentoz za biosintezo nukleinskih kislin in tvorbo NADPH, ki je nujen za sintezo maščob (Lehninger in sod., 1993).

2.2.1 Dejavniki, ki vplivajo na intenziteto dihanja

Dejavniki, ki vplivajo na intenziteto dihanja so: temperatura, sestava atmosfere, stopnja mehanske obdelave, vrsta sadja in zelenjave.

Temperatura je glavni dejavnik, ki vpliva na intenziteto dihanja. Z naraščanjem temperature narašča tudi intenziteta dihanja. Če pa temperaturo znižamo, se zmanjša intenziteta dihanja, zato princip uspešnega skladiščenja temelji na uporabi najnižjih še spremenljivih temperatur (Kays, 1991). Z znižanjem temperature in spremenjeno sestavo v embalažni enoti pripomoremo k zniževanju intenzitete dihanja in s tem podaljšujemo trajnost izdelkom (Robertson, 2006).

Mehanska obdelava (npr. rezanje) poveča hitrost dihanja, raziskave so pokazale, da rezanje tkiva pospeši dihanje za 3-5 krat (Plestenjak in sod., 2008).

Sestava atmosfere pomembno vpliva na dihanje, kar se uporablja pri tehnologiji pakiranja v modificirano in kontrolirano atmosfero ter klasičnih načinov pakiranja. S pogoji modificirane atmosfere zmanjšamo dihanje do te stopnje, ko je koncentracija O₂ in CO₂ znotraj meja, ki jih proizvod lahko tolerira in se ne prične anaerobna fermentacija. Tako upočasnim zorenje in dalj časa ohranimo kakovost izdelka (Kader, 1980; Kader in sod., 1989).

Najpomembnejši plini, ki vplivajo na intenziteto dihanja so kisik, CO₂ in etilen.

Višje rastline v odsotnosti kisika proizvajajo CO₂, kar imenujemo anaerobno dihanje, ki poteka le kratek čas, dokler rastlina ne propade. Koncentracija kisika (1-3 %), pri kateri pride do anaerobnega dihanja, je odvisna od vrste rastline in tipa tkiva. Z zniževanjem koncentracije kisika v atmosferi postopno pada tudi intenziteta dihanja do kritične koncentracije kisika v tkivu oz. točke kompenzacije, kjer se aerobno dihanje sprevrže v anaerobno (Lee in sod., 1995).

Koncentracija kisika v celicah je odvisna od difuzije kisika skozi tkivo, hitrosti porabe kisika in od razlik parcialnega tlaka kisika (Vidrih, 1996).

V splošnem velja, da s povišano koncentracijo CO₂ intenziteta dihanja pada, saj so encimi citratnega cikla inhibirani s produktom dihanja-CO₂. Velika koncentracija CO₂ zavira biosintezo etilena. Vse vrste rastlin in sadja imajo določeno mejno vrednost, pri kateri še tolerirajo CO₂, ki je odvisna od sorte. Če se ta mejna vrednost prekorači, potem se sproži anaerobni metabolizem (Lee in sod., 1995).

Etilen, imenovan tudi hormon zorenja, deluje že v zelo majhnih koncentracijah. Z zorenjem plodu naraščata njegova biosinteza in učinek (Lee in sod., 1995). Vpliva na metabolne procese, tako da plod hitreje dozoreva in se stara. Z znižanjem temperature skladiščenja, se zmanjša biosinteza etilena in njegov učinek je manj izrazit (Yang, 1981; Zavrtnik, 1998). S skladiščenjem v kontrolirani atmosferi se lahko zmanjša proizvodnja etilena (C₂H₂) in občutljivost na delovanje tega plina. S tem se dalj časa ohrani kakovostna tekstura, sadje počasneje zori, razpad klorofila je upočasnen (Kader, 1980; Kader in sod., 1989).

2.3 MODIFICIRANA IN KONTROLIRANA ATMOSFERA

Modificirana atmosfera je spremenjena atmosfera, ki vključuje odstranjevanje normalne atmosfere – zrak (78,08 % N₂, 20,95 % O₂, 0,03 % CO₂) in jo nadomesti z drugim plinom ali mešanico plinov. Pri modificirani atmosferi lahko vplivamo na sestavo plinske mešanice znotraj embalažne enote le na začetku pakiranja, kasneje, med skladiščenjem, pa se ta oblikuje spontano, zaradi fizioloških procesov, ki se odvijajo v zelenjavi. (Blakistone, 1998).

Optimalna sestava za shranjevanje sveže narezane zelenjave: koncentracija kisika 3-5 %, CO₂ 3-10 %, ostalo pa N₂ (Jacxsens s sod., 2001).

Kontrolirano atmosfera se uporablja predvsem v skladiščnih hladilnicah in kontejnerskih ladijah. Gre za popolnoma reguliran in kontroliran sistem vzdrževanja temperature in natančno odmerjanje koncentracije plinov. Del kisika se zamenja z drugimi plini, ki se jih kontinuirno uravnava za doseganje optimalne koncentracije (Fellows, 2000).

Zelje se lahko skladišči pri temperaturi okoli 0 °C in visoki relativni vlažnosti (92-98 %), ki preprečuje izsušitev. Z uporabo kontrolirane atmosfere lahko dosežemo boljše rezultate pri skladiščenju (zmanjšamo fiziološke nepravilnosti). Glave zelja lahko skladiščimo tudi do 8 mesecev (Černe, 1998).

2.3.2 Atmosfera z velikim deležem kisika

Različni avtorji v svojih objavah poročajo o pozitivnih učinkih kontrolirane atmosfere z velikim deležem kisika, spet drugi poročajo o negativnih učinkih.

Pri atmosferi z velikim deležem kisika so nekateri avtorji ugotovili, da inhibira encimsko porjavenje, preprečuje anaerobno fermentacijo, zavira mikrobno rast in pojav gnitja pri večini sveže narezane zelenjave in sadja (Amanatidou in sod., 2000; Jacxsens in sod., 2001; Požrl, 2001; Allende in sod., 2002; Van der Steen in sod., 2002; Amanatidou in sod., 2003; Day, 2003; Oms-Oliu in sod., 2008d; Plestenjak in sod., 2008).

Študija o vplivu sestave atmosfere na dihanje narezane solate je pokazal, 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).

Požrl (2001) poroča o začetnem pospešenem izločanju CO₂ pri zviševanju koncentracije kisika v začetni atmosferi embalažnih enot pri pakiranem sveže narezanem zelju, pri koncentracijah kisika blizu 100 % v začetni atmosferi pa o ponovnem umirjanju intenzitete dihanja.

2.3.1 Atmosfera z majhnim deležem kisika

Atmosfera z majhno koncentracijo kisika in povečano koncentracijo CO₂ lahko upočasni procese pri celi ali narezani zelenjavi, zaradi upočasnenja encimskega porjavenja, upočasnenja metabolnih procesov in nastajanja etilena (Kader, 1986).

Atmosfera z majhnim deležem kisika (1 %) pri temperaturi 0 °C se je izkazala kot primerna za skladiščenje kitajskega zelja, ker upočasni spreminjanje barve v rumeno in zmanjšujejo pojav gnitja (Wang, 1983).

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

Finc (2008) pravi, da koncentracija O₂ pod 5 % in porast vsebnosti CO₂ nad 3 % povzroči prehod aerobnega metabolizma v anaerobnega.

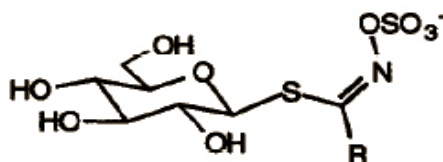
Za zmanjšanje porjavenja pri endiviji nekatere študije priporočajo nizko (2 %) vsebnost kisika (Vankerschaver in sod., 1996) ali sestavo 10 % O₂ in 10 % CO₂ (Vanstreels in sod., 2002) pri 5 °C.

2.4 GLUKOZINOLATI

Glukozinolati (β -tioglukozidni-N-hidroksisulfati) spadajo v skupino sekundarnih rastlinskih metabolitov in jih glede na kemijsko zgradbo uvrščamo med tioglikozide (Fahey in sod., 2001). Strokovnjaki iz različnih področij jim v zadnjih letih posvečajo veliko pozornosti, saj imajo njihovi razgradni produkti močno antikancerogeno aktivnost. Prevladujejo predvsem v rastlinah iz družine križnic (*Brassicaceae* ali *Cruciferae*) ter pri predstavnikih ostalih sorodnih družin iz reda *Capparales* (Gimsing in sod., 2007; Verkerk in Dekerr, 2008). Najdemo jih v številnih poljščinah (oljna repica, sirek, začimbah kot so kreša, gorčica), vrtninah (belo in rdeče zelje, cvetača, ohrovt, brokoli, kitajski kapus, hren, koleraba, redkev) in tudi plevelih (Thomson in Green, 2003).

2.4.1 Kemijska zgradba in delitev glukozinolatov

V naravi je bilo identificiranih in iz rastlinskih tkiv izoliranih več kot 120 različnih glukozinolatov z zelo heterogeno kemijsko zgradbo. Vsi imajo skupno osnovno strukturo, ki vsebuje β -tioglukozidno skupino, žveplov oksim in različne stranske verige (slika 2) (Verkerk, 2002). Z drugimi besedami pa so glukozinolati (Z)-*cis*-N-hidroksiaminosulfatni estri, ki vsebujejo stranski radikal R in z žveplom vezano D-glukopiranozilno skupino. Glukozinolati, ki jih najdemo v naravi so izključno β -D-glukopiranozili (Verkerk in Deker, 2008).



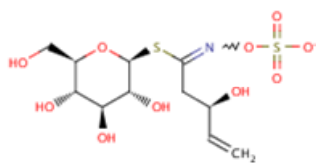
Slika 2: Osnovna struktura glukozinolatov (Robertson in Batting, 1999)

Razvrstitev in delitev glukozinolatov je zaradi zapletene kemijske zgradbe zelo težavna. Kemijsko jih uvrščamo v skupino alkaloidnih sekundarnih metabolitov. Alkaloidi so spojine, ki izvirajo iz aminokislin in vsebujejo enega ali več dušikovih atomov (Zenk in Juenger, 2007).

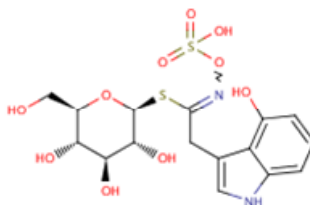
Glede na vrsto stranske verige lahko glukozinolate razdelimo na alifatske, heterociklične (indolne) in aromatske. Alifatski izhajajo iz aminokislina metionin, indolni iz triptofana, aromatski pa iz fenilalanina (Jones in sod., 2006). Razdelimo pa jih lahko tudi po kemijski strukturi stranskih verig: alifatska ravna oz. razvejana veriga, alifatska ravna oz. razvejana veriga s strukturo alkohola, alifatska ravna veriga s strukturo ketona, veriga z žveplom, indolna veriga, aromatska veriga, ω -hidroksi alkilna veriga, oleinska veriga z ravno oz. razvejano strukturo ali strukturo alkohola, večkrat glikozilirana in druge (Fahey in sod., 2001).

Preglednica 2: Najbolj pogosti glukozinolati v vrtninah iz družine križnic (Verkerk, 2002:15)

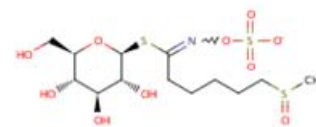
TRIVIALNO IME	KEMIJSKO IME (stranske verige R)
Alifatski glukozinolati	
glukoiberin	3-metilsulfinilpropil
progoitrin	2-hidroksi-3-butenil
sinigrin	2-propenil
glukonapoleiferin	2-hidroksi-4-pentenil
glukorafanin	4-metilsulfinilbutil
glukoalizin	5-metilsulfinilpentil
glukobrasikanapin	4-pentenil
glukoheirolin	3-metilsulfonilpropil
glukoiberverin	3-metiltiopropil
glukonapin	3-butenil
Indolni glukozinolati	
4-hidroksiglukobrasicin	4-hidroksi-3-indolilmetil
glukobrasicin	3-indolilmetil
4-metoksiglukobrasicin	4-metoksi-3-indolilmetil
neoglukobrasicin	1-metoksi-3-indolilmetil
Aromatski glukozinolati	
glukosinalbin	p-hidroksibenzil
glukotropaeolin	benzil
glukonasturtin	2-fenetil



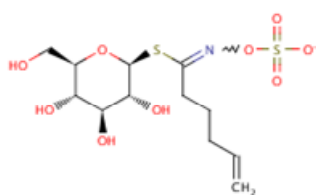
progoitrin



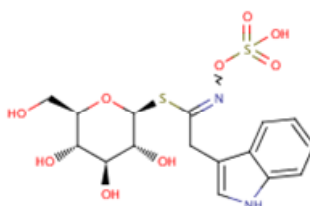
4-hidroksiglukobrazicin



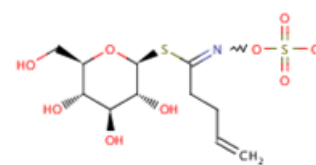
glukoalizin



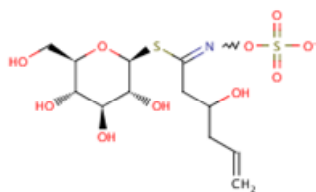
glukobrazikanapin



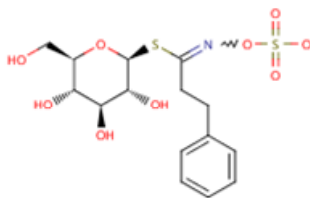
glukobrazicin



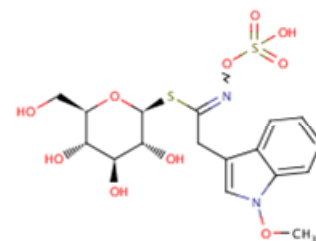
glukonapin



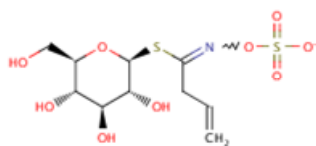
glukonapoleiferin



glukonasturtin



neoglukobrazicin



sinigrin

Slika 3: Kemijske formule glukozinolatov analizirane v diplomskem delu (Požrl, 2009)

2.4.2 Vloga glukozinolatov v rastlinah in njihova funkcija

Količina glukozinolatov v posamezni vrtnini je odvisna od sorte, vrste tal, vremenskih razmer med rastjo, od načina pridelovanja in drugih faktorjev (Černe, 1998). Na vsebnost glukozinolatov vpliva tudi vrsta tkiva, fiziološka starost, zdravstveno stanje rastline, stres (infekcija, poškodbe, ekstremne temperature in drugi ekološki dejavniki, ki izzovejo stresni odgovor rastline na stresne pogoje) (Verkerk in Dekerr, 2008).

Preglednica 3: Vsebnost skupnih glukozinolatov v različnih vrtninah ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$ sveže vrtnine) (Verkerk, 2002: 10-14)

VRTNINA	SKUPNI GLUKOZINOLATI
zelje	78,8-602,6
rdeče zelje	88,2-234,4
brstični ohrovt	465,6-600,6
ohrovt	316,1-600,0
brokoli	152,2-448,6
cvetača	57,1-448,6
repa	80,0-292,0
oljna ogrščica	8,4-17,0

Koncentracija posameznih glukozinolatov in skupnih glukozinolatov ter profil lahko močno varira med sortami rastlin iste vrste tudi glede na fazo rasti in del rastline, ki ga analiziramo. Največjo koncentracijo glukozinolatov najdemo v semenih in brstičih (v najmlajšem tkivu) (Bellostas in sod., 2007). V vseh rastlinah praktično predstavlja večino skupnih glukozinolatov le nekaj značilnih glukozinolatov (do 4), ostali pa so zastopani v sledovih (Kusznierewicz in sod., 2008).

Kako se dinamično spreminja vsebnost glukozinolatov v posameznih tkivih je odvisno od regulacije biosinteze de novo, mobilizacije in razgradnje biomolekul. Sposobnost biosinteze med različnimi tkivi varira. V rastlini pa lahko prihaja do transporta glukozinolatov iz nekaterih delov in akumulacije v drugih delih (Chen in Andereasson, 2001). V kapusnicah obstaja najverjetneje mehanizem, ki v stresnih pogojih inducira biosintezo glukozinolatov, na kar kažejo različni primeri povišanih koncentracij glukozinolatov v rastlinskem tkivu (Verkerk in Dekerr, 2008).

Pri fizioloških pogojih so glukozinolati v ionizirani obliki (Moreno in sod., 2006). Glukozinolati regulirajo rast rastlin in so udeleženi pri metabolizmu žvepla in dušika (Blažević in Mastelić, 2009). Njihovi produkti hidrolize imajo obrambno vlogo in učinkujejo kot repelenti ter so lahko za herbivore toksični (Taiz in Zeiger, 2002). Lahko delujejo fungicidno in bakteriocidno, saj pri višjih rastlinah spadajo med najmočnejše naravne antibiotike. Glukozinolati lahko v določenih pogojih delujejo kot alomoni in kairomoni, imajo alelopatsko aktivnost, vplivajo na ovipozicijo, saj sodelujejo v različnih tipih interakcij med rastlinami ali med rastlino in insektom. Alomoni so snovi, ki ščitijo organizem pred napadom drugih (npr. rastlino pred napadom insekta) in s tem

onemogočajo, da bi insekti lahko rastlino prebavili ker je toksična) in se z njo prehranjevali. Za kairomone pa velja, da morajo biti v rastlini prisotni, saj stimulirajo živalski metabolizem. Alelopatija je definirana kot vpliv ene vrste rastlin na drugo vrsto. Številne križnice sproščajo v okolje razgradne produkte glukozinolatov s katerimi zavirajo rast drugih rastlin, ki so v njihovi bližini. Ovipozicija je izbira primerne mesta za odlaganje jajčec določenih živalskih vrst. Glukozinolati in njihovi razgradni produkti lahko v kombinaciji z drugimi faktorji delujejo kot stimulansi pri ovipoziciji (Seigler, 1998).

Posamezni razgradni produkti glukozinolatov imajo z vidika človeške prehrane poleg značilnih senzoričnih lastnosti (grenak okus križnic in oster vonj), močno antikancerogeno aktivnost (Verkerk in Dekerr, 2008). Glukozinolati imajo lahko tudi antrinitritivne učinke v različnih poljščinah, ki jih uporabljamo predvsem za živalsko krmo. Razgradni produkti glukozinolatov negativno vplivajo na sposobnost reprodukcije, prirast živine, povzročajo nepravilnosti na notranjih organih, delujejo goitrogeno. Kakšna je intenziteta vplivov in vrsta poškodbe je odvisno od vrste in količine glukozinolatov, spektra njihovih razgradnih produktov in kakšni so pogoji razgradnje glukozinolatov (Seigler, 1998).

2.4.3 Hidroliza glukozinolatov in mirozinaza

Hidroliza glukozinolatov poteka pod vplivom endogenega encima oziroma skupine encimov, ki jih uvrščamo med tioglukozidaze oz. β -tioglukozid glukohidrolaze (podskupina β -glukozidaz) in označujemo z imenom mirozinaza (Andréasson in sod., 2001).

Glukozinolati in mirozinaza so v rastlinskih celicah ločeni. Kot pri večini dvokomponentnih obrambnih biosistemov sta obe komponenti kompartmentalizirani na celičnem in subceličnem nivoju. Mirozinaza je v glavnem lokalizirana v specifičnih mirozinskih celicah, glukozinolati pa so skoncentrirani v specifičnih S-celicah. Na subceličnem nivoju je mirozinaza lokalizirana v vakuolah (mirozinska zrna), ki se združujejo v mirozinska telesa, glukozinolati pa so ločeni v drugih vakuolah (Andréasson in sod., 2001)

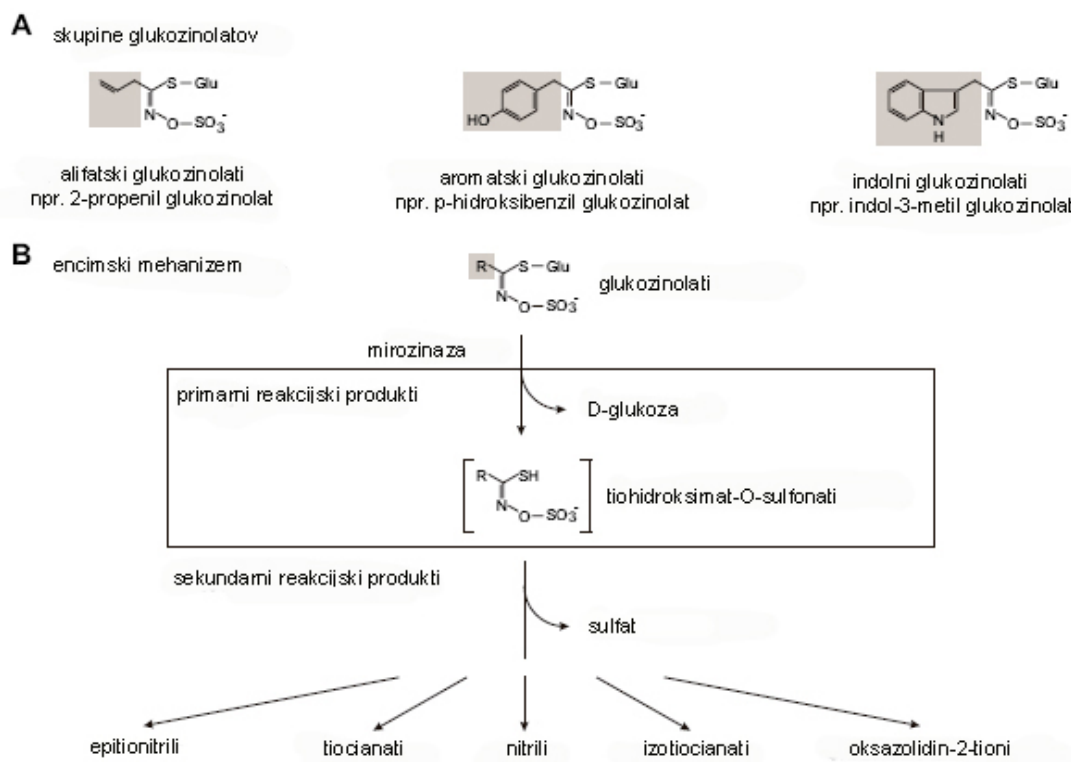
Postopki kot so rezanje, mletje ali žvečenje (živali) poškodujejo strukturo celic in s tem omogočijo sprostitev encima in hidrolizo glukozinolatov. Pri reakciji med glukozinolati in mirozinazo se sproščajo različni dražljivi in jedki metaboliti, ki dajejo križnicam značilno aromo (Andréasson in sod., 2001).

Hidroliza glukozinolatov poteka v dveh fazah (slika 4) (Travers-Martin in sod., 2008):

- v prvi fazi se odcepi glukoza in nastane nestabilni aglukon (tiohidroksimat-O-sulfonat)
- v drugi fazi pa nestabilni aglukoni v reakcijah t.i. Lossenove preureditve razpadejo na sulfat in različne razgradne produkte.

Na potek razgradnje vplivajo različni faktorji, tako da je količina razgradnih produktov in njihov spekter zelo raznolik. Pri hidrolizi se tvorijo epitionitrili, tiocianati, nitrili, izocianati

in številni drugi produkti (slika 4). Na spekter metabolitov hidrolize pri nekaterih rastlinah lahko vpliva sestava in aktivnost specifičnih spremljevalnih proteinov (ESP-epitiospecifier protein), ki so sestavni del kompleksa mirozinaze in tvorijo epitionitrile in nitrile (Kliebenstein in sod., 2005). Toplotna inaktivacija ESP lahko obrne hidrolizo glukozinolatov v smeri intenzivnejše tvorbe izotiocianatov (Matusheski in sod., 2004).



Slika 4: Primeri osnovnih oblik glukozinolatov, hidroliza in razgradni produkti hidrolize glukozinolatov (Travers-Martin in sod., 2008).

Najpomembnejši faktor, ki vpliva na vrsto razgradnih produktov, je pH raztopine vzorca med hidrolizo. Tvorba nitrilov ali izocianatov je odvisna od vrste matične rastline, dela rastline, kjer se je spojina nahajala, pH medija med samo reakcijo in postopka obdelave vzorca pred hidrolizo. Izocianati se običajno tvorijo pri pH 5-7, nitrili pa se tvorijo pri nižjem pH (Verkerk in Dekerr, 2008).

Mirozinaza je prisotna v vseh rastlinah, ki vsebujejo glukozinolate. Poznanih je več izoencimov. Na intenziteto hidrolize glukozinolatov vpliva aktivnost encima, ki je odvisna od vrste, dela in starosti rastline, od količine substrata in koncentracije samega encima ter nekaterih ekstrinzičnih (temperatura) in intrinzičnih dejavnikov (askorbinska kislina, pH, kovinski ioni) (Verkerk in Dekerr, 2008). Po mehanski poškodbi aktivnost mirozinaze hitro pade, saj naj bi jo inaktivirali produkti hidrolize oz. pomankanje substrata (Li in Kushad, 2004).

2.4.4 Vpliv predelave na vsebnost glukozinolatov

Biotska raznovrstnost in agrotehniški ukrepi ter klimatski pogoji lahko vsebnost glukozinolatov in drugih komponent občutno spreminjajo že med pridelavo. Proces predelave, ki ga začnemo s skladiščenjem in kasneje procesiranjem ter pakiranjem lahko s fizikalnimi parametri kot so vlaga, temperatura, sestava atmosfere, barijerne lastnosti embalažnih materialov ter tudi čas skladiščenja in obdelave močno vpliva na vsebnost in sestavo bioaktivnih substanc (Dekker in sod., 2000).

Belo zelje velja za eno najpomembnejših rastlinskih prehranskih komponent severne poloble, vendar pa njegova kemijska sestava sekundarnih metabolitov in kemopreventivnih snovi še ni bila dobro raziskana. Veliko raziskav s področja glukozinolatov uporablja za modelni organizem brokoli. Brokoli vsebuje v relativno veliki koncentraciji glukorafanin, ki po hidrolizi razpade v izotiocianat sulforafan, ki naj bi imel najmočnejše antikancerogene lastnosti (Verkerk in Dekerr, 2008).

Že takoj po spravilu se začne kakovost pridelkov zmanjševati. Z učinkovitim hlajenjem lahko zavremo razpad najrazličnejših primarnih in sekundarnih metabolitov (Kays, 1991). Temperatura skladiščenja za ohranjanje glukozinolatov je pod 4 °C. Pri višjih temperaturah skladiščenja je zelo pomembna visoka relativna vlaga (98-100 %), ker prepreči razgradnjo glukozinolatov, medtem ko pri nižjih temperaturah pod 4 °C ne igra vlaga pomembne vloge (Jones in sod., 2006).

Skladiščenje v kontrolirani atmosferi (CA) in pakiranje v modificirano atmosfero (MAP) lahko služita za preprečevanje hidrolize glukozinolatov ob ustrezni temperaturi in vlagi. Eden od razlogov za razpad glukozinolatov med skladiščenjem je poškodba celic oz. izguba integritete membran zaradi izsušitve ali anaerobnega metabolizma in zato vzpostavitev kontakta med mirozinazo in glukozinolati (Jones in sod., 2006). Rezultati raziskav pa še niso izenačeni pri uporabi spremenjenih atmosfer. Nekateri avtorji celo poročajo o razpadu dela glukozinolatov (Martínez-Sánchez in sod., 2006).

Najbolj intenzivne spremembe glukozinolatov potekajo v fazi predelave. Zaradi kompleksnega učinka na rastlinski matriks pride med obdelavo do različnih procesov (Verkerk in Dekerr, 2008):

- encimska hidroliza z mirozinazo
- inaktivacija mirozinaze,
- razpadanje celic in izluževanje glukozinolatov, njihovih razgradnih produktov in mirozinaze v okolico (vodo za kuhanje...),
- termična razgradnja glukozinolatov in njihovih razgradnih produktov,
- povečanje ekstrakcije glukozinolatov in
- izguba encimskih kofaktorjev (askorbinske kisline, železa).

Procesi mehanske obdelave presnih vrtnin (mletje, rezanje, ribanje), poškodujejo celične stene in omogočijo kontakt med glukozinolati in mirozinazo. Zaradi tega prihaja do različno intenzivnih hidrolitičnih procesov in različne stopnje razgradnje glukozinolatov.

Vrtnine imajo tako po procesiranju značilno aromo, ki je posledica stopnje razgradnje in količine razgradnih produktov glukozinolatov (Jones in sod., 2006). Nekatere raziskave kažejo močan porast nekaterih indolnih glukozinolatov v rastlinskem tkivu zaradi rezanja. Opazili so tudi do 15 kratno povečanje vsebnosti 4-metoksi in 1-metoksi-3-indolnih glukozinolatov (4-metoksiglukobrasin in neoglukobrasin) v belem zelju 48 ur po rezanju (Verkerk, 2002). Kasneje so ta pojav razložili kot de novo sintezo glukozinolatov, ki jo sproži zaznavanje mehanskega stresa kot napada škodljivcev in posledično induciran stresno-obrambni odgovor (Verkerk in Dekerr, 2008).

Segrevanje intenzivno vpliva na spremembe vsebnosti glukozinolatov. Intenziteta izgub glukozinolatov in njihovih razgradnih produktov je odvisen od temperature, časa, načina in medija segrevanja ter vrste zelenjave in tipa glukozinolatov (Verkerk in Dekerr, 2008).

Raziskave nekaterih avtorjev so pokazale, da izguba glukozinolatov med kuhanjem zelo varira (Ciešlik in sod., 2007; Song in Thornalley, 2007; Volden in sod., 2008; Volden in sod.b, 2009). V odvisnosti od časa vrenja pa lahko dosega tudi prek 70 % izgube. Večina izgub je posledica izpiranja in termične razgradnje produktov, zato je pomembno tudi razmerje med zelenjavo in količino vode za kuhanje (Verkerk, 2002). Večjo količino glukozinolatov v zelenjavi ohranja kuhanje na pari, ker predstavlja milejšo toplotno obdelavo in ohranja večjo količino glukozinolatov v zelenjavi (Volden in sod., 2009b).

Bistveno primenejša je uporaba mikrovalov, raziskave nekaterih avtorjev (Verkerk, 2002, Song in Thornalley, 2007) so namreč pokazale, da je vsebnost glukozinolatov po uporabi mikrovalov enaka ali celo višja od vsebnosti pred kuhanjem (boljši izkoristek priprave vzorca-ekstrakcija pri analitiki). Če obdelujemo z nižjimi mikrovalovi imamo še relativno visoko aktivnost mirozinaze, kar nam omogoča kasnejšo razgradnjo glukozinolatov pri žvečenju (Verkerk, 2002).

Nekateri viri poročajo o prisotnosti encimov tioglukohidrolaz, ki imajo podobno aktivnost kot mirozinaza v nekaterih mikroorganizmih mikroflore človeškega črevesja. Ti encimi imajo sposobnost razgradnje glukozinolatov, kar je zelo pomembno pri uživanju živil, ki vsebujejo še nerazgrajene glukozinolate (Cheng in sod., 2004).

Pri vseh oblikah segrevanja poteka poleg encimske hidrolize tudi termična razgradnja glukozinolatov. Pri rdečem zelju so raziskave pokazale, da je bila stopnja razgradnje pri temperaturah pod 110 °C večja pri indolnih glukozinolatih kot pri alifatskih. Npr. pri konzerviranju v pločevinke je zaradi intenzivne toplotne obdelave, razpadlo kar 70 % skupnih glukozinolatov (Oerlemans in sod., 2006).

Uporaba nizkih temperatur brez predhodne inaktivacije mirozinaze (blanširanje oz. konzerviranje z zmrzovanjem) povzroči razpad glukozinolatov, saj jih po odtajevanju v vrtninah praktično ni več (Jones in sod., 2006). Ko skladiščimo v zamrznjenem stanju, so glukozinolati praktično povsem ohranjeni, delni padec je posledica blanširanja (Volden in sod., 2009b).

S pasiranjem zelenjave povzročimo popolno razgradnjo glukozinolatov (Verkerk, 2002). Glukozinolati so pri biološkem kisanju zelja po zaključeni fermentaciji popolnoma hidrolizirani, v kislem zelju so prisotni le še posamezni razgradni produkti (Tolonen in sod., 2002).

2.5 ANTIOKSIDANTI

Sadje in vrtnine so bogat vir naravnih antioksidantov. V rastlinskih živilih najdemo cel spekter antioksidantov, ki delujejo na različne načine in se sinergistično dopolnjujejo (Hribar in Simčič, 2000). Antioksidativni učinek zelenjave in sadja je predvsem posledica vsebnosti vitamina C in polifenolnih snovi, kar vsebuje večina zelenjave in sadja. Antioksidanti preprečujejo oksidacijo makrokomponent že v zelo nizkih koncentracijah. Verižno reakcijo oksidacije povzročajo oksidanti in prosti radikali. Antioksidanti so lahko encimski ali neencimski, topni v maščobah ali v vodi (Abram, 2000).

Osnovna vloga antioksidantov je preprečevanje tvorbe prostih radikalov. Med primarne antioksidante štejemo snovi, ki lahko reaktivne radikale spremenijo v bolj stabilne produkte in s tem prekinijo verižno reakcijo avtooksidacije. V reakciji antioksidant na hitro odda vodikov atom radikal, ker drugače bi ta omogočil tvorbo hidroperoksidov ali pa peroksidnih radikalov. Produkti, ki nastanejo morajo biti stabilnejši kot sam radikal.



Sekundarni antioksidanti pa reagirajo s kovinskimi ioni, ki so katalizatorji oksidacije. Iz medija odvzamejo kisik, razgradijo hidroperokside do komponent, ki niso radikali, absorbirajo UV svetlobo in deaktivirajo aktivni kisik (Raspor in sod., 2000). Med sekundarne antioksidante spadajo: fenoli, derivati galne kisline in galna kislina, flavonoidi in nekatere druge naravne spojine.

V rastlinskem svetu so najpomembnejši antioksidanti: polifenoli, vitamin C, reducirana oblika glutathiona (GSH), vitamin E (α -tokoferol) in karotenoidi. Antioksidativna aktivnost vitamina C in glutathiona je usklajena z encimi: askorbat-peroksidaza, dehidroaskorbat-reduktaza in glutathion-peroksidaza. Ti encimi so pomembni pri odstranjevanju peroksida in regeneraciji reduciranih oblik glutathiona in vitamina C. Naše telo nekatere antioksidante sintetizira samo (glutathion, sečno kislino, ubikinon), druge pa dobimo s hrano (Korošec, 2000).

Nekatere raziskave so pokazale, da vrtnine, ki vsebujejo veliko antioksidantov, zmanjšajo verjetnost za nastanek rakavih obolenj ter kardiovaskularnih bolezni (Singh in sod., 2006). Dejanska vloga antioksidantov v primeru rakavih bolezni, kljub nekaterim pozitivnim rezultatom nekaterih študij, še ni popolnoma raziskana.

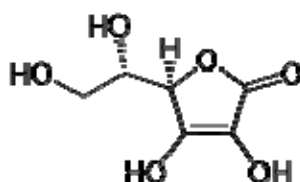
2.5.1 Oksidativni stres

Oksidativni stres je porušenje ravnotežja med antioksidanti in reaktivnimi vrstami kisika (ROS-reactive oxygen species), med katerimi so najpomembnejši prosti radikali. Prosti radikali so atomi, molekule ali ioni z vsaj enim elektronom brez para (superoksidni anion, tripletni kisik, singletni kisik, hidroksilni radikal, vodikov peroksid...). Oksidativni stres se pokaže takrat, ko je bil sistem dalj časa izpostavljen oksidantom ali pa če pride do zmanjšanja antioksidativne sposobnosti samega organizma ali obeh (Abram, 2000).

Oksidativni stres preprečujejo antioksidanti z lovljenjem prostih radikalov, s keliranjem kovinskih ionov, s popravljanjem in / ali odstranjevanjem oksidativno poškodovanih biomolekul (Korošec, 2000). Pri normalnih pogojih rasti so celični endogeni antioksidativni obrambni sistemi dovolj učinkoviti, da obdržijo ROS na taki ravni, ki ni škodljiva (Moradas-Ferreira in sod., 1996). Z različnimi stresnimi dejavniki pa povečajo njihovo količino in pride do indukcije antioksidativnih obrambnih sistemov (Costa in sod., 2001).

2.5.2 L-askorbinska kislina

L-askorbinska kislina (L-AK) ima molekulsko formulo $C_6H_8O_6$ (slika 5) in relativno molekulsko maso 176,13 g/mol nastane v reakcijah biosinteze iz glukoze. V vodi je topna, optično aktivna bela kristalinična snov in dober reducent (Kuellmer, 1999).



Slika 5: L-askorbinska kislina (L-AK) (Kuellmer, 1999)

L-askorbinska kislina (L-AK) in dehidroaskorbinska kislina (DHA) imata v človeškem telesu funkcijo vitamina C (Podsšek, 2007). Vitamin C dobimo s hrano v dveh oblikah, in sicer kot askorbinsko kislino (L-AK), ki je močan reducent in v oksidirani obliki kot dehidroaskorbinsko kislino (DHA) (Basu in Dickerson, 1996). DHA je izredno nestabilna in se lahko ireverzibilno hidrolizira v 2,3-diokso-L-gulonsko kislino (Lykkesfeldt in sod., 1995). Razgradnja DHA poteka v okolju brez kisika, zato razpad DHA v diketogulonat ni odvisen od prisotnosti kisika, kot je to pri AK (Gibbons in sod., 2001).

Najpomembnejša kemijska lastnost vitamina C je reverzibilni oksidacijsko-redukcijski proces med L-askorbinsko in L-dehidroaskorbinsko kislino. Ta redukcijsko-oksidacijski sistem je osnova primarne fiziološke aktivnosti vitamina C, odgovoren je za mnoge biokemične reakcije v živalskem in rastlinskem svetu (Davey in sod., 2000).

L-askorbinska kislina je najpomembnejši antioksidant v ekstracelularni tekočini. Varuje organizem pred reaktivnimi prostimi radikali, ker z njimi reagira in s tem ščiti biološko pomembne molekule pred poškodbami (Guyton, 1987).

Pomembno vlogo pri spreminjanju L-AK v sadju in zelenjavi po obiranju imajo mehanske poškodbe, čas in temperatura skladiščenja, vlaga med skladiščenjem (Lee in sod., 2000). Na vsebnost vitamina C vplivajo tudi klimatski pogoji (Howard, 1999)

Mehanizmi biosinteze L-askorbinske kisline v rastlini še niso popolnoma pojasnjeni, saj različni avtorji omenjajo kar nekaj alternativnih poti njenega nastanka. Najbolj uveljavljena razlaga biosintetske poti predvideva kot osnovni substrat za sintezo L-askorbinske kisline D-glukozo. Ta se preko številnih intermediatov (GDP-D-manoze, L-galaktoze, L-galaktono-1,4-laktona in drugih) pretvarja v L-askorbinsko kislino (Davey in sod., 2000; Barata-Soares in sod., 2004).

Najboljši vir vitamina C so zelenjava, sadje in njihovi sokovi. Veliko vitamina C vsebujejo jagode rakitovca in njihov sok, paprika, brokoli, črni ribez, kosmulje, koromač in agrumi. Za preskrbo z vitaminom C so pomembni tudi krompir, brstični ohrovt, ohrovt, rdeče in belo zelje, špinača in paradižnik. Več kot 85 % vitamina C človek zaužije s sadjem in zelenjavo (Davey in sod., 2000).

Različni avtorji poročajo o različnih vsebnostih L-askorbinske kisline. Kurilich in sod. (1999) navajajo, da je vsebnost L-askorbinske kisline, ki so jo določevali v petih različnih vrstah belega zelja od 22,6 do 32,9 mg/100 g zelja.

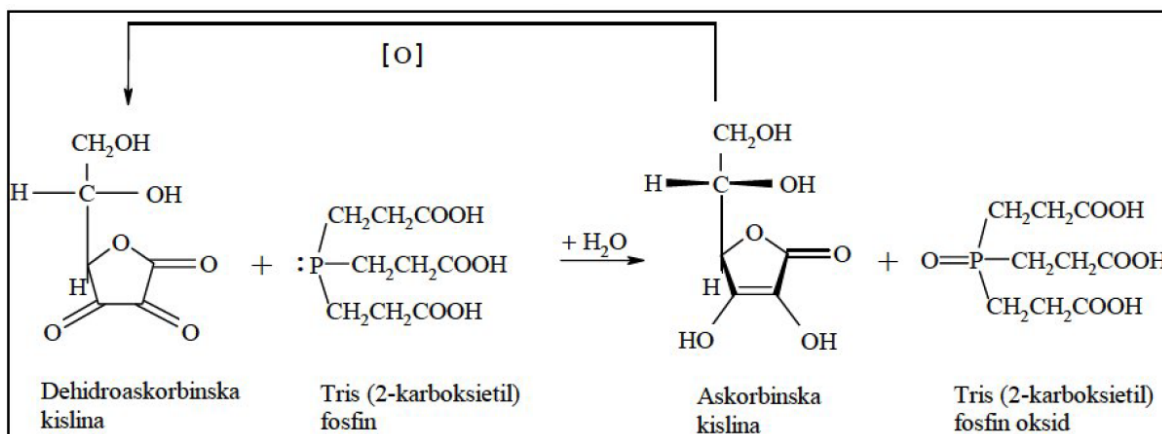
Požrl (2001) poroča o minimalnih spremembah v vsebnosti L-AK med pakiranjem sveže narezanega zelja v modificirano atmosfero. McCarthy in Matthews (1994) navajata, da se pri minimalno obdelanem sadju in zelenjavi vsebnost L-askorbinske kisline zmanjša. Nekateri drugi avtorji pa poročajo, da se vsebnost L-AK pri stesnih razmerah poveča (Stegmann in sod., 1991). Rener (2006) ugotavlja, da se zelju, ki je bilo prepihovano s kontrolirano atmosfero zraka oz. 100 % kisika, vsebnost L-AK po 3 dneh poveča za približno 30 %, medtem ko Ručmanova (2008) po 7 dneh skladiščenja zazna le majhne spremembe zvečanja vsebnosti L-AK. Wechtersbach (2005) navaja v svojih rezultatih, da se vsebnost skupnega vitamina C med skladiščenjem le malo spreminja, povečuje se le delež DHA na račun L-AK. Požrl (2009), navaja da je vsebnost L-AK odvisna od intenzitete mehanske poškodbe, najmanj jo je v drobno narezanem, več v srednje in največ v grobo narezanem zelju.

2.5.2.1 Določanje skupnega vitamina C

Obstaja veliko analitičnih metod s katerimi lahko določamo vsebnost vitamina C v prehranskih, bioloških in farmacevtskih vzorcih (Kuellmer, 1999): UV absorbcija, redoks reakcije, elektrokemijske in encimske oksidacijske metode, spektrofotometrične metode, biološke metode in kromatografske metode (HPLC). Za določanje vitamina C se najpogosteje uporablja metoda, ki temelji na redukciji DHA v L-AK, katero nato kromatografsko določimo.

Kromatografske metode (HPLC-visokotlačna tekočinska kromatografija), so primerne za določane AK kot tudi DHA. Obe spojini lahko določamo direktno ali indirektno. Pomembno je, da hkrati merimo absorbanco pri 254 nm, kjer najbolje absorbira AK in pri 210 nm, kjer najbolje absorbira DHA (Nisperos-Carriedo in sod., 1992).

Za redukcijo DHA v L-AK se uporablja različne reducente: homocistein, treitol, L-cistein, ditiotreitol (DTT) in tris(2-karboksietil)fosfin (TCEP) (Gökmen in sod., 2000). TCEP je najnovejši reductent in se uporablja za redukcijo pri nizkih pH vrednostih, ker dobro deluje v širokem spektru pH. Uporaben je tudi v MFK, kjer sta DHA in askorbinska kislina zelo stabilni (Wechtersbach in Cigić, 2007).



Slika 6: Mehanizem redukcije DHA v AK s TCEP (Lykkesfeld, 2000)

2.5.3 Glutation

Glutation je tripeptid glutaminske kisline, glicina in cisteina ter je prisoten praktično v vseh delih rastlinske celice. Glutation predstavlja najpomembnejši vir nebeljakovinskega reduciranega žvepla in ima sposobnost redukcije disulfidnih mostičkov v proteinih ter lovljenja prostih radikalov (Noctor in sod., 2002; Penninckx, 2000). Kemijsko reagira z različnimi prostimi radikali ter sodeluje v encimsko kataliziranih reakcijah askorbat-glutation cikla pri detoksifikaciji vodikovega peroksida. Zato ima izjemno pomembno vlogo pri preprečevanju škodljivega delovanja prostih radikalov v celici in pri uravnavanju oksidoredukcijskih reakcij (Noctor in sod., 2002; Boyer, 2005).

Glutation se v celici nahaja v reducirani in oksidirani obliki. Pomembnejšo vlogo pri zaščiti celice ima reducirana oblika glutathiona (GSH), ker lahko reagira z ROS in s tem prepreči njihovo škodljivo delovanje (Penninckx, 2000).

Če je glutathion v celici prisoten v veliki koncentraciji, ima vlogo reducirajočega pufra (Lehninger in Cox, 2005), zato ker ima nizek redoks potencial in se njegova reducirana oblika (GSH) vzdržuje z encimom glutathion reduktaza v odvisnosti od NADPH (Meister in Anderson, 1983). S prosto sulfidno (-SH) skupino lahko reagira z oksidanti in deluje kot lovilec prostih radikalov (Grant, 2001). Glutathion peroksidaza, ki vsebuje selen, pretvarja GSH v GSSG pri tem H₂O₂ razgradi do kisika in vode. Do povečane znotrajcelične vsebnosti glutathiona, oz. do indukcije glutathiona v reducirani obliki pride pri izpostavitvi celice različnim stresnim dejavnikom (Penninckx, 2000). Koncentracija glutathiona npr. v listih se lahko navkljub številnim regulacijskim mehanizmom spreminja sezonsko, dnevno in glede na prehrano rastline. Redoks stanje celičnega glutathiona pa je kot del celične

redoks homeostaze bistveno stabilnejše in se praktično ne spreminja. Samo pri močnih stresnih pogojih pade delež reduciranega glutaciona pod 90 % (Noctor in sod., 2002).

Poskusi so dokazali, da je sprememba koncentracije glutaciona v različnih rastlinskih tkivih zaradi stresnih dejavnikov lahko tudi posledica transporta ali biosinteze (Noctor in sod., 2002). V narezani zelenjavi je transport iz drugih delov rastlin nemogoč, zato je povišanje koncentracije verjetno posledica biosintetskega stresnega odgovora. Kljub temu obstajajo tudi rezultati raziskav, ki naj bi dokazovali, da povečana biosinteza glutaciona lahko celicam povzroči oksidativne poškodbe namesto antioksidativne zaščite, najverjetneje zaradi porušenega redoks stanja (Creissen in sod., 1999).

Kako biološko pomemben je glutacion je odvisno od redoks aktivne proste SH skupine cisteina. Poraba glutaciona v neencimskih in encimskih obrambnih sistemih temelji na oksidaciji, ko reducirana oblika glutaciona (GSH) preide v oksidirano obliko (GSSG). Da pa nimamo prevelikega znotrajceličnega kopičenja oksidirane oblike (GSSG), pa je nujno potrebna pretvorba v reducirano (GSH) obliko. Regeneracija v reducirano (GSH) obliko pa poteka z encimom glutacion-reduktaza v prisotnosti NADPH. Pri tem se tvori NADP^+ , ki se reducira v NADPH z encimom glukoza-6-fosfat dehidrogenaza (pentozno fosfatna pot). Encima glutacion-reduktaza in glukoza-6-fosfat dehidrogenaza sta vključena v sistem redukcije glutaciona (Grant in Daves., 1996).

2.5.3.1 Določanje glutaciona

Metoda za določanje glutaciona je spektrofotometrična in jo merimo pri valovni dolžini 412 nm. DNTB (5,5-ditiobis-(2-nitrobenzojska kislina), reagira z –SH skupino, nastane TNB (2-nitro-5-tiobenzojska kislina) oz. anion te kisline, ki ima izrazito rumeno barvo in jo lahko kvantitativno ovrednotimo. 1 mol –SH da 1 mol aniona. Dobre strani te metode so kratek reakcijski čas in velika specifičnost za –SH skupine pri nevtralnih pH-a vrednostih.

2.5.4 Določanje skupnih antioksidantov s Folin-Ciocaltejevim reagentom

Metoda Singleton in Rossi za določanje skupnih antioksidantov temelji na oksidaciji fenolnih spojin v alkalnem mediju s Folin-Ciocaltejevim (F.C.) reagentom (fosfomolibdenska-fosfovolframova kislina). Tvori modro obarvan kompleks, ki absorbira svetlobo pri 765 nm (Singleton in Rossi, 1965).

Fenolne spojine imajo najmanj en aromatski obroč in najmanj eno ali več –OH skupin, ki so direktno vezane na aromatski obroč (Abram in Simčič, 1997). V alkalni raztopini se fenolne spojine oksidirajo s F.C. reagentom. Določene komponente F.C. reagenta v reducirani obliki absorbirajo pri valovni dolžini okoli 750 nm, njihova koncentracija pa je premo sorazmerna s koncentracijo fenolnih spojin v vzorcu. S tem reagentom pa lahko reagirajo tudi AK, DHA, GSH (Singleton in Rossi, 1965).

Nekateri avtorji navajajo vsebnost skupnih antioksidantov v zelju pod 100 mg/100 g (Kaur in Kapoor, 2002). Po ugotovitvah Chuja in sod. (2002) imata brokoli in špinaca največjo vsebnost skupnih antioksidantov ($80,76 \pm 1,17$ in $79,55 \pm 8,39$ mg/100 g), zelje pa vsebuje $36,66 \pm 6,93$ mg/100 g skupnih antioksidantov. Po navajanju Singh in sod. (2006) je v 14

različnih kultivarjih zelja skupnih antioksidantov od 12,58 do 35,41 mg/100 g zelja, Podsędek (2007) je ugotovil 21-171 mg/100 g zelja skupnih antioksidantov.

3 MATERIALI IN METODE DELA

3.1 MATERIALI

Zelje

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

Material

- Centrifugirke (15 ml; 50 ml; TRP)
- Mikrocentrifugirke-Eppendorf (1,5 ml)
- Avtomatske pipete (0-50 µl, 100-1000 µl, 1000-5000 µl)
- Rotameter (Supelco 23320-U)-rotameter kit
- Jeklenki s plini (100 % O₂, sintetični zrak)
- Ventil za jeklenke-Messer
- Silikonske cevke
- Posode z obrušom
- Steklene cevke z obrušom
- Stojala za centrifugirke in mikrocentrifugirke
- Steklene vial (32 x 11,6 mm (KG); Supelco 854165)
- Pokrovčki z navojem za steklene vial
- Kromatografska kolona (SynergieC₁₈ 250 mm x 4 mm)
- Nastavki za avtomatske pipete
- Kivete PS (Plastibrand)
- Pinceta
- Brizge
- Liji
- Čaše
- Filter papir črni trak 589 (Schleicher & Schuell)
- Erlenmajerice
- Filtri Millipore (CA 0,45 µm)
- Parafilm
- Nož
- Deska
- Folija (PP/PE-EVOH/PE)

Aparature

- Hladilna komora katedre za tehnologije, prehrano in vino, Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta, Ljubljana
- Mesoreznica-Typ 250/S
- Tehnica-Mettler Toledo AB204-S
- Homogenizator-ULTRA-TURRAX T 25 (Janke & Kunkel IKA® - Labortechnik)
- Centrifugator-Eppendorf 5451C

- Magnetno mešalo
- Tekočinski kromatograf HPLC sistem Agilent 1100 z masnim spektrometrom (MS)
- UV-VIS spektrofotometer

Kemikalije in reagenti

- Milli Q voda
- CH₃OH (Metanol)-MeOH (Merck)
 - Sinigrin hidrat (Fluka)
 - Certificiran referenčni material BCR-367 (Fluka)
- CF₃COOH (TFA (trifluoro očetna kislina))
- HPO₃ (MFK (metafosforna kislina)) (Sigma-Aldrich)
- Heksan
- TCEP (Tris(2-karboksietil)fosfin) (Sigma-Aldrich C4706-2G)
- EDTA
- NaOH (natrijev hidroksid)
- NaH₂PO₄ 2H₂O
- DNTB (5,5-ditio-bis(2-nitrobenzojska kislina)
- Na₂CO₃ (natrijev karbonat)
- Folin-Ciocalteaujev reagent
- Askorbinska kislina (standard: 99,7 %; Sigma)

3.2 NAČRT DELA

Vse analize smo opravili na Katedri za tehnologije, prehrano in vino, Katedri za kemijo in biokemijo in Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete.

Pred analizo smo zeljnate glave hranili najmanj 48 ur na temperaturi pri kateri smo izvajali eksperiment. Ves čas izvedbe določenega eksperimenta je bila temperatura konstantna. Vsako zeljnato glavo je bilo potrebno pred samim poskusom očistiti tako, da smo ji odstranili kocen ter poškodovane in umazane liste. Očiščene glave smo narezali z nožem in mesoreznico na določeno debelino. Za večino poskusov smo uporabljali dele iste zeljnate glave oz. zeljnate glave, ki so bile obrane istočasno.

Izvedli smo naslednje poskuse:

POSKUS 1:

Vpliv debeline rezanja zelja, temperature in časa na vsebnost glukozinolatov, L-askorbinske kisline, skupnega vitamina C, glutaciona in skupnih antioksidantov

Za poskus smo pripravili šest glav zelja. Tri glave zelja smo hranili na sobni temperaturi 20 °C, preostale tri pa na 8 °C. Na določen dan smo analizirali le eno glavo. Izbrano glavo smo narezali na tri enake dele. Tretjino glave smo pustili nedotaknjeno (rezerva), ostali dve tretjini pa smo z mesoreznico narezali na ustrezno debelino rezin. Rezine (200 g) smo prenesli v velike čaše in jih prekrili s parafilmom, ki smo ga naluknjali in tako omogočili izmenjavo plinov.

Zelje smo z mesoreznico narezali na dve debelini:

- zelje narezano na debelino rezin 0,5 mm
- zelje narezano na debelino rezin 2 mm

Ustrezno količino zelja (4 g) iz posamezne čaše smo vzorčili prvič, ko je poteklo 5 minut, nato 30 minut, 2 uri in 27 ur. Ob vsakem času smo vzorec zelja narezan na določeno debelino dvakrat vzorčili ter vzorce zelja pripravili za nadaljne analize. Določali smo vsebnost glukozinolatov, L-askorbinsko kislino, skupen vitamin C, glutation in skupne antioksidante.



Slika 7: Hladilna komora (8 °C) z vzorci zelja narezanimi na ustrezni debelini (0,5 mm in 2 mm)

POSKUS 2:

Vpliv kontrolirane atmosfere z veliko vsebnostjo kisika in zraka na vsebnost glukozinolatov, L-askorbinske kisline, skupnega vitamina C, glutationa in skupnih antioksidantov

Pripravili smo tri glave zelja in jih hranili v hladilnici na 8 °C. Vsako posamezno glavo smo z nožem razpolovili in jo z mesoreznico narezali na 0,75 mm debele rezine. Narezano zelje smo narahlo premešali, da smo zagotovili homogenost vzorca. Z narezanim zeljem smo napolnili deset erlenmajeric (100 g rezin zelja) z obrusom (plinoizpiralk) in vanje potisnili stekleno cevko z obrusom, da smo zagotovili plinotesnost. Pet erlenmajeric smo priključili na jeklenko s 100 % kisikom, ostalih pet pa na jeklenko s sintetičnim zrakom. Med posodami z zeljem in jeklenko smo v obeh primerih vstavili erlenmajerico z obrusom v kateri je bila voda, skozi katero smo vodili plin in tako zagotovili 100 % vlažnost. Pri pretoku plina 80 ml/min smo vzorce zelja prepihovali 120 ur.

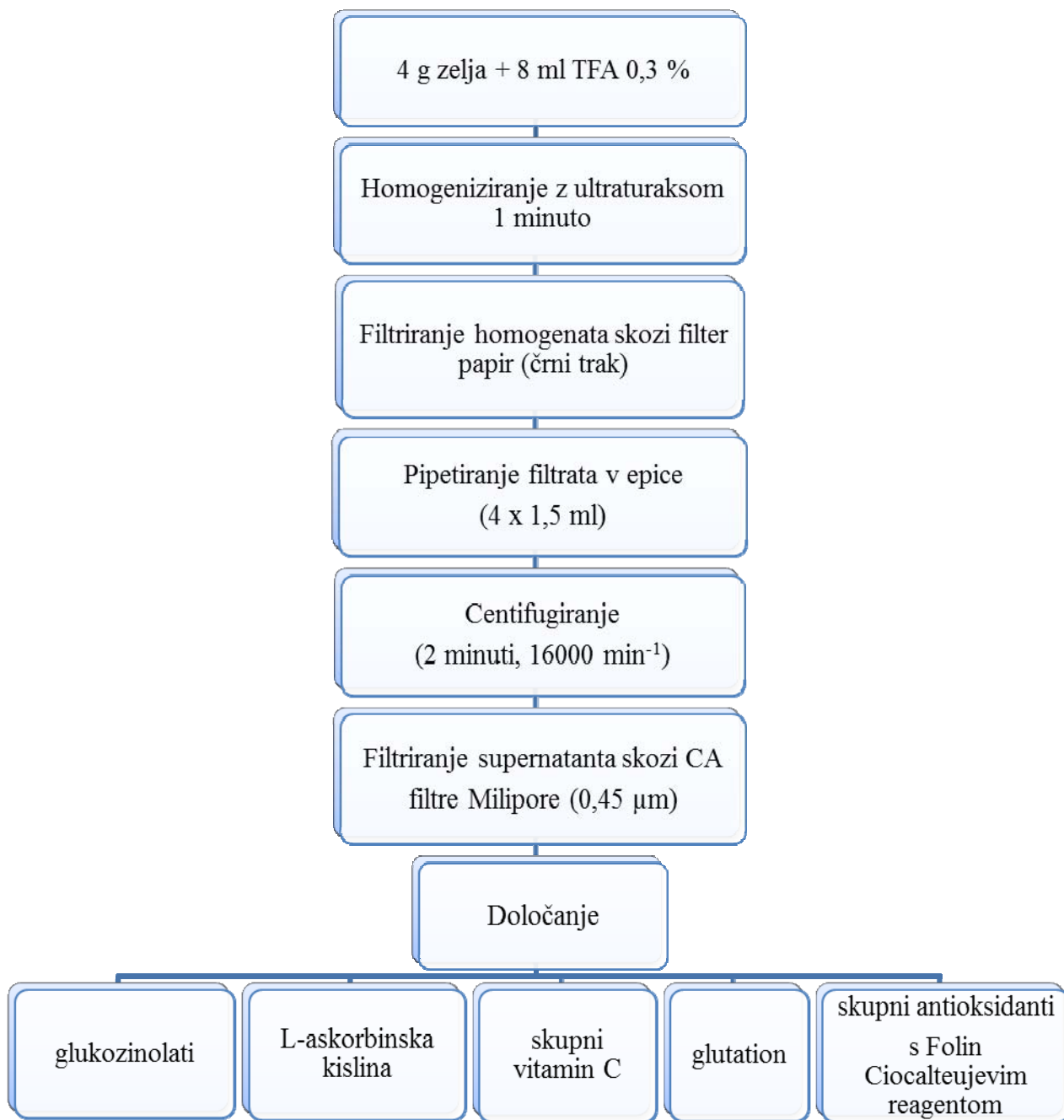
Vzorce smo iz posod jemali po 2 urah, 12 urah, 24 urah, 72 urah in 120 urah. Posamezen vzorec smo iz vsake vrste zaporedno vezanih plinoizpiralk ob določenem času dvakrat

vzorčili in vzorce pripravili za analizo glukozinolatov, L-askorbinske kisline, skupnega vitamina C, glutationa in skupnih antioksidantov.



Slika 8: Vpliv kontrolirane atmosfere (100 % O₂ in sintetični zrak) na vsebnost glukozinolatov in nekaterih antioksidantov v narezanem zelju

3.2.1 Analiza vzorcev



Slika 9: Shema priprave vzorcev narezanega zelja

3.3 METODE DELA

3.3.1 Določanje glukozinolatov v zelju

Reagenti

- 0,3 % TFA v MeOH,
 - 1,84 ml TFA (Sigma-Aldrich),
 - raztopimo v 997 g MeOH,
- 0,1 % TFA v vodi,
 - 0,61 ml TFA (Sigma-Aldrich),
 - raztopimo v 999 g Milli Q vode,
- Metanol (MeOH),
 - sinigrin hidrat (Fluka)
 - certificiran referenčni material BCR-367 (Fluka)

Priprava 0,3 % TFA

V 250 ml merilno bučko nalijemo do oznake milli Q vodo in dodamo 750 µl TFA, da dobimo ustrezno razmerje.

Priprava 0,3 % TFA v MeOH

V 250 ml merilno bučko nalijemo do oznake metanol in dodamo 750 µl TFA, da dobimo ustrezno razmerje.

Priprava vzorca za določanje glukozinolatov

V 50 ml centrifugirko z 8 ml hladne 0,3 % TFA v MeOH smo zatehtali 4 g vzorca zelja. Homogenizirali smo z ultraturaksom eno minuto pri 10000 obratih/minuto, da je zmes postala homogena. Homogenat smo filtrirali v male steklene čaše skozi celulozni filter papir-črni trak. Filtrat smo prenesli v mikrocentrifugirke in centrifugirali 2 minuti pri 16000 obratih/min. Supernatant smo prefiltrirali skozi CA filtre Millipore (0,45 µm) v 1,5 ml vial. Tako pripravljene vzorce smo še isti dan analizirali na LC/MS.

Kromatografski pogoji

- vakuumski razplinjevalnik Agilent 1100, G1379A (Agilent),
- binarna gradientna črpalka Agilent 1100, G1312A (Agilent),
- avtomatski podajalnik Agilent 1100, G1330B (Agilent),
- termostat za kolono Agilent 1100, G1316A (Agilent),
- kolona: Gemini C18 (3 µm, 150 mm × 2 mm i.d.) (Phenomenex, Torrance, 00F-4439-B0),
- temperatura kolone: 25 °C,
- mobilna faza (preglednica 5):
 - X – 0,1 % TFA v vodi,
 - Y – MeOH,
- pretok: 0,25 mL/min,

- volumen injiciranja: 10 μ L,
- detektor: masni spektrometer Micromass Quattro micro[®] API (Waters) z elektrosprej ionizacijo (electrospray ionization – ESI),
- pogojih delovanja: napetost vhodne leče 40 V,
- temperatura izvora 120 °C,
- napetost kapilare 3,5 kV v negativnem načinu ionizacije (ESI-),
- razpršilni plin dušik: temperaturo 350 °C, pretok 400 L/h,
- plin vhodne leče dušik: pretok 50 L/h.

Detekcija na masnem detektorju je potekala v SIR (Selected Ion Recording) načinu: sinigrin ([M-H] = 358,20); glukobrazicin ([M-H] = 447,13); neoglukobrazicin ([M-H] = 477,19); 4-hidroksiglukobrazicin ([M-H] = 463,19); glukoalizin ([M-H] = 450,19); progoitrin ([M-H] = 388,10); glukobrazikanapin ([M-H] = 386,41); glukonapin ([M-H] = 372,09); glukonasturtin ([M-H] = 422,19); glukonapoleiferin ([M-H] = 402,41).

Preglednica 4: Gradient mobilne faze

t (min)	X (%)	Y (%)
0	100	0
5	98,3	1,7
15	20	80
17	20	80
20	100	0
30	100	0

Vsebnost posameznih glukozinolatov smo določili s primerjavo retenzijskih časov in m/z glukozinolatov v certificiranem referenčnem vzorcu (CRM BCR-367) ter standarda sinigrina (Fluka).

Rezultate smo obdelali s programsko opremo MassLynx 4.0. Za izračun vsebnosti posameznih glukozinolatov v vzorcih smo uporabili umeritvene krivulje za posamezne glukozinolate (priloga A-J). Za pripravo umeritvenih krivulj smo uporabili znane količine certificiranega referenčnega materiala (zrna oljne repice z znanimi koncentracijami posameznih glukozinolatov) (preglednica 5), ki smo ga dodali kot standardni dodatek pri homogenizaciji narezanega zelja. Prav tako smo za uporabo umeritvene krivulje za sinigrin uporabili standard sinigrina kot standardni dodatek.

Preglednica 5: Vsebnost glukozinolatov v certificiranem referenčnem materialu BCR-367 (Fluka) (zrna oljne repice).

Trivialno ime	vsebnost (mmol/kg) srednja vrednost ± standardni odklon
progoitrin	60,7 ± 2,7
glukonapoleiferin	2,0 ± 0,4
glukoalizin	0,846 ± 0,027
glukobrazikanapin	5,2 ± 0,8
glukonapin	25 ± 4
4-hidroksiglukobrazicin	3,1 ± 1,3
glukobrazicin	0,12 ± 0,04
neoglukobrazicin	0,14 ± 0,04
glukonasturtin	0,9 ± 0,5

3.3.1.1 Izračun vsebnosti glukozinolatov

Vsebnost posameznega glukozinolata v $\mu\text{mol}/100\text{g}$ zelja smo določili tako:

$$c (\mu\text{mol/g zelja}) = (A_i/k_i) / m (\text{zelja}) \quad \dots(1)$$

$$c (\mu\text{mol}/100\text{g zelja}) = ((A_i/k_i) / m (\text{zelja})) * 100 \quad \dots(2)$$

i....pomeni površina za posamezen glukozinolat

Vsebnost sinigrina v $\mu\text{mol}/100\text{g}$ zelja smo določili tako:

$$c_{\text{SIN}} = 0,223 \mu\text{mol/mL}$$

$$A_{\text{SIN}} = 68732$$

$$M_{r\text{SIN}} = 397,46 \text{ g/mol}$$

$$R = 3 (12/4)$$

$$k_{\text{sinigrina}} = A_{\text{SIN}} / c_{\text{SIN}} \quad \dots(3)$$

$$c_{\text{SIN}} (\mu\text{mol/g zelja}) = A_{\text{SIN}} (\text{posamezni vzorec}) * R / k_{\text{SIN}} \quad \dots(4)$$

$$c_{\text{SIN}} (\mu\text{mol}/100\text{g zelja}) = (A_{\text{SIN}} (\text{posamezni vzorec}) * R / k_{\text{sinigrina}}) * 100 \quad \dots(5)$$

3.3.2 Določanje L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C

Reagenti

- 0,3 % TFA v vodi,
- 2 % MFK v vodi,
- 10 mM TCEP v 0,3 % TFA v vodi,
- 2,5 mM H_2SO_4 v vodi,
 - 0,138 mL 96 % H_2SO_4 (Carlo Erba),
 - dopolnemo do 1 L z Milli Q vodo,
- L-askorbinska kislina (Kemika).

Priprava 2 % metafosforne kisline (W/W)

20 g metafosforne kisline (MFK) smo zdrobili v tarilnici v prah ter kvantitativno prenesli v 1000 ml bučo in dopolnili z 980 g mili Q vode. S pomočjo magnetnega mešala smo mešali, dokler se nam kristali niso raztopili. Tako pripravljeno 2 % MFK smo shranjevali na hladnem.

Priprava 10 mM TCEP

V čašo smo zatehtali 43 mg TCEP in raztopili v 15 ml 0,3% TFA v vodi. Vse skupaj smo dobro premešali, pokrili s parafinom in dali v hladilnik (vsak dan svež reagent).

Priprava vzorca zelja za določanje L-askorbinske kisline

Vsebnost askorbinske kisline (L-AK) v zelju smo določali s HPLC kromatografijo. Askorbinsko kislino (L-AK) smo določili direktno v vzorcu, celotni vitamin C pa smo določili po predhodni redukciji DHA z reducentom TCEP v L-askorbinsko kislino (Wechtersbach in Cigić, 2007).

V 50 ml centrifugirko z 8 ml hladne 0,3% TFA v vodi smo zatehtali 4 g vzorca zelja. Homogenizirali smo z ultraturaksom eno minuto pri 10000 obratih/minuto, da je zmes postala homogena. Homogenat smo filtrirali v male steklene čaše skozi celulozni filter papir-črni trak. Filtrat smo prenesli v mikrocentrifugirke in centrifugirali 2 minuti pri 16000 obratih/min. Za določitev L-askorbinske kisline smo supernatant prefiltrirali skozi CA filtre Millipore (0,45 µm) v 1,5 ml vialo. Tako pripravljene vzorce smo analizirali na HPLC.

Za določitev celotnega vitamina C smo v 1,5 ml stekleno vialo odpipetirali 400 µl pripravljenega vzorca zelja (filtrata) in 800 µl pripravljenega 10 mM TCEP v 0,3 % TFA v vodi. Vialo smo dobro zaprli in premešali. Vzorce smo analizirali na HPLC sistemu.

Priprava standardnih raztopin (umeritvene krivulje)

V 50 ml 0,3 % TFA v vodi smo zatehtali 25 mg L-askorbinske kisline, da smo dobili koncentracijo raztopine 500 mg/l in dobro premešali. Nato smo odpipetirali 0,5 ml L-AK in redčili z 9,5 ml 0,3 % TFA v vodi. Iz te raztopine smo pripravili standardne raztopine, ki so vsebovale od 0-500 µL L-AK. Vsem standardnim raztopinam smo dodali 2 % MFK (1mL), 0,3% TFA (0-500 µL) ter 100 µL mili Q vode, do končnega volumna 1600 µL. Še isti dan smo standarde analizirali na HPLC sistemu.

Preglednica 6: Priprava standardnih raztopin L-askorbinske kisline za umeritveno krivuljo (priloga K)

VOLUMEN 2 % MFK (μ L)	VOLUMEN STAND. (VIT C 500 mg/L) (μ L)	VOLUMEN TFA (0,3 %) (μ L)	VOLUMEN milli Q vode (μ L)
1000	0	500	100
1000	100	400	100
1000	200	300	100
1000	300	200	100
1000	400	100	100
1000	500	0	100

Kromatografski pogoji

- razplinjevalnik: X-Act (Jour research),
- gradientna črpalka: Maxi Star (Knauer),
- avtomatski podajalnik vzorcev z grelno komoro: Basic plus Marathon (Spark),
- kolona: Synergy Hydro-RP 80 (4 μ m, 250×4.60 mm, Phenomenex),
- temperatura kolone: sobna temperatura,
- mobilna faza: 2,5 mM H₂SO₄,
- pretok mobilne faze: 1,0 mL/min,
- volumen injiciranja: 20 μ L,
- detektor: UV-VIS, 250 nm (Knauer),
- retencijski čas: 4,9 min.

3.3.2.1 Izračun vsebnosti askorbinske kisline (L-AK)

Vsebnost L-AK (V_{LAK}) v mg/100 g zelja smo določili tako, da smo iz umeritvene krivulje odčitali masno koncentracijo L-AK. Ob upoštevanju razredčitve (3x) in predpostavki, da je gostota zelja 1 g/mL, smo določili vsebnost L-AK v vzorcu po naslednji enačbi:

$$V_{LAK} = ((A_{LAK} - 6522,1) / 2600,6) \times 0,3 \quad \dots(6)$$

A_{LAK} ...površina pika na kromatogramu (mAu × min), ko smo injicirali vzorec brez reducenta

3.3.2.2 Izračun vsebnosti skupnega vitamina C

Vsebnost skupnega vitamina C ($V_{VIT C}$) v mg/100 g zelja smo določili enako kot L-AK (3.3.2.1.), razen da smo tu upoštevali vzorec z reducentom in rezultat na koncu pomnožili z 0,9 (upoštevali 9x razredčitev).

$$V = ((A_{VIT C (RED)} - 6522,1) / 2600,6) \times 0,9 \quad \dots(7)$$

$A_{VIT\ C\ (RED)}$...površina pika na kromatogramu, ko smo injicirali vzorec z dodanim reducentom

3.3.3 Določanje glutationa

Reagenti

- 0,3 % TFA v vodi,
- $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$,
- fosfatni pufer,
- 0,6 mM DNTB,
- GSH

Priprava fosfatnega pufra

V 1000 mL stekleno čašo smo zatehtali 15,6 g $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$, mu dodali 500 mL mili Q vode, da raztopimo kristale. Ko so bili kristali raztopljeni, smo dodali 1,1 g EDTA, ter mešali z magnetnim mešalom. Fosfatni pufer mora imeti pH 8, zato smo ga uravnavali s titracijo z NaOH.

Priprava 0,6 mmol/L DNTB (reagent)

V plastično ladijco smo zatehtali 12 mg DNTB ter kvantitativno prenesli v 100 mL stekleno čašo. DNTB smo raztopili v 50 mL fosfatnega pufra. Mešali smo na magnetnem mešalniku.

Priprava vzorca zelja za določanje glutationa

Centrifugiran in filtriran homogenat vzorcev narezanega zelja, ki je bil pripravljen za določevanje vitamina C, smo uporabili še za določanje reducirane oblike glutationa in skupnih antioksidantov s Folin-Ciocalteuevim reagentom.

Za določitev glutationa smo v 1,5 mL mikrocentrifugirko odpipetirali 100 μ L prefiltriranega vzorca zelja in 900 μ L 0,6 mM reagenta DTNB. Mikrocentrifugirko smo dobro zaprli in premešali in pustili stati 15 min. Po 15 minutah smo izmerili absorbanco pri 412 nm. Vse meritve smo izvajali v dveh paralelkah. Za slepi vzorec smo odpipetirali namesto vzorca zelja 100 μ L 0,3 % TFA v vodi.

Priprava standardnih raztopin (umeritvene krivulje)

Pripravili smo 0,5 mmol/L GSH. Iz te raztopine smo pripravili standardne raztopine, ki so vsebovale od 10 do 60 μ L GSH. Vsem standardnim raztopinam smo dodali 900 μ L 0,6 mM reagenta in 0,3 % TFA do končnega volumna 1000 μ L. Raztopino smo dobro premešali. Po 15 minutah smo izmerili absorbance standardnih raztopin pri 412 nm. Na podlagi izmerjenih absorbanc in znanih koncentracij standardnih raztopin smo narisali umeritveno krivuljo.

Preglednica 7: Priprava standardnih raztopin glutaciona za umeritveno krivuljo

GSH Koncentracija 0,5 mmol/L (μL)	VOLUMEN REAGENTA (μL)	VOLUMEN 0,3 % TFA v vodi (μL)
10	900	90
20	900	80
30	900	70
40	900	60
50	900	50
60	900	40

Umeritveno krivuljo za določanje glutaciona smo pripravili iz znanih koncentracij glutaciona. Umeritvena krivulja (priloga L), na podlagi katere smo določili vsebnost glutaciona v vzorcih, je premica z enačbo:

$$C_{\text{glutaciona}} (\mu\text{mol/kg}) = (A_{412} - 0,0033) / 0,0166 \quad \dots(8)$$

3.3.4 Določanje skupnih antioksidantov s Folin-Ciocalteu jevim reagentom

Reagenti

- F.C. reagent
- 20 % Na_2CO_3
- 0,3 % TFA v vodi
- L-AK

Priprava 20 % Na_2CO_3

V 100 mL čašo smo zatehtali 10 g Na_2CO_3 in ga raztopili v 40 milli Q vode. Za hitrejše in boljše raztapljanje smo uporabili magnetno mešalo.

Priprava F.C. reagenta (1:2)

V 50 mL centrifugirko smo odpipetirali 15 mL F.C. reagenta in 30 mL mili Q vode. Centrifugirko smo dobro zaprli in premešali.

Priprava vzorca zelja za določanje skupnih antioksidantov s F.C. reagentom

Za določitev skupnih antioksidantov s F.C. reagentom smo v 1,5 mL mikrocentrifugirko odpipetirali 30 μL centrifugiranega in filtriranega vzorca zelja, dodali 720 μL mili Q vode in 125 μL F.C. reagenta (1:2) ter dobro premešali in počakali pet minut. Po petih minutah smo dodali 125 μL Na_2CO_3 in dobro premešali. Po 60 minutah smo na spektrofotometru izmerili absorbanco pri 765 nm. Vse meritve smo opravljali v dveh paralelkah. Slepi

vzorec pa smo pripravili po istem postopku, samo da smo namesto vzorca zelja odpipetirali 30 μL 0,3 % TFA v vodi.

Priprava standardnih raztopin (umeritvene krivulje)

V 1,5 mL mikrocentrifugirko smo odpipetirali 135 μL L-AK s koncentracijo 1000 mg/L ter dodali 865 μL H_2O . Mikrocentrifugirkosmo dobro zaprli ter premešali. Potem smo odpipetirali v 15 mL plastično centrifugirko 800 μL te raztopine in dodali 7,2 mL milli Q vode. Tako smo pripravili L-AK s koncentracijo 13,5 mg/L. Iz te raztopine smo pripravili standardne raztopine, ki so vsebovale od 0-700 μL L-AK. Vsem standardnim raztopinam smo dodali milli Q vodo do končnega volumna 720 μL , premešali in dodali 125 μL F.C. reagenta, ki smo ga predhodno razredčili z milli Q vodo v razmerju 1:2, ter po 5 minutah še 125 μL 20 % Na_2CO_3 . Po 90 minutah smo na spektrofotometru izmerili absorbance standardnih raztopin L-AK pri 746 nm. Iz izmerjenih absorbanc in znanih koncentracij standardnih raztopin smo narisali umeritveno krivuljo.

Preglednica 8: Priprava standardnih raztopin L-askorbinske kisline za umeritveno krivuljo

L-AK s konc. 13,5 mg/L (μL)	MILLI Q VODA (μL)	VOLUMEN 0,3 % TFA v vodi (μL)	F.C. reagent (1:2) (μL)	Na_2CO_3 (20 %) (μL)
0	720	30	125	125
70	650	30	125	125
140	580	30	125	125
210	510	30	125	125
280	440	30	125	125
350	370	30	125	125
420	300	30	125	125
490	230	30	125	125
560	160	30	125	125
630	90	30	125	125
700	20	30	125	125

Umeritvena krivulja (priloga M), na podlagi katere smo določili skupne antioksidante v vzorcih, je premica z enačbo:

$$C_{\text{L-AK}} (\text{mg/L}) = (A_{746} + 0,0074) / 0,921 \quad \dots(9)$$

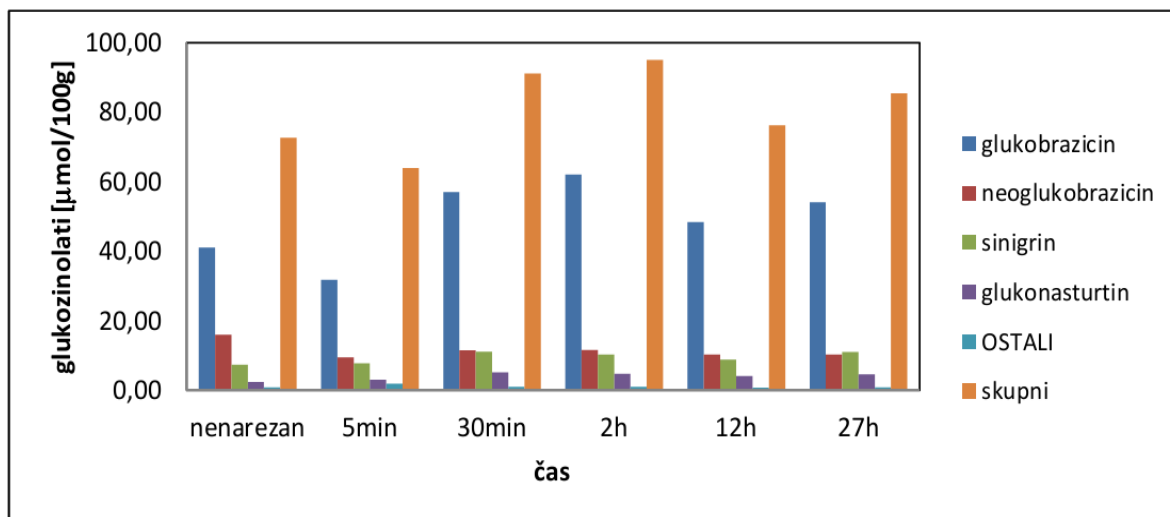
4 REZULTATI

4.1 VSEBNOST GLUKOZINOLATOV V NAREZANEM ZELJU

V nenarezanem zelju, ki smo ga analizirali, smo določili povprečno $94 \pm 28 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ glukozinolatov. Prevladujejo predvsem štirje glukozinolati (glukobrazicin ($52 \pm 21 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), neoglukobrazicin ($18 \pm 5,7 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), sinigrin ($11 \pm 7,9 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), glukonasturtin ($5,4 \pm 3,6 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), zato smo te v diplomski nalogi obravnavali ločeno. Ostalih šest (glukobrazikanapin ($3,4 \pm 2,2 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), 4-hidroksi-glukobrazicin ($1,6 \pm 0,6 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), progoitrin ($1,1 \pm 1,2 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), glukoalizin ($0,8 \pm 0,5 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), glukonapoleiferin in glukonapin (pod $0,3 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), ki so zastopani v majhnih količinah pa skupaj.

4.1.1 Vpliv debeline rezanja in časa skladiščenja pri 8°C na vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju

4.1.1.1 Rezanje zelja na debelino 0,5 mm



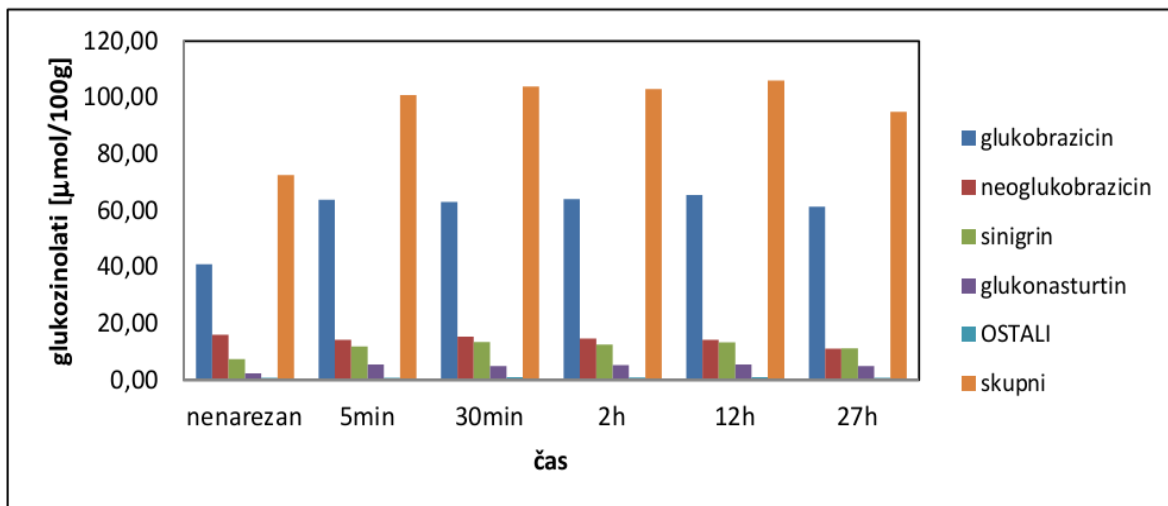
Slika 10: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 0,5 mm in skladiščenem pri 8°C

opomba: ostali (glukobrazikanapin, 4-hidroksi-glukobrazicin, progoitrin, glukoalizin, glukopoliferin in glukonapin)

Slika 10 nam prikazuje, kako se spreminja vsebnost glukozinolatov pri zelju narezanem na rezine debeline 0,5 mm. K spremembam vsebnosti skupnih glukozinolatov v narezanem zelju v največji meri prispevajo trije glukozinolati: glukobrazicin, neoglukobrazicin in sinigrin. Glukobrazicin doseže največjo vsebnost 2 uri po rezanju ($62 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), nato po 12-ih urah pade ($48 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), po 27-ih urah pa zopet naraste ($54 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$). Pri neoglukobrazicinu največjo vsebnost zabeležimo pri nenarezanem zelju, nato pa se spreminja podobno kot glukobrazicin (po 2 urah $12 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$, po 27-ih urah $10 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$). Sinigrin pa največjo vsebnost doseže po 30-ih minutah ($11 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), ter po 27-ih urah ($11 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), prav tako po 30-ih minutah glukonasturtin doseže najvišjo

vsebnost ($5 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$). Vsebnost skupnih glukozinolatov je najnižja po petih minutah, najvišja pa po dveh urah ($64\text{--}95 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$).

4.1.1.2 Rezanje zelja na debelino 2 mm

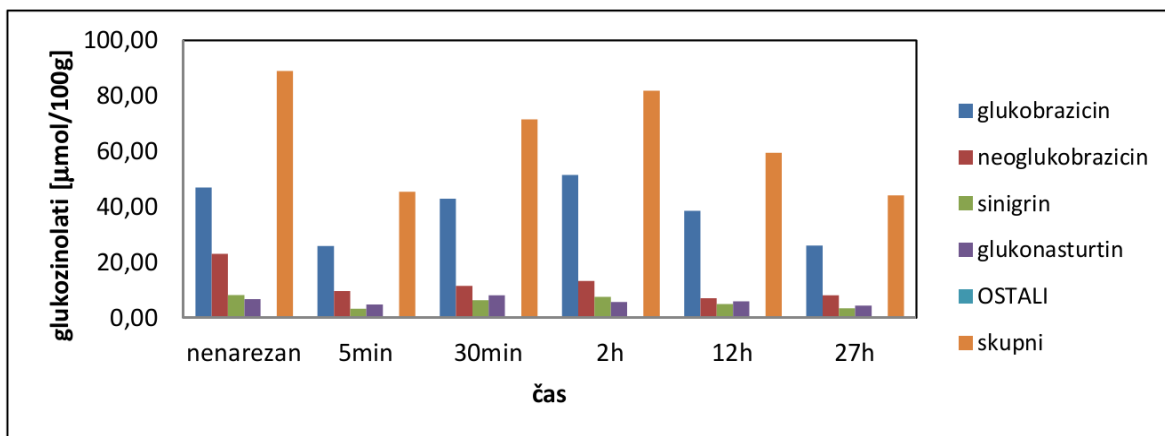


Slika 11: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 2 mm in skladiščenem pri 8°C

Pri zelju narezanem na debelino 2 mm (slika 11) se vsebnost skupnih glukozinolatov v petih minutah po rezanju poveča iz začetnih $73 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ na $101 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$, v nadaljevanju ostane skoraj na tej ravni oziroma se malo zmanjša. Pri glukobrazicinu se prav tako poveča po petih minutah iz začetnih $41 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ na $64 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ in se do konca skoraj ne spreminja. Podobno je s sinigrinom in glukonasturtinom, pri neoglukobrazicinu pa najvišje vsebnosti beležimo pri nenarezanem zelju, nato pa malenkost pade, najnižje vsebnosti pa so po 27-ih urah (iz $16 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ na $11 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$).

4.1.2 Vpliv debeline rezanja in časa skladiščenja pri 20 °C na vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju

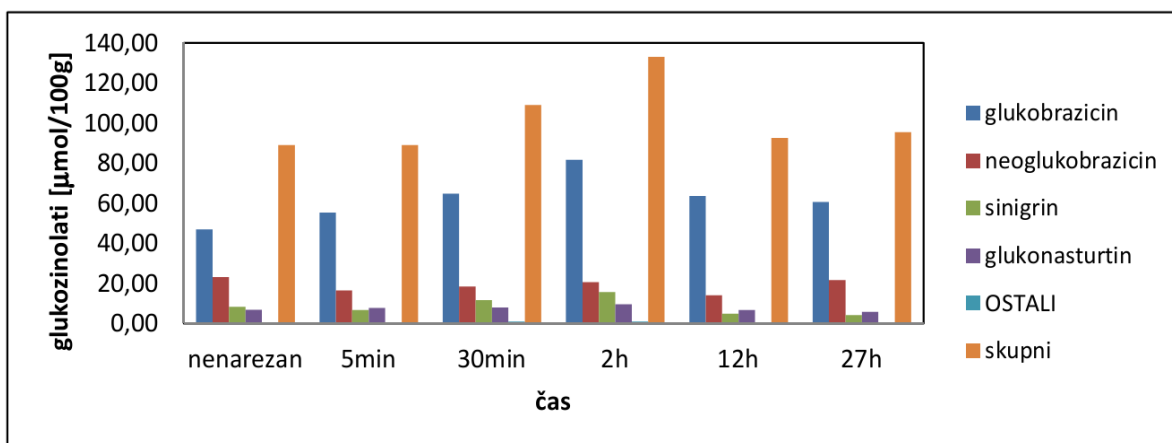
4.1.2.1 Rezanje zelja na debelino 0,5 mm



Slika 12: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 0,5 mm in skladiščenem pri 20 °C

Pri zelju rezanem na debelino 0,5 mm (slika 12) se vsebnost skupnih glukozinolatov zmanjša iz 89 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ na 45 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ po petih minutah, po dveh urah pa se povečajo na začetno raven (82 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$), do konca skladiščenja (27 ur) pa se vsebnost zmanjša za polovico. Glukobrazicin se iz začetnih 47 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ po petih minutah zniža na 26 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$, enako je s sinigrinom. Neoglukobrazicin pa se iz začetnih 23 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ po 5-ih minutah zniža na 10 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$, nato pa se po dveh urah rahlo poveča, vendar ne doseže začetne vsebnosti, nato spet pade do konca skladiščenja. Glukonasturtin pa doseže najvišje vsebnosti po 30-ih minutah (8 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$) ter se do konca skladiščenja zniža za polovico.

4.1.2.2 Rezanje zelja na debelino 2 mm

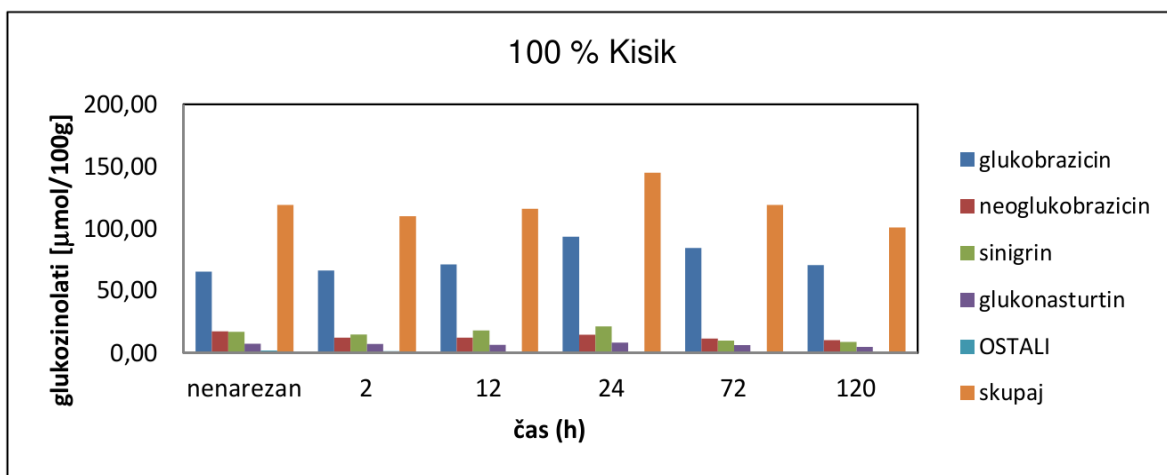


Slika 13: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 2 mm in skladiščenem pri 20 °C

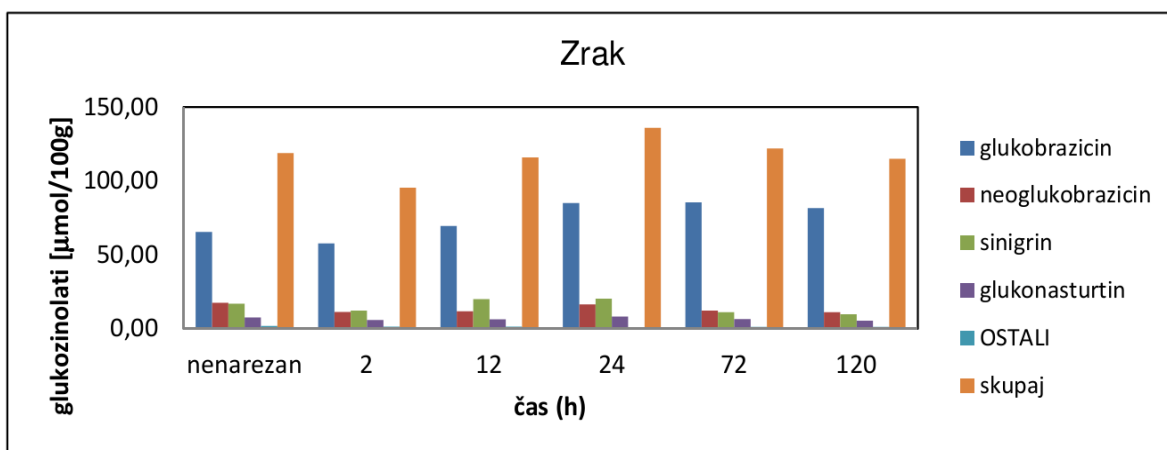
Pri zelju rezanem na debelino 2 mm (slika 13) se vsebnost skupnih glukozinolatov poveča iz 89 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ na 133 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ po dveh urah, nato pa se do konca skladiščenja zniža na začetno raven (96 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$). Glukobrazicin se iz začetnih 47 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ po dveh urah zviša na 82 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$, enako je s sinigrinom. Neoglukobrazicin pa se iz začetih 23 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$, po 12-ih urah zniža na 14 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$, nato pa do konca skladiščenja zopet naraste skoraj na začetno vsebnost. Glukonasturtin pa doseže najvišje vsebnosti po dveh urah (10 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$) ter se do konca skladiščenja zniža skoraj za polovico.

4.1.3 Vpliv sestave plinske faze na vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju

Sliki 14 in 15 nam prikazujeta rezultate analiz vsebnosti glukozinolatov pri zelju rezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s 100 % kisikom ali sintetičnim zrakom pri 8 °C.



Slika 14: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s 100 % kisikom pri 8 °C



Slika 15: Spreminjanje vsebnosti glukozinolatov v zelju narezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s sintetičnim zrakom pri 8 °C

Iz podatkov je razvidno, da se vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju spreminja s časom, vendar so spremembe neodvisne od plina s katerim smo zelje prepihovali. Vsebnost skupnih glukozinolatov se od povprečne vrednosti takoj po rezanju (119 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$) po dveh urah zmanjša (103 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$), po 24-ih urah pa se ponovno zveča (140 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$), nato pa se ponovno zmanjšuje. Po 72-ih urah jih je 120 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$, po 120-ih urah pa 107 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$. Glukobrazicin, sinigrin, neoglukobrazicin in glukonasturtin so tisti glukozinolati, ki v največji meri prispevajo k spremembam vsebnosti skupnih glukozinolatov v narezanem zelju, vsebnost ostalih prikazanih v slikah 14 in 15 pa se s časom ne spreminja. Vsebnost glukobrazicina in sinigrina doseže 24 ur po rezanju za okoli 40 % večjo vrednost kot po rezanju.

4.2 VSEBNOST L-ASKORBINSKE KISLINE IN SKUPNEGA VITAMINA C V ZELJU

4.2.1 Vpliv debeline rezanja in temperature skladiščenja na spremembe vsebnosti L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C v narezanem zelju

V preglednici 9 so prikazani rezultati vsebnosti L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C glede na debelino rezanja, čas in temperaturo skladiščenja.

Vsebnost L-askorbinske kisline v narezanem zelju skladiščenem pri 8 °C je 5 minut po rezanju zelo nizka (12 mg/100 g), ter se čez celoten poskus skoraj ne spreminja, malenkost pade le pri zelju rezanem na debelino 0,5 mm in sicer na 10 mg/100 g po 27-ih urah. Kakšnih bistvenih razlik med različno rezanima vzorcema ni bilo zaznati.

Pri 20 °C smo pri obeh rezanjih zaznali nekoliko višje vrednosti L-askorbinske kisline (med 17 in 18 mg/100 g) v primerjavi z narezanim zeljem skladiščenim na 8 °C. Vendar so vrednosti še vseeno zelo nizke. Prav tako pa se te vrednosti čez celoten poskus skoraj niso spremenile, v povprečju so pri obeh rezanjih narasle po 27 urah za 1 mg/100 g.

Iz preglednice 9 lahko povzamemo, da zelje rezano na debelino 0,5 mm pri 8 °C vsebuje med 10 in 12 mg/100 g L-AK, zelje rezano na debelino 2 mm pa med 11 in 12 mg/100 g. Narezano zelje na debelino 0,5 mm pri 20 °C vsebuje med 15 in 20 mg/100 g L-AK, rezano na 2 mm pa med 16 in 19 mg/100 g.

Preglednica 9: Vpliv debeline rezanja na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C v narezanem zelju, skladiščenem pri 8 °C in 20 °C.

T (°C)	Vzorec (mg/100g)	Rezanje (mm)	čas				
			5min	30min	2h	12h	27h
8	L-askorbinska kislina (L-AK)	0,5	11,9 $\pm$ 0,15	11,3 $\pm$ 1,3	11,4 $\pm$ 1,1	11,2 $\pm$ 1,4	10,1 $\pm$ 2,2
		2	12,1 $\pm$ 2,3	11,7 $\pm$ 2,3	12,1 $\pm$ 1,8	12,2 $\pm$ 3,1	11,3 $\pm$ 2,7
	skupni vitamin C	0,5	28,8 $\pm$ 0,48	26,7 $\pm$ 3,2	26,4 $\pm$ 2,6	25,9 $\pm$ 4,1	22,5 $\pm$ 6,1
		2	28,5 $\pm$ 4,7	26,1 $\pm$ 5,8	27,4 $\pm$ 4,1	27,2 $\pm$ 6,1	25,9 $\pm$ 6,6
20	L-askorbinska kislina (L-AK)	0,5	16,6 $\pm$ 1,6	15,3 $\pm$ 3,1	17,1 $\pm$ 1,2	17,4 $\pm$ 2,4	19,5 $\pm$ 2,2
		2	17,7 $\pm$ 2,6	16,7 $\pm$ 3,5	16,7 $\pm$ 3,3	19,3 $\pm$ 1,2	18,5 $\pm$ 2,7
	skupni vitamin C	0,5	39,0 $\pm$ 12,8	45,3 $\pm$ 9,6	39,7 $\pm$ 7,5	32,8 $\pm$ 7,7	34,9 $\pm$ 6,7
		2	42,6 $\pm$ 7,9	44,0 $\pm$ 12,4	41,1 $\pm$ 10,3	43,0 $\pm$ 11,2	39,4 $\pm$ 11,1

Vsebnost skupnega vitamina C, pri različni debelini rezanja in temperaturi 8 °C, se giblje med 28 in 29 mg/100 g. Pri obeh debelinah rezanja po 27-ih urah pade, pri debelini 0,5 mm na 22 mg/100 g, pri debelini 2 mm pa na 26 mg/100 g.

Pri temperaturi 20 °C pa s vrednosti takoj po rezanju med 39 in 43 mg/100 g. Pri zelju rezanem na debelino 0,5 mm zaznamo porast po 30 minutah na 45 mg/100 g, nato pa se vsebnost s časom zmanjšuje, najnižja je po 12-ih urah (33 mg/100 g), po 27-ih urah pa doseže vrednost 35 mg/100 g. Pri zelju rezanem na debelino 2 mm je bila po 30 minutah največja (44 mg/100 g), nato se je rahlo zmanjšala pri 2-eh in 12-ih urah, po 27-ih urah pa je padla na 39 mg/100 g.

4.2.2 Vpliv sestave plinske faze na spremembe vsebnosti L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C v narezanem zelju

Preglednica 10 nam prikazuje rezultate analiz vsebnosti L-AK in skupnega vitamina C pri zelju rezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s 100 % kisikom ali sintetičnim zrakom pri 8 °C.

Preglednica 10: Vpliv sestave atmosfere na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) L-askorbinske kisline in skupnega vitamina C v narezanem zelju, rezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem pri 8 °C

Vzorec (mg/100g)	Plinska mešanica za prepihovanje	čas (h)				
		2	12	24	72	120
L-askorbinska kislina (L-AK)	kisik	11,4 $\pm$ 2,4	13,6 $\pm$ 1,1	13,5 $\pm$ 1,1	14,3 $\pm$ 0,65	9,1 $\pm$ 0,29
	sintetični zrak	10,0 $\pm$ 2,5	15,8 $\pm$ 3,8	13,6 $\pm$ 1,1	14,6 $\pm$ 0,56	9,0 $\pm$ 0,27
skupni vitamin C	kisik	27,0 $\pm$ 6,2	30,6 $\pm$ 2,0	31,7 $\pm$ 1,4	33,1 $\pm$ 1,2	19,8 $\pm$ 0,83
	sintetični zrak	21,8 $\pm$ 6,5	36,4 $\pm$ 11,1	32,6 $\pm$ 1,8	34,3 $\pm$ 0,53	20,9 $\pm$ 1,3

Glede na rezultate lahko rečemo, da so vsebnosti L-askorbinske kisline zelo nizke, ne glede nato ali smo prepihovali z zrakom ali kisikom. Največje vrednosti dosežejo v času med 12 in 72 ur (med 13 in 16 mg/100 g), po 120-ih urah pa tako pri kisiku kot zraku vrednosti padejo pod 10 mg/100 g.

Vsebnost skupnega vitamina C je nekoliko višja kot L-AK, vendar še vseeno nizka. Pri prepihovanju s kisikom se vsebnost skupnega vitamina C do 72-ih ur povečuje iz 27 na 33 mg/100 g, po 120-ih urah pa pade na 20 mg/100 g. Pri prepihovanju z zrakom pa se po 12-ih urah občutno poveča vsebnost skupnega vitamina C iz 22 na 36 mg/100 g, nato se giblje med 33 in 34 mg/100 g do 72-ih ur, nato pa zopet občutno pade nazaj na začetno vrednost (21 mg/100 g).

4.3 VSEBNOST GLUTATIONA IN SKUPNIH ANTIOKSIDANTOV V NAREZANEM ZELJU

4.3.1 Vpliv debeline rezanja in temperature skladiščenja na spremembe vsebnosti glutationa in skupnih antioksidantov s Folin-Ciocalteuevim reagentom v narezanem zelju

Vsebnost **glutationa** v narezanem zelju rezanem na debelino 0,5 mm in skladiščenem pri 8 °C je čez celoten poskus nižja (335 – 425 μ mol/kg) v primerjavi z zeljem rezanim na debelino 2 mm (418- 497 μ mol/kg). Pri obeh debelinah rezanja, pa zaznamo najnižje vrednosti glutaciona 2 uri po rezanju. Pri zelju rezanem na debelino 0,5 mm dosežemo najvišjo vrednost po 27-ih urah (425 μ mol/kg), prav tako tudi pri zelju rezanem na debelino 2 mm (497 μ mol/kg) (preglednica 11).

Pri 20 °C je prav tako vsebnost glutaciona pri narezanem zelju na debelino 0,5 mm nižja (199 – 407 μ mol/kg) v primerjavi z zeljem rezanim na debelino 2 mm (322 – 424 μ mol/kg), najvišjo vrednost dosežemo po 27-ih urah. Najnižjo vsebnost glutaciona zaznamo pri debelini rezanja 0,5 mm 30 minut po rezanju, nato pa se povečuje in po 27-ih

urah je vsebnost največja. Pri zelju rezanem na debelino 2 mm pa je najnižja vsebnost 2 uri po rezanju, nato se povečuje, najvišjo vrednost pa doseže 27 ur po rezanju.

Iz preglednice 11 lahko povzamemo, da so vsebnosti glutaciona pri 8 °C neglede na rezanje višje v primerjavi z 20 °C. In sicer zelje rezano na debelino 0,5 mm pri 8 °C vsebuje od 335 – 425 µmol/kg glutaciona, pri 20 °C pa 199 – 407 µmol/kg. Zelje rezano na debelino 2 mm pa pri 8 °C vsebuje 418 – 497 µmol/kg glutaciona, pri 20 °C pa 322 – 424 µmol/kg.

Preglednica 11: Vpliv debeline rezanja na vsebnost (srednja vrednost ± standardni odklon) glutaciona in skupnih antioksidantov določenih s F.C. reagentom v narezanem zelju, skladiščenem pri 8 °C in 20 °C.

T (°C)	Vzorec	Rezanje (mm)	čas				
			5min	30min	2h	12h	27h
8	glutacion (µmol/kg)	0,5	348,6 ± 38,3	335,3 ± 31,6	335,9 ± 28,0	381,4 ± 51,5	425,1 ± 5,5
		2	444,3 ± 34,4	457,9 ± 11,2	418,4 ± 23,6	492,2 ± 28,5	497,1 ± 26,3
	skupni antioksidanti določeni s F.C. reagentom (mg/100g)	0,5	48,1 ± 2,8	48,0 ± 1,4	47,1 ± 3,2	49,2 ± 2,9	52,9 ± 2,4
		2	50,8 ± 3,7	50,4 ± 3,9	50,4 ± 5,3	55,5 ± 2,4	56,1 ± 3,8
20	glutacion (µmol/kg)	0,5	202,8 ± 35,7	198,6 ± 52,9	218,7 ± 28,9	262,7 ± 65,1	407,6 ± 92,7
		2	324,8 ± 35,0	337,4 ± 52,8	322,3 ± 22,7	338,0 ± 34,8	424,5 ± 9,2
	skupni antioksidanti določeni s F.C. reagentom (mg/100g)	0,5	48,1 ± 3,3	48,5 ± 3,8	48,0 ± 5,8	46,9 ± 0,36	54,7 ± 2,5
		2	52,1 ± 1,4	56,8 ± 6,3	54,2 ± 5,7	55,5 ± 6,9	58,2 ± 2,5

Vsebnost **skupnih antioksidantov določenih s F.C. reagentom** v narezanem zelju rezanem na debelino 0,5 mm in skladiščenem pri 8 °C je čez celoten poskus nižja (48 – 53 mg/100 g) v primerjavi z zeljem rezanim na debelino 2 mm (50 – 56 mg/100 g). Pri obeh debelinah rezanja, pa zaznamo najnižje vrednosti skupnih antioksidantov 2 uri po rezanju, najvišje pa 27 ur po rezanju (preglednica 11).

Pri 20 °C je prav tako vsebnost skupnih antioksidantov pri narezanem zelju na debelino 0,5 mm nižja (47 – 55 mg/100 g) v primerjavi z zeljem rezanim na debelino 2 mm (52 – 58 mg/100 g). Najnižjo vsebnost skupnih antioksidantov zaznamo pri debelini rezanja 0,5 mm 12 ur po rezanju, po 27-ih urah je vsebnost največja (55 mg/100 g). Pri zelju rezanem na debelino 2 mm pa je najnižja vsebnost takoj po 5-ih minutah po rezanju, nato se poveča po dveh urah malo pade, nato pa se povečuje in najvišjo vrednost doseže 27 ur po rezanju (58 mg/100 g).

Iz preglednice 11 lahko povzamemo, da so vsebnosti skupnih antioksidantov pri debelini 0,5 mm nižje v primerjavi z debelino 2 mm, neglede na temperaturo. In sicer zelje rezano

na debelino 0,5 mm pri 8 °C vsebuje od 47 – 53 mg/100 g skupnih antioksidantov, pri 20 °C pa (47-55 mg/100 g). Zelje rezano na debelino 2 mm pa pri 8 °C vsebuje 50 -56 mg/100 g skupnih antioksidantov, pri 20 °C pa 52 – 58 mg/100 g.

4.3.2 Vpliv sestave plinske faze na spremembe vsebnosti glutaciona in skupnih antioksidantov določenih s F.C. reagentom v narezanem zelju

Preglednica 12 nam prikazuje rezultate analiz vsebnosti glutaciona in skupnih antioksidantov pri zelju rezanem na debelino 0,75 mm in skladiščenem v atmosferi s 100 % kisikom ali sintetičnim zrakom pri 8 °C.

Preglednica 12: Vpliv sestave atmosfere na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) glutaciona in skupnih antioksidantov določenih s F.C. reagentom v narezanem zelju na debelino 0,75 mm in skladiščenem pri 8 °C

Vzorec	A	čas (h)				
		2	12	24	72	120
glutacion ($\mu\text{mol/kg}$)	kisik	371,4 $\pm$ 38,0	397,3 $\pm$ 16,6	491,9 $\pm$ 29,4	499,5 $\pm$ 19,2	532,1 $\pm$ 1,9
	sintetični zrak	365,7 $\pm$ 1,3	404,3 $\pm$ 7,0	456,4 $\pm$ 30,0	493,7 $\pm$ 25,0	497,7 $\pm$ 5,1
skupni antioksidanti določeni s F.C. reagentom (mg/100g)	kisik	54,3 $\pm$ 5,1	57,1 $\pm$ 3,7	53,5 $\pm$ 1,0	59,7 $\pm$ 1,3	69,1 $\pm$ 6,3
	sintetični zrak	54,2 $\pm$ 2,0	54,8 $\pm$ 2,1	51,6 $\pm$ 1,0	58,1 $\pm$ 1,7	65,4 $\pm$ 1,5

Glede na rezultate lahko rečemo, da so vsebnosti **glutaciona** pri prepihovanju s kisikom nekoliko višje (371 – 532 $\mu\text{mol/kg}$) v primerjavi z zrakom (366 – 498 $\mu\text{mol/kg}$). Najnižje vrednosti dosežemo neglede na način prepihovanja takoj po dveh urah. Pri prepihovanju s kisikom se vsebnost glutaciona s časom povečuje, najvišjo vsebnost pa dosežemo 120 ur po prepihovanju. Pri prepihovanju s sintetičnim zrakom pa se vsebnosti glutaciona s časom povečujejo, najvišjo vsebnost dosežemo prav tako po 120-ih urah.

Vsebnosti **skupnih antioksidantov določenih s F.C. reagentom** so nekoliko višje pri prepihovanju s kisikom (54 – 69 mg/100 g) v primerjavi z zrakom (54 – 65 mg/100 g). Neglede na način prepihovanja imamo najnižjo vsebnost skupnih antioksidantov 24 ur po rezanju, nato pa se s časom povečuje in najvišjo vsebnost doseže 120 ur po rezanju.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Zaradi hitrega in sodobnega načina življenja je vse večje povpraševanje po »fresh cut« izdelkih, kamor spada tudi sveže narezano zelje. Poraba tega izdelka strmo narašča (Omahen, 2009), zato je potrebno med proizvodnjo zagotoviti čim manjšo izgubo biološko aktivnih molekul (glukozinolatov, antioksidantov).

Številni avtorji so že v preteklosti opazili, da se vsebnost vitamina C ob mehanskih poškodbah in skladiščenju spreminja (Hussein in sod., 2000; Leja in sod., 2001; Haase in Weber, 2003). Temperatura in čas skladiščenja vplivata na zmanjšanje vsebnosti vitamina C v živilih (Burdurlu in sod., 2006; Sablani in sod., 2006). Prav tako se vsebnost sekundarnih metabolitov (glukozinolatov) v zelju pri procesih pakiranja in skladiščenja intenzivno spreminja (Verkerk in sod., 2002).

Atmosfera z veliko koncentracijo kisika lahko pospeši, nima vpliva ali pa celo zavre intenziteto dihanja, odvisno od vrste zelenjave ali sadja, stopnje zrelosti, koncentracije kisika, časa, temperature skladiščenja in drugih parametrov (Kader in Ben-Yehoshua, 2000). Zato so splošni zaključki o pozitivnem ali negativnem delovanju kisika nemogoči oz. odvisni od številnih parametrov, predvsem od vrste sadja ali zelenjave.

Ker je narezano zelje vrsta zelenjave, katere priprava zahteva veliko stopnjo mehanske poškodbe, smo se odločili preveriti, kako stopnja mehanske poškodbe (debelina rezin 2 mm in 0,5 mm), temperatura (8 °C in 20 °C), sestava atmosfere (atmosfera z veliko koncentracijo kisika (100 %) ali atmosfera s sintetičnim zrakom) in čas skladiščenja vpliva na vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju. Poleg glukozinolatov, ki smo jim posvetili največ pozornosti, smo opravili še analize askorbinske kisline, skupnega vitamina C, vsebnost glutaciona in skupnih antioksidantov v narezanem zelju.

5.1.1 Glukozinolati

Raziskave dokazujejo, da imajo glukozinolati oz. njihovi razgradni produkti v humani prehrani vlogo antikancerogenih snovi, ki zavirajo razvoj rakastih obolenj (Thomson in Green, 2003; Moreno in sod., 2006).

Belo zelje je pomemben vir glukozinolatov. Rezultati naših raziskav so dokazali vsebnost skupnih glukozinolatov v belem zelju (Galaxy) $94 \pm 28 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ sveže vrtnine, kar je primerljivo s podatki iz literature. Verkerk (2002) navaja velike razlike med vsebnostjo skupnih glukozinolatov v belem zelju (79 – 603 $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$ sveže vrtnine). Kusznierevicz in sod. (2008) poročajo o približno 30-80 $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$ sveže vrtnine skupnih glukozinolatov v belem zelju, Volden in sod. (2008a) pa o 340 $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$ sveže vrtnine.

Koncentracija in profil posameznih glukozinolatov ter koncentracija skupnih glukozinolatov lahko močno varira med sortami rastlin iste vrste tudi glede na fazo rasti in del rastline (Bellostas in sod., 2007; Padilla in sod., 2007). Kusznierevicz in sod. (2008) so analizirali belo zelje iz štirih evropskih držav (nekateri vzorci so bili obrani tudi v različnih

letnih časih) in določali 14 različnih glukozinolatov. Vsebnost skupnih glukozinolatov v posameznih vzorcih se je razlikovala za več kot dvakrat. Volden in sod. (2008a) so določali samo 8 različnih glukozinolatov v kultivarju Bartolo, vendar je bila vsebnost skupnih glukozinolatov tudi več kot desetkrat večja kot pri Kusznierevicz in sod. (2008), ki so določili 14 različnih glukozinolatov. Pri naših analizah smo določali 10 različnih glukozinolatov v kultivarju Galaxy in dokazali približno trikrat nižjo vsebnost skupnih glukozinolatov kot Volden in sod. (2008a). Vzroki za velike razlike v vsebnosti skupnih glukozinolatov v naših vzorcih zelja Galaxy bi lahko pripisali biodiverziteti. Jones in sod. (2006) navajajo več primerov zmanjševanja vsebnosti skupnih glukozinolatov zaradi skladiščenja.

Pri naših analizah smo ugotovili, da k skupni vsebnosti glukozinolatov največ prispevajo trije glukozinolati: glukobrazicin (približno 55 %), neoglukobrazicin (približno 9 %) in sinigrin (približno 12 %). Kusznierevicz in sod. (2008) tudi poročajo o pomembni vlogi glukobrazicina in sinigrina (med 30 – 70 % vseh skupnih glukozinolatov). Prav tako so Rungapamestry in sod. (2006) v zelju kultivarja Marathon dokazali največ sinigrina, nato glukobrazicina in šele zatem glukioberina in progoitrina. Zasledila pa sem, da je bilo v raziskavah, ki so jih opravljali Volden in sod. (2008) največ glukioberina (26 %), pred glukobrazicinom (22 %), tretji je bil progoitrin (18 %), četrti sinigrin (16 %), neoglukobrazicin pa je predstavljal samo 1 % skupnih glukozinolatov. Lahko povzamem, da so rezultati naših analiz primerljivi z literaturnimi podatki, ter potrjujejo trditev, da je v posamezni rastlini v večjih koncentracijah prisotnih le nekaj glukozinolatov, ostali pa so v sledovih (Kusznierevicz in sod., 2008).

V literaturi je zelo malo podatkov o vplivu intenzitete mehanske poškodbe, temperature in sestave plinske faze na spremembe vsebnosti skupnih in posameznih glukozinolatov v narezani zelenjavi oz. zelju. Pri rezanju zelja pride do porušanja strukture celic, kar rezultira mešanje med mirozinazo in glukozinolati ter takojšnjo hidrolizo (Verkerk in sod., 2001; Verkerk in Dekker, 2008). Križnice imajo po procesiranju značilno aromo, ki je posledica razgradnih produktov glukozinolatov (Verkerk, 2002). Nekateri avtorji (Song in Thornalley (2007)) poročajo o padcu vsebnosti skupnih in posameznih glukozinolatov (podatki za sinigrin in glukorafanin) v narezanem brokoliju, brstičnem ohrovtu, cvetači. Po šestih urah je razpadlo od 60 – 75 % vseh glukozinolatov. Pri manjši stopnji mehanske poškodbe, kjer je bil padec vsebnosti skupnih glukozinolatov manjši od 10 %. Verkerk in sod. (2001) so zaznali značilen porast vsebnosti skupnih indolnih glukozinolatov (glukobrazicina, 4-hidroksibrazicina, neoglukobrazicina in 4-metoksiglukobrazicina) po 23-ih urah za trikrat, po 48-ih urah za petkrat. Zelje so narezali na približno 1 cm² velike koščke in skladiščili pri sobni temperaturi 48 ur. Pri alifatskih glukozinolatih pa ves čas poskusa niso zaznali značilnih sprememb, prav tako pri homogenizaciji (močnejša mehanska poškodba) niso opazili nikakršnih povečanj, pač pa zmanjšanje vsebnosti vseh glukozinolatov po 24-ih urah za 70 %.

5.1.1.1 Vpliv debeline rezanja, temperature in časa skladiščemja na spremembe vsebnosti glukozinolatov v narezanem zelju

V prvem delu našega poskusa smo zelje narezali na dve debelini (2 mm in 0,5 mm) ter ga skladiščili pri 8 in 20 °C 27 ur. Rezultati so pokazali, da debelina rezanja vpliva na vsebnost skupnih glukozinolatov. V zelju rezanem na debelino 0,5 mm je bilo za 24 % manj glukozinolatov (73,5 µmol/100 g) kot v zelju rezanem na debelino 2 mm (97 µmol/100 g). To se ujema z literaturnimi podatki, saj so se vsebnosti pri močnejši mehanski obdelavi bolj zmanjšale (Verkerk in sod., 2001; Song in Thornalley, 2007).

Pri drobno narezanem zelju (0,5 mm) je temperatura vplivala na spremembe vsebnosti skupnih glukozinolatov. Vsebnost skupnih glukozinolatov je bila pri 8 °C večja (64–95 µmol/100 g) kot pri 20 °C (44–89 µmol/100 g). Podatkov o vplivu temperature v narezani zelenjavi v literaturi nisem zasledila, razen za skladiščenje nepoškodovane zelenjave, kjer velja pravilo, da je nižja temperatura in večja vlaga primernejša za ohranjanje glukozinolatov (Jones in sod., 2006; Winkler in sod., 2007).

Moje analize so pokazale, da so glukobrazicin, neoglukobrazicin in sinigrin tisti glukozinolati, ki so najmočnejše zastopani in v največji meri zato tudi prispevajo k spremembam vsebnosti skupnih glukozinolatov v narezanem zelju. Glukobrazicin je dosegel največjo vsebnost 2 uri po rezanju, vsebnost neoglukobrazicina je takoj po rezanju začela padati, sinigrin pa se je spreminjal v odvisnosti od temperature (po 27-ih urah je pri 8 °C narasla, pri 20 °C pa padla). Glukobrazicin in sinigrin dosežeta 27 ur po rezanju pri temperaturi 8 °C za približno 40 % večjo vrednost kot na začetku. Naši rezultati se skladajo z literaturnimi podatki Verkerka in sod. (2001), ki pravijo, da na spremembo vsebnosti skupnih glukozinolatov najbolj vplivajo indolni glukozinolati (glukobrazicin).

5.1.1.2 Vpliv sestave plinske faze na spremembe vsebnosti glukozinolatov v narezanem zelju

V drugem delu poskusa smo narezano zelje na debelino 0,75 mm, 5 dni, izpostavljali različni atmosferi (normalni atmosferi in 100 % kisiku). Podatkov o vplivu atmosfere z veliko koncentracijo kisika na vsebnost glukozinolatov v narezani ali celi zelenjavi nisem zasledila. V našem poskusu smo ugotovili, da se vsebnost glukozinolatov v narezanem zelju spreminja s časom po rezanju, vendar neodvisno od atmosfere. Torej lahko rečemo, da ni razlik med normalno atmosfero in 100 % kisikom pri vplivu vsebnosti glukozinolatov v narezanem zelju.

5.1.2 L-askorbinska kislina in skupni vitamin C v narezanem zelju

Na zmanjšanje vsebnosti vitamina C vplivajo različni dejavniki: čas in temperatura skladiščenja, vlaga med skladiščenjem, mehanske poškodbe, temperature, CO₂ (Burdurlu in sod., 2006; Sablani in sod., 2006). Askorbinska kislina je med najpomembnejšimi reducenti v rastlinskih celicah in v kombinaciji z glutationom in fenolnimi spojinami predstavlja zelo pomembno zaščito rastlinskih celic pred stresom in oksidativnimi poškodbami (Mittler, 2002). Različni avtorji so dokazali, da mehanske poškodbe pri

pripravi narezanega sadja in zelenjave povzročijo znižanje vsebnosti askorbinske kisline (Lee in Kader, 2000; Gil in sod., 2006; Reyes, 2007). DHA naj bi predstavljala manj kot 10 % vitamina C v sveži zelenjavi (Podsėdek, 2007). Zaradi procesiranja se lahko vsebnost DHA v sadju in zelenjavi poveča (Davey in sod., 2000; Tudela in sod., 2002).

Požrl (2001) poroča o minimalnih spremembah v vsebnosti L-askorbinske kisline med skladiščenjem narezanega zelja v embalažnih enotah z različno začetno koncentracijo kisika. Ručmanova (2008) je opazila le majhne spremembe v vsebnosti L-AK po sedmih dneh skladiščenja, Rener (2006), pa je ugotovil večje povečanje, v primeru, ko je bilo zelje prepihovano s kontrolirano atmosfero zraka oz. 100 % kisikom, kjer so po treh dneh določili približno 30 % povečanje vsebnosti L-AK.

Reyes in sod. (2007) so določili približno 35 mg askorbinske kisline/100 g svežega belega zelja, Podsėdek (2007) pa poroča o vrednostih askorbinske kisline med 18 in 47 mg/100 g sveže vrtnine. Požrl (2009) in Rener (2006) navajata vsebnost vitamina C v kultivarju zelja Galaxy približno 46 mg/100 g sveže vrtnine. Naše analize so pokazale vsebnost skupnega vitamina C pri 8 °C približno 27 mg/100 g, pri 20 °C pa približno 40 mg /100 g sveže vrtnine, kar se ne ujema z literaturnimi podatki.

V literaturi podatki navajajo, da se vsebnost L-AK spreminja glede na stopnjo mehanske poškodbe, največ jo je v grobo narezanem zelju, manj v srednjem in najmanj v drobno narezanem zelju (Gil in sod., 2006). Požrl (2009) navaja, da je vsebnost L-AK odvisna od intenzitete mehanske poškodbe, najmanj (29 mg/100 g) jo je v drobno narezanem, več (39 mg/100 g) v srednje in največ (42 mg/100 g) v grobo narezanem zelju.

Naši rezultati odstopajo v primerjavi z literaturnimi podatki, zaradi velike DHA in majhne vsebnosti skupne askorbinske kisline. Odstopanje je lahko posledica nekaj tedenskega shranjevanja vzorcev na (-20 °C), kjer je lahko prišlo do oksidacije ali pa, ker smo pri analizah uporabili 0,3 % TFA (namesto MFK), kateri nismo preverili obstojnosti. Tudi Wechtersbach (2005) navaja v diplomu, da je smiselno analize za določitev L-AK opraviti v čim krajšem času po homogenizaciji, saj je L-AK zelo nestabilna.

5.1.3 Glutation in skupni antioksidanti v narezanem zelju

Sprememba koncentracije glutaciona v različnih rastlinskih tkivih zaradi stresnih dejavnikov je lahko tudi posledica transporta ali biosinteze. Njegova koncentracija v rastlinskih celicah je 1–5 mM (Noctor in sod., 2002). Stresni odgovor zaradi mehanskega stresa je odvisen od vrste rastlinskega tkiva ter od začetne vsebnosti vitamina C in fenolnih snovi (Reyes in sod., 2007). Askorbinska kislina naj bi v kombinaciji z glutationom in fenolnimi spojinami predstavlja zaščito rastlinskih celic.

5.1.3.1 Vpliv debeline rezanja, temperature in časa skladiščenja na spremembe vsebnosti reducirane oblike glutaciona in skupnih antioksidantov v narezanem zelju

Enako kot pri glukozinolatih in askorbinski kislini smo v prvem delu našega poskusa zelje narezali na dve debelini (2 mm in 0,5 mm) ter ga skladiščili pri 8 in 20 °C 27 ur. Spremembe vsebnosti reducirane oblike glutaciona in skupnih antioksidantov kažejo na

spreminjanje in intenzivnejši odziv stresnega dogajanja v rastlinskem tkivu saj prikazujejo povečanje glutaciona in skupnih antioksidantov po določenem času (po 27-ih urah).

Na vsebnost glutaciona vpliva tudi temperatura, višje vsebnosti dosežemo pri 8 °C. Pri debelini rezanja 0,5 mm se gibljejo vsebnosti med 335-425 µmol/kg, pri 2 mm pa so med 418-477 µmol/kg. Pri 20 °C pa so te vsebnosti za približno 20-30 % nižje.

Pri skupnih antioksidantih pa so vsebnosti odvisne od debeline rezanja, nižje so pri debelini 0,5 mm (48-54 mg/100 g) za približno 10 % v primerjavi z debelino 2 mm (51-58 mg/100 g), neodvisno od temperature. Požrl (2009) je ugotovil, da lahko povečanje vsebnosti skupnih antioksidantov pripišemo predvsem povečanju vsebnosti glutaciona.

5.1.3.2 Vpliv sestave plinske faze na spremembe vsebnosti reducirane oblike glutaciona in skupnih antioksidantov v narezanem zelju

Enako kot pri glukozinolatih in askorbinski kislini smo v drugem delu poskusa narezano zelje na debelino 0,75 mm, 5 dni, izpostavljali različni atmosferi (normalni atmosferi in 100 % kisiku).

V narezanem zelju, ki smo ga prepihovali s kisikom smo določili večje vsebnosti glutaciona (371-532 µmol/kg) v primerjavi z zrakom (366-497 µmol/kg), prav tako smo dobili višje vsebnosti skupnih antioksidantov pri prepihovanju s kisikom (54-69 mg/100 g oz. 54-65 mg/100 g pri zraku).

Lahko rečemo, da se je vsebnost glutaciona po 120-ih urah prepihovanja s kisikom povečala za 43 %, z zrakom pa za 35 %. Pri skupnih antioksidantih pa se je pri prepihovanju s kisikom povečala za 28 %, z zrakom pa za 20 % po 120-ih urah. Sklepamo lahko, da povečani vsebnosti glutaciona in skupnih antioksidantov v narezanem zelju pri prepihovanju s kisikom, kažejo na stresni odziv. Rezultati so primerljivi z rezultati diplomske naloge Ručmanove (2008).

5.2 SKLEPI

Na osnovi opravljenih analiz lahko povzamemo naslednje sklepe:

- V zelju smo določili deset različnih glukozinolatov v skupni povprečni vrednosti od $94 \pm 28 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ sveže vrtnine. Prevladujejo predvsem trije: glukobrazicin ($52 \pm 21 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), neoglukobrazicin ($18 \pm 5,7 \mu\text{mol}/100$) in sinigrin ($11 \pm 7,9 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), ostali pa so zastopani v majhnih količinah.
- Debelina rezanja vpliva na vsebnost glukozinolatov. V grobo narezanem zelju je za približno 24 % več glukozinolatov (grobo ($97 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$), drobno ($73,5 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$)).
- Temperatura skladiščenja vpliva na vsebnost glukozinolatov le pri drobno narezanem zelju (8°C : $64\text{--}95 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ oz. 20°C : $44\text{--}89 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$).
- Čas vpliva na vsebnost glukozinolatov: 79 (nenarezan) □ 75 (5 min) □ 95 (30 min) □ 102 (2 h) □ 80 (27 h) $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$. K spremembam vsebnosti skupnih glukozinolatov v narezanem zelju v največji meri prispevajo: glukobrazicin, neoglukobrazicin, sinigrin, glukonasturtin.
- Vsebnost glukozinolatov se spreminja med skladiščenjem, vendar neodvisno od plina s katerim smo prepigovali: 118 (na začetku) □ 103 (2 h) □ 140 (24 h) □ 120 (72 h) □ 107 (120 h) $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$.
- Rezultati analiz L-AK in skupnega vitamina C odstopajo od primerljivih literarnih podatkov, kar je najverjetneje posledica priprave vzorca za analizo oziroma predolgega skladiščenja vzorca pred analizo.
- Vsebnosti glutaciona in skupnih antioksidantov s F.C. reagentom se značilno povečujejo s časom, najvišje vsebnosti dosežemo po 27-ih urah.
- Temperatura vpliva na vsebnosti glutaciona, ki so za 20-30 % višje pri 8°C , vsebnosti skupnih antioksidantov pa se ne spreminjajo s temperaturo, nanjo pa vpliva stopnja mehanske obdelave, približno 10 % nižje vsebnosti dosežemo pri rezanju zelja na debelino 2 mm.
- Pri prepigovanju s kisikom smo dobili višje vsebnosti glutaciona in skupnih antioksidantov (najvišje vsebnosti dosežemo po 120-ih urah) kot pri prepigovanju s zrakom.

6 POVZETEK

Zaradi hitrega in sodobnega načina življenja je vse večje povpraševanje po jedeh, ki jih je mogoče hitro in enostavno pripraviti (ready to use-pripravljeno za direktno uporabo). Poraba teh izdelkov strmo narašča, zato je potrebno med samo proizvodnjo zagotoviti čim manjšo izgubo biološko aktivnih molekul (glukozinolati, antioksidanti, vitamini). Metabolne spremembe, ki potekajo v sadju in zelenjavi vplivajo in spreminjajo sestavo, dostopnost in učinkovitost biološko aktivnih molekul. Detaljnije poznavanje sprememb različnih komponent sadja in zelenjave bi lahko dalo odgovor, ali so „fresh cut” izdelki lahko ustrezna zamenjava za sveže pripravljeno hrano.

V prvem delu poskusa smo spremljali kako debelina rezanja, temperatura in čas skladiščenja vpliva na vsebnost glukozinolatov, L-askorbinske kisline, skupnega vitamina C, reducirane oblike glutathiona in skupnih antioksidantov. Vzorce zelja smo v točno določenih časovnih intervalih homogenizirali z 0,3 % TFA v vodi in z LC/MS določili glukozinolate, s HPLC L-AK in skupni vitamin C (DHA smo reducirali s TCEP), z UV-VIS spektrofotometrom pa reducirano obliko glutathiona in skupne antioksidante.

Ugotovili smo, da je v vzorcih zelja v večjih koncentracijah prisotnih le nekaj glukozinolatov (glukobrazicin približno 55 %, neoglukobrazicin približno 19 %, sinigrin približno 12 %), ostali pa so zastopani v majhnih količinah. Vsebnost skupnih glukozinolatov v zelju je bila $94 \pm 28 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ sveže vrtnine. Rezultati so pokazali, da intenzivnost mehanske obdelave vpliva na vsebnost skupnih glukozinolatov (v zelju rezanem na debelino 0,5 mm je za 24 % manj glukozinolatov kot v zelju rezanem na debelino 2 mm). Temperatura je vplivala na vsebnost glukozinolatov le pri drobno narezanem zelju (pri 8 °C večja vsebnost). Prav tako je na vsebnost glukozinolatov vplival tudi čas, glukobrazicin je dosegel najvišjo vsebnost 2 uri po rezanju, vsebnost neoglukobrazicina je takoj po rezanju začela padati, sinigrin pa se je spreminjal v odvisnosti od temperature (po 27-ih urah je pri 8 °C narasla vsebnost pri 20 °C pa padla).

Vsebnosti L-AK in skupnega vitamina C odstopajo od primerljivih literaturnih podatkov. Najverjetneje je to posledica shranjevanja vzorcev za nekaj tednov na -20 °C pred analizo, ali pa uporaba 0,3 % TFA (namesto MFK).

Ugotovili smo, da se vsebnost glutathiona in skupnih antioksidantov povečuje po določenem času (po 27-ih urah). Vsebnosti glutathiona so za 20-30 % višje pri temperaturi 8 °C kot pri 20 °C, neglede na rezanje. Vsebnosti skupnih antioksidantov pa se ne spreminjajo s temperaturo, nanje pa vpliva stopnja mehanske obdelave, 10 % nižje vsebnosti dosežemo pri rezanju na debelino 2 mm, kot pri 0,5 mm.

V drugem delu poskusa smo pripravili atmosferi s 100 % kisikom in sintetičnim zrakom, s pomočjo katerih smo določili vpliv velikega deleža kisika in časa skladiščenja na vsebnost glukozinolatov, L-askorbinske kisline, skupnega vitamina C, reducirane oblike glutathiona in skupnih antioksidantov. Narezano zelje debeline 0,75 mm hranjeno pri 8 °C, smo skladiščili več dni in v točno določenih časovnih intervalih homogenizirali in opravili analize (enako kot pri prvem delu poskusa).

Ugotovili smo, da se s časom med prepihovanje spreminja vsebnost skupnih glukozinolatov (največ po 24-ih urah), vendar neodvisno od plina s katerim smo prepihovali vzorce.

Pri reducirani obliki glutathiona in skupnih antioksidantih smo dobili višje vsebnosti pri prepihovanju s kisikom (najvišje 120 ur po prepihovanju).

Če povzamemo dobljene rezultate, je intenziteta rezanja vplivala na vsebnost skupnih glukozinolatov, sestava plinske faze pa ne. Analize vsebnosti L-AK in skupnega vitamina C moramo opraviti takoj oziroma še isti dan, če želimo zagotoviti pravilnost rezultatov. Vsebnosti glutathiona in skupnih antioksidantov so bile višje pri prepihovanju s kisikom, prav tako se tudi vsebnosti s časom spreminjajo (pri glutathionu se spreminjajo tudi s temperaturo, pri skupnih antioksidantih pa ne).

7 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi. Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32
- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmacevtski vestnik, 48; 573-589
- Allende A., Jacxsens L., Devlieghere F., Debevere J., Artes F. 2002. Effect of superatmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salads. Journal of Food Protection, 65, 10: 1565-1573
- 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
- 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
- Andréasson E., Bolt Jørgensen L., Höglund A.-S., Rask L., Meijer J. 2001. Different myrosinase and idioblast distribution in *Arabidopsis* and *Brassica napus*. Plant Physiology, 127: 1750-1763
- Barata-Soares A. D., Gomez M. L. P. A., de Mesquita C. H., Lajolo F. M. 2004. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, 16, 3:147-154
- Basu T. K., Dickerson J. W. T. 1996. Vitamins in human health and disease. Wallingford, CAB International: 125-146
- Bellostas N., Kachlicki P., Sørensen J. C., Sørensen H. 2007. Glucosinolate profiling of seeds and sprouts of *B. oleracea* varieties used for food. Scientia Horticulturae, 114: 234-242
- Blakistone B.A. 1998. Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods. 2nd ed. Washington, Blackie Academic Professional: 1-13
- Blažević I., Mastelić J.. 2009. Glucosinolate degradation products and other bound and free volatiles in the leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.). Food Chemistry, 113: 96-102

- Block G., Patterson B., Subar A. 1992. Fruits and vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Journal of Food Science and Nutrition*, 18: 1-29
- Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 394-394, 634-634.
- 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
- Chen S., Andreasson E. 2001. Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39: 743-758
- Cheng D.-L., Hashimoto K., Uda Y.. 2004. *In vitro* digestion of sinigrin and glucotropaeolin by single strains of *Bifidobacterium* and identification of the digestive products. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 351-357
- Chu Y. F., Sun J., Wu X., Liu R. H. 2002. Antioxidant and anti-proliferative activities of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6910-6916
- Cieřlik E., Teresa Leszczyńska T., Filipiak-Florkiewicz A., Sikora E., Pisulewski P. M. 2007. Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables. *Food Chemistry*, 105: 976-981
- Costa V., Moradas-Ferreira P. 2001. Oxidative stress and signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae*: insights into ageing, apoptosis and diseases. *Molecular Aspect of Medicine*, 22, 4-5: 217-246
- Creissen G., Firmon J., Fryer M., Kular B., Leyland N., Reynolds H., Pastori G., Wellburn F., Baker N., Wellburn A., Mullineaux P. 1999. Elevated glutathione biosynthetic capacity in the chloroplasts of transgenic tobacco plants paradoxically causes increased oxidative stress. *Plant Cell*, 11: 1277-1291
- Černe M. 1998. Kapusnice. Ljubljana, Kmečki glas: 1-173
- Davey M. W., Van Montagu M., Inze D., Sanmartin M., Kanellis A., Smirnoff N., Benzie I. J. J., Strain J. J., Favell D., Fletche J. 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 7: 825-860
- Day B. P. F. 2003. Novel MAP applications for fresh-prepared produce. V: Novel food packaging techniques. Ahvenainen R. (ed.). Cambridge, Woodhead Publishing Limited: 187-207
- Dekker M., Verkerk R., Jongen W. M. F. 2000. Predictive modelling of health aspects in the food production chain: a case study on glucosinolates in cabbage. *Trends in Food Science & Technology*, 11: 174-181

- 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
- Fahey J. W., Zalcmann A. T., Talalay P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56: 5-51
- 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, CRC Press: 406-417
- Finc M. 2008. Spremembe sestave atmosfere v embalaži pakiranega, sveže narezanega zelja. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 56 str.
- 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., Aguayo E., Kader A. A. 2006. Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4284-4296
- Gimsing A. L., Sørensen J. C., Strobel B. W., Bruun Hansen H. C. 2007. Adsorption of glucosinolates to metal oxides, clay minerals and humic acid. *Applied Clay Science*, 35: 212-217
- 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
- Grant C. M., Daves I. W. 1996. Synthesis and role of glutathione in protection against oxidative stress in yeast. *Redox Report*, 2: 223-229
- Grant C. M. 2001. Role of the glutathione/glutaredoxin and thioredoxin system in yeast growth and response to stress conditions. *Molecular Microbiology*, 39, 3: 533-541
- Guyton C. A. 1987. *Medicinska fiziologija*. 9. izd. Beograd, 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
- 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

- Hribar J. Simčič M. 2000. Antioksidanti v sadju in vrtninah. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi. Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 151-157
- Hribar J. 2002. Biološko kisanje zelja. Sodobno kmetijstvo, 35, 10: 406-407
- 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
- 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
- Kader A. A. 1980. Prevention of ripening in fruits by use of controlled atmospheres. Food Technology, 34: 51-54
- Kader A. A. 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. Food Technology, 40, 5: 99-100, 102-104
- 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
- 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: 1-13
- Kaur C., Kapoor H. C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal of Food Science & Technology, 37, 2: 153-161
- Kays S.J. 1991. Postharvest physiology of perishable plant products. New York, AVI book Van Nostrand Reinhold: 532 str.
- Kliebenstein D. J., Kroymann J., Mitchell-Olds T. 2005. The glucosinolate-myrosinase system in an ecological and evolutionary context. Current Opinion in Plant Biology, 8: 264-271
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi. Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21
- Kueller V. 1999. Vitamins: Ascorbic acid. V: Wiley encyclopedia of food science and technology. Vol. 4. 2nd ed. Francis F. J. (ed.). New York, John Wiley & Sons: 2449-2467

- Kusznierewicz B., Bartoszek A., Wolska L., Drzewiecki J., Gorinstein S., Namieśnik J. 2008. Partial characterization of white cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata* F. *alba*) from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *LWT-Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 41: 1-9
- Kurilich A. C. Tsau G. J., Brown A., Howard L., Klein B. P., Jeffery E. H., Kushad M., Wallig M. A., Juvik J. A. 1999. Carotene, tocopherol and ascorbate contents in subspecies of *Brassica oleracea*. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 47, 4: 1576-1581
- 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 I. *Packaging Technology and Science*, 8: 315-331
- Lee S. K., Kader A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 3: 207-220
- Lehninger A.L. Nelson D.L., Cox M.M. 1993. *Principles of biochemistry*. 2nd ed. New York, Worth Publishers, Inc.: 425-567
- Lehninger D. L., Cox M. M. 2005. *Principles of biochemistry*. 4th ed. New York, W. H. Freeman and Company: 360-860
- Li X., Kushad M. M. 2004. Correlation of glucosinolate content to myrosinase activity in horseradish (*Armoracia rusticana*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6950-6955
- Lipton W. J., Mackey B. E. 1987. Physiological and quality responses of Brussels sprouts to storage in controlled atmospheres. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 112: 491-496
- Lykkesfeldt J., Loft S., Poulsen H. E. 1995. Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in plasma by high-performance liquid chromatography with coulometric detection – Are they reliable biomarkers of oxidative stress? *Analytical Biochemistry*, 229, 2: 329-335
- Martínez-Sánchez A., Allende A., Bennett R. N., Ferreres F., Gil M. I. 2006. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. *Postharvest Biology and Technology*, 42: 86-97
- Matusheski N. V., Juvik J. A., Jeffery E. H. 2004. Heating decreases epithiospecifier protein activity and increases sulforaphane formation in broccoli. *Phytochemistry*, 65: 1273-1281

- McCarthy M. A., Matthews R. H. 1994. Nutritional quality of fruits and vegetables subject to minimal processes. V: Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Wiley R. C. (ed.). London, Chapman & Hall: 313-326
- Meister A., Anderson M. E. 1983. Glutathione. Annual Review of Biochemistry, 52: 711-760
- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7, 9: 405-410
- Moradas-Ferreira P., Costa V., Piper P., Mager W. 1996. The molecular defences against reactive oxygen species in yeast. Molecular Microbiology, 19, 4: 651-658
- Moreno D.A., Carvajal M., López-Berenguer C., García-Viguera C. 2006. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41: 1508-1522
- 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
- Noctor G., Leonardo G., Vanacker H., Foyer C. H. 2002. Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signaling. Journal of Experimental Botany, 53, 372:1283-1304
- Oerlemans K., Barrett D. M., Bosch Suades C., Verkerk R., Dekker M. 2006. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. Food Chemistry, 95: 19-29
- Omahen M. 2009. "Statistični podatki o prodaji sveže narezane in pakirane zelenjave". Ljubljana, Mercator d.d. (osebni vir, marec 2009)
- Oms-Oliu G., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O. 2008d. Physiological and microbiological changes in fresh-cut pears stored in high oxygen active packages compared with low oxygen active and passive modified atmosphere packaging. Postharvest Biology and Technology, 48: 295-301
- Osvald J., Kogoj-Osvald M. 1994. Pridelovanje zelenjave na vrtu. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 241 str.
- Osvald J., Kogoj-Osvald M. 2003. Integrirano pridelovanje zelenjave. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 295 str.
- Padilla G., Cartea M. E., Velasco P., de Haro A., Ordás A. 2007. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa*. Phytochemistry, 68: 536-545

- Penninckx M. J. 2000. A short review on the role of glutathione in the response of yeast to nutritional, environmental and oxidative stresses. *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 9, 10: 737-742
- Plestenjak A., Požrl T., Hribar J., Unuk T., Vidrih R. 2008. Regulation of metabolic changes in shredded cabbage by modified atmosphere packaging. *Food Technology and Biotechnology*, 46, 4: 427-433
- Podsędek A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40: 1-11
- Požrl T. 2001. Regulacija metabolnih sprememb zelja s pakiranjem v modificirano atmosfero. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 93 str.
- Požrl T. 2009. Vpliv kisikove atmosfere na metabolične spremembe sveže narezanega pakiranega zelja. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 32-32, 87-102
- Prior R.L., Cao G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications. *Hort Science*, 35: 588-592
- Raspor P., Kovač B., Berglez D. 2000. Bioprocesi pridobivanja antioksidantov. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi. Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 53-65
- Rener M. 2006. Vpliv rezanja in kontrolirane atmosfere na vsebnost vitamina C v zelju. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 56-62
- Reyes L. F., Villarreal J. E., Cisneros-Zevallos L. 2007. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chemistry*, 101: 1254-1262
- Robertson A. A. B., Batting N. P. 1999. Synthesis of deuterium labelled desulfoglucosinolates as internal standards for LC-MS analysis. *Tetrahedron*, 55: 13269-13284
- Robertson G. L. 2006. *Food packaging: Principles and practice*. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press: 550 str.
- Ručman B. 2008. Spremembe vsebnosti antioksidantov v pakiranem, sveže narezanem zelju. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 36-40

- Rungapamestry V., Duncan A. J., Fuller Z., Ratcliffe B. 2006. Changes in glucosinolate concentrations, myrosinase activity, and production of metabolites of glucosinolates in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) cooked for different durations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7628-7634
- 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: 54-54
- Sarić M., Krstić B., Stanković Ž. 1987. *Fiziologija biljaka*. Beograd, Naučna knjiga: 538 str.
- Seigler D.S. 1998. *Plant secondary metabolism*. Boston, Kluwer Academic Publishers: 300-311
- Singh J., Upadhyay A.K., Bahadur A., Singh B., Singh K.P., Rai M. 2006. Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*). *Scientia Horticulturae*, 108: 233-237
- Singleton V. L., Rossi J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 3: 144-158
- Song L., Thornalley P. J. 2007. Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of brassica vegetables. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 216-224
- Stegmann H. B., Schuler P., Ruff H. J., Knollmüller M., Loreth W. 1991. Ascorbic acid as an indicator of damage to forest. A correlation with air quality. *Zeitschrift für Naturforschung*, 46: 67-70
- Taiz L., Zeiger E. 2002. *Plant physiology*. 3rd ed. Sunderland, Sinauer Associates, Inc. Publishers: 690 str.
- Thomson C. A., Green T. L. 2003. Cruciferous vegetables and cancer prevention. V: *Functional foods and nutraceuticals in cancer prevention*. Watson R. R. (ed.). Ames, Iowa State Press: 263-286
- Tolonen M., Taipale M., Viander B., Pihlava J.-M., Korhonen H., Ryhänen E.-L. 2002. Plant-derived biomolecules in fermented cabbage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6798-6803
- Travers-Martin N., Kuhlmann F., Müller C. 2008. Revised determination of free and complexed myrosinase activities in plant extracts. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46: 506-516

- Tudela J. A., Hernández J. A., Gil M. A., Espín J. C. 2003. L-galactono- γ -lactone dehydrogenase activity and vitamin C content in fresh-cut potatoes stored under controlled atmospheres. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4296-4302
- 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
- Van Duyn M.A.S., Pivonka E. 2000. Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *Journal of the American Dietetic Association*, 100, 2: 1511-1521
- Vankerschaver K., Willocx F., Smout C., Hendrickx M., Tobback P. 1996. Mathematical modeling of temperature and gas composition effects on visual quality changes of cut endive. *Journal of Food Science*, 61, 3: 613-619, 631
- Vanstreels E., Lammertyn J., Verlinden B. E., Gillis N., Schenk A., Nicolai B. M. 2002. Red discoloration of chicory under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 26, 3: 313-322
- Verkerk R. 2002. Evaluation of glucosinolate level throughout the production chain of *Brassica* vegetables. Towards a novel predictive modelling approach. PhD Thesis. Wageningen, Agricultural University, Department of Food Technology: 136-136
- Verkerk R., Dekker M. 2008. Glucosinolates. V: Bioactive compounds in foods. Gilbert J., Šenyuva H. Z. (eds.). Oxford, Blackwell Publishing: 31-51
- Volden J., Borge G. I. A., Bengtsson G. B., Hansen M., Thygesen I. E., Wicklund T. 2008b. Effect of thermal treatment on glucosinolates and antioxidant-related parameters in red cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata* F. *rubra*). *Food Chemistry*, 109: 595-605
- Volden J., Wicklund T., Verkerk R., Dekker M. 2008a. Kinetics of changes in glucosinolate concentrations during long-term cooking of white cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata* F. *alba*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2068-2073
- Volden J., Borge G. I. A., Hansen M., Wicklund T., Bengtsson G. B. 2009. Processing (blanching, boiling, steaming) effects on the content of glucosinolates and antioxidant-related parameters in cauliflower (*Brassica oleracea* L. ssp. *botrytis*). *LWT - Food Science and Technology*, 42: 63-73
- 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
- Wechtersbach L. 2005. Stabilnost polarnih in nepolarnih antioksidantov v kompleksnem matriksu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 49-54

- Wechtersbach L., Cigić B. 2007. Reduction of dehydroascorbic acid at low pH. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70, 5: 767-772
- Winkler S., Faragher J., Franz P., Imsic M., Jones R. 2007. Glucoraphanin and flavonoid levels remain stable during simulated transport and marketing of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) heads. *Postharvest Biology and Technology*, 43: 89-94
- Yang S.F. 1981. Biosynthesis of ethylene and its regulation. V: Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetables. Friend J., Rhodes M.J.C. (eds.). London, Academic Press: 89-106
- Zavrtanik M. 1998. Metabolne spremembe sadja v stresnih pogojih. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 122 str.
- Zenk M. H., Juenger M. 2007. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68: 2757-2772

ZAHVALA

Na tem mestu bi se rada zahvalila vsem, ki ste mi pomagali pri uspešnem zaključku študija. Za vso strokovno pomoč, vodenje, koristne nasvete, potrpežljivost pri izdelavi diplomskega dela mentorju doc. dr. Tomažu Požrlu.

Posebna zahvala gre tudi somentorju doc. dr. Blažu Cigiću, za vso strokovno pomoč pri analizah in interpretaciji rezultatov.

Prav tako se zahvaljujem dr. Tomažu Polaku za vso pomoč.

Recenzentu prof. dr. Marjanu Simčiču za strokovni pregled diplomske naloge pri zaključnem oblikovanju.

Zahvala gre tudi celotenemu kolektivu Katedre za tehnologije rastlinskih živil, ki mi je bil s prijaznim in zelo prijetnim delovnim vzdušjem in strokovnostjo v veliko pomoč. Hvala Sonja za vso spodbudo.

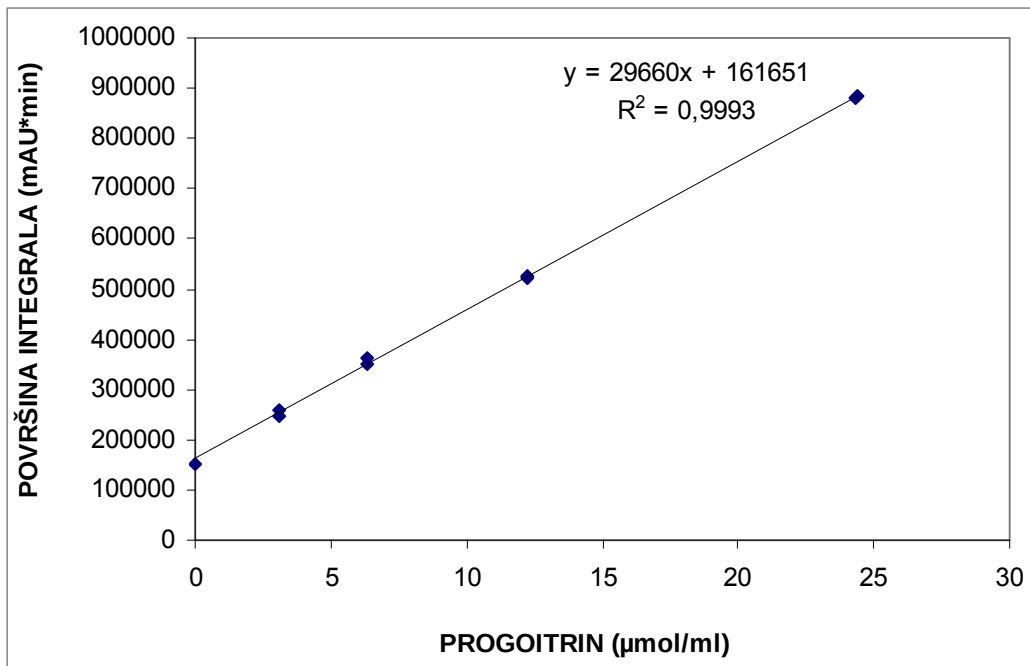
Prav tako mi bo v prijetnem spominu ostala knjižnica Oddelka za živilstvo, zaradi knjižničarke Barbare Slemenik univ. dipl. bibl., njene strokovnosti pri iskanju literature ter Ivici Hočevar, univ. dipl. inž. in Lini Burkan, univ. dipl. inž.

Poleg omenjenih so me še drugi s svojo prisotnostjo in vzpodbudo pripravili do tega, da končno že zaključim študij. Hvala mami in Boštjanu, ki sta skozi vsa študijska leta zaupala vame in v moje sposobnosti, možu Markotu za priganjanje, pomoč in oporo, hčerki Tajdi za prespane noči.

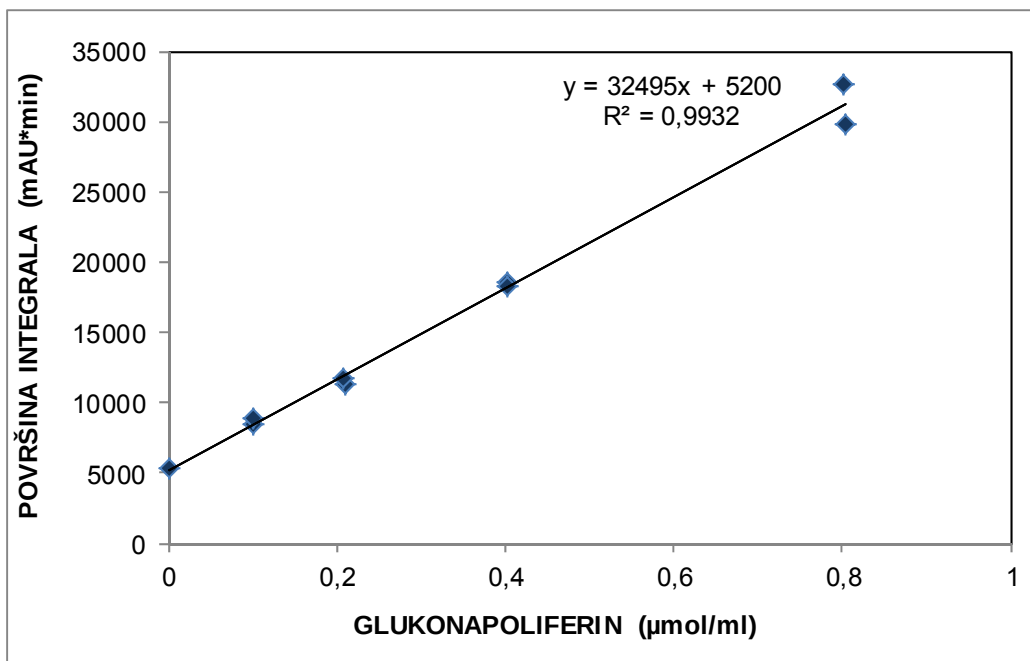
In nenazadnje se zahvaljujem še vsem svojim študijskim prijateljicam in prijateljem (Gaji, Markotu, Tomažu, Mirjanu in drugim) za sproščujoče pogovore v času študija in praktičnega dela diplomskega dela ter Katji za pomoč pri fotokopiranju (pa tudi za vse kavice, ki sva jih skupaj popili).

Hvala vsem, ki ste me podpirali in mi stali ob strani, zaradi sebe in vas sem danes to kar sem!

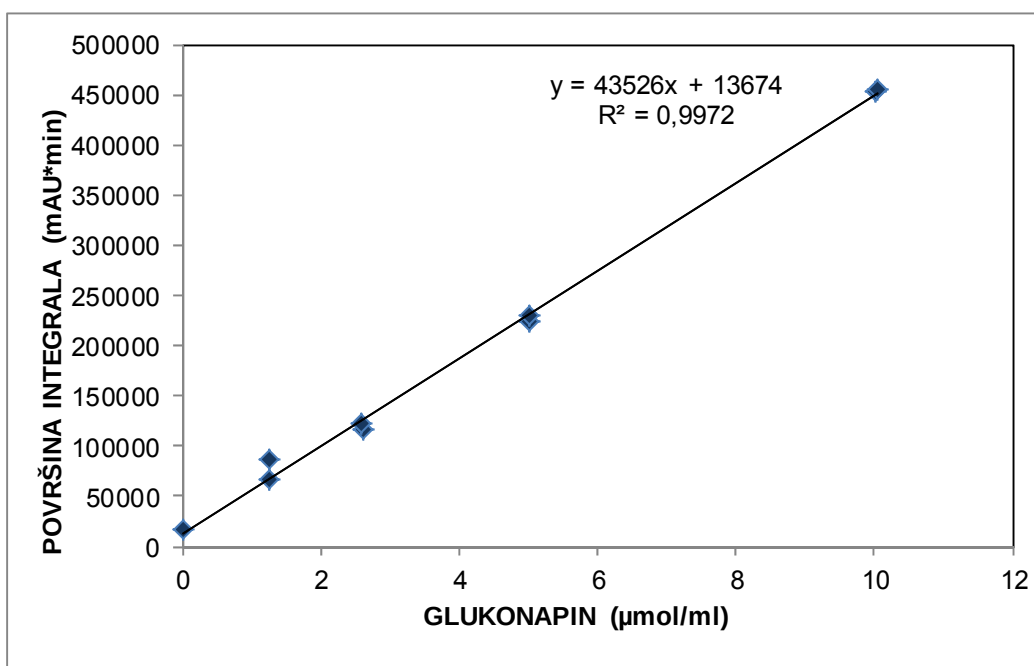
PRILOGE



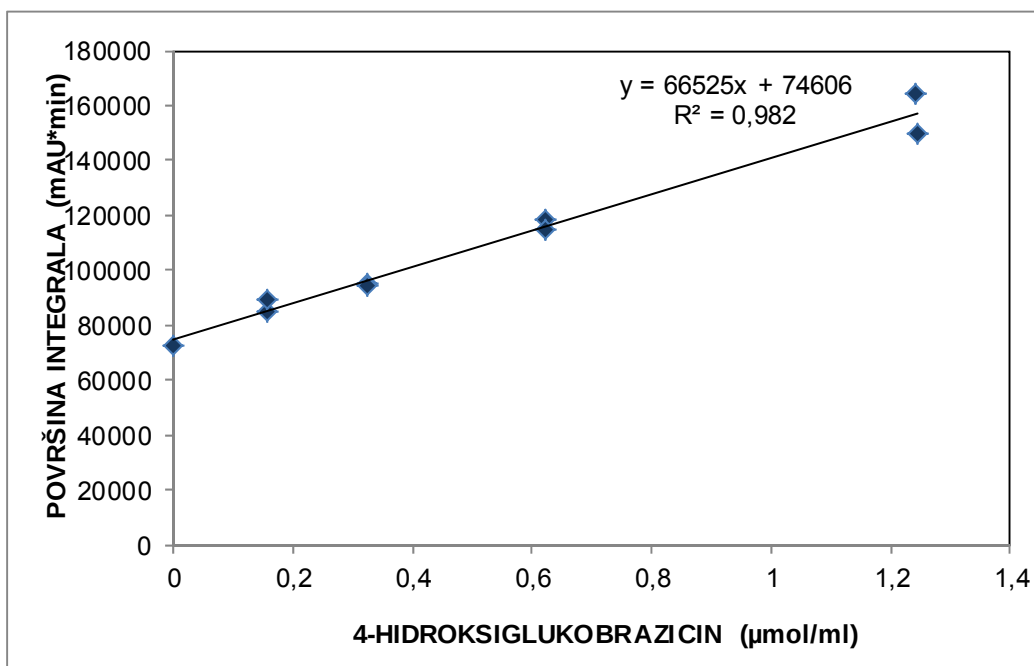
Priloga A: Umeritvena krivulja za progoitrin.



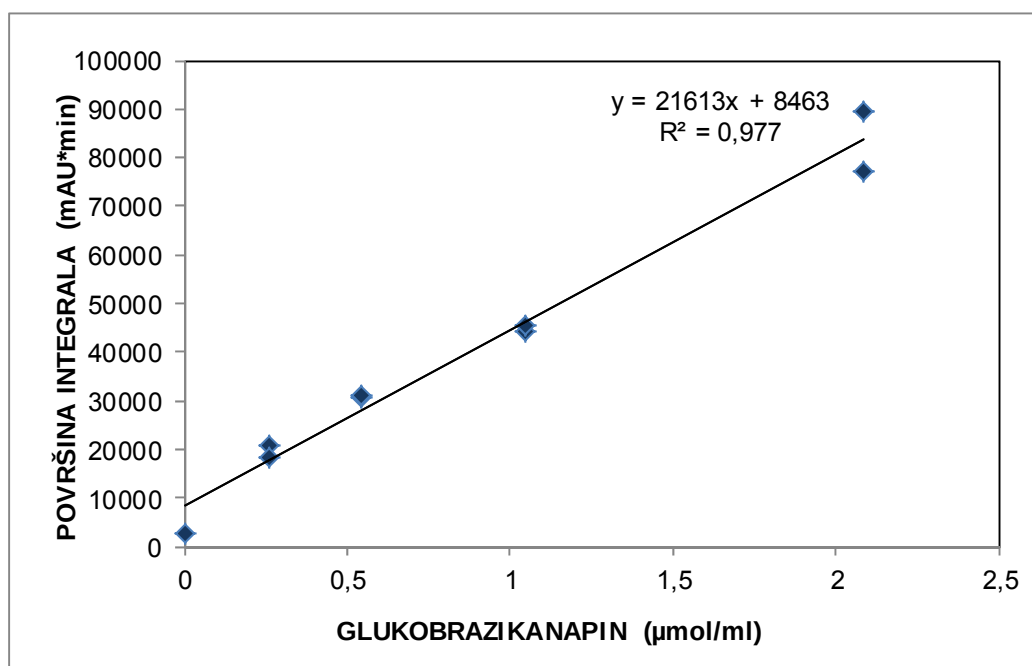
Priloga B: Umeritvena krivulja za glukonapoliferin



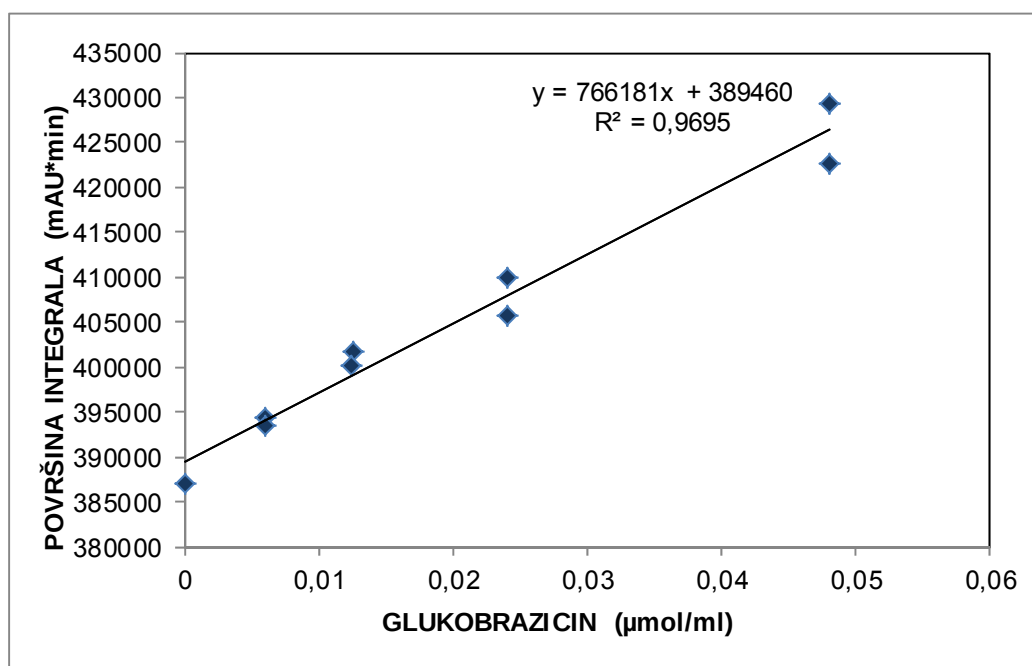
Priloga C: Umeritvena krivulja za glukonapin.



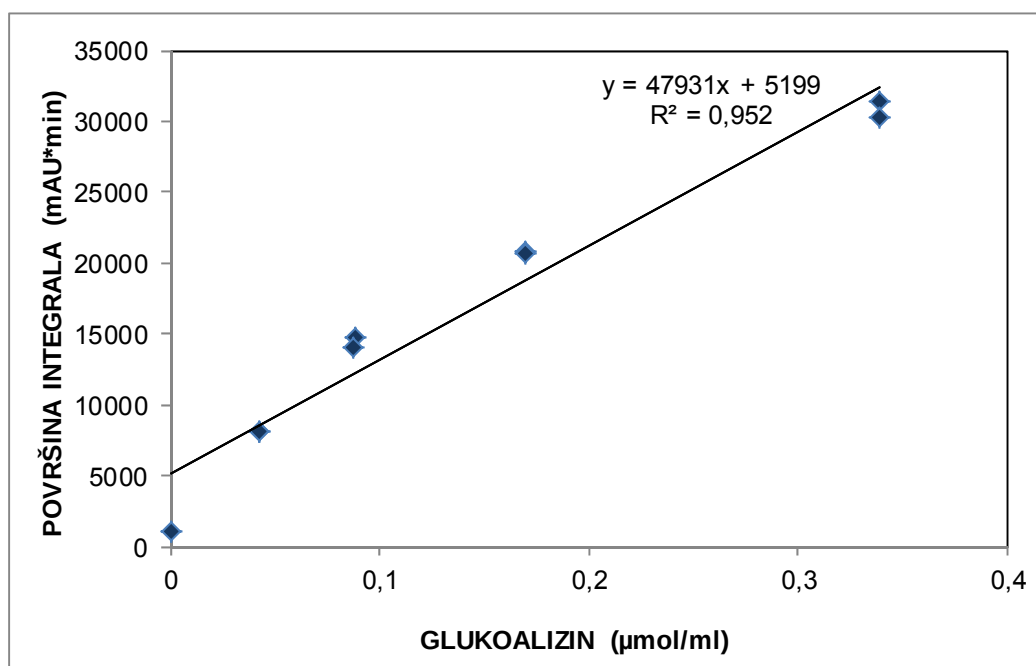
Priloga D: Umeritvena krivulja za 4-hidroksiglukobrazicin.



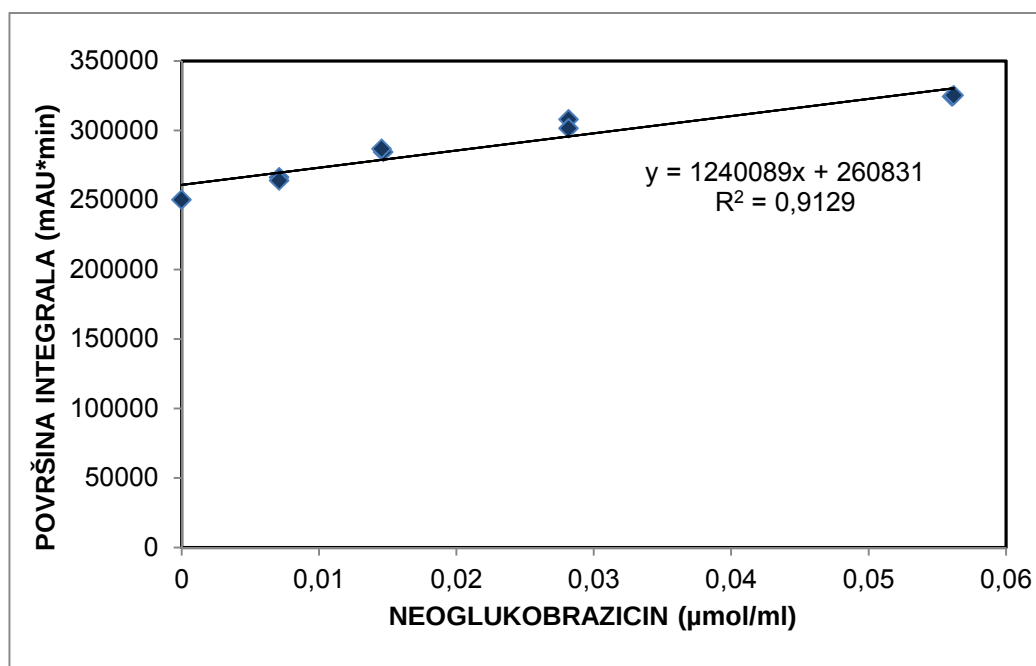
Priloga E: Umeritvena krivulja za glukobrazikanapin.



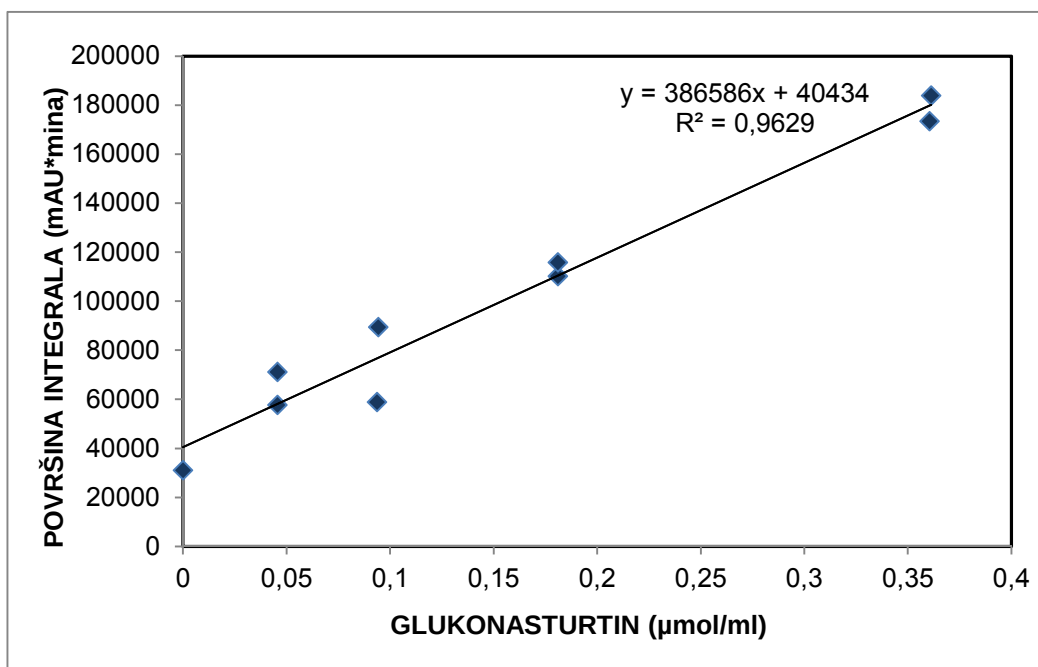
Priloga F: Umeritvena krivulja za glukobrazicin.



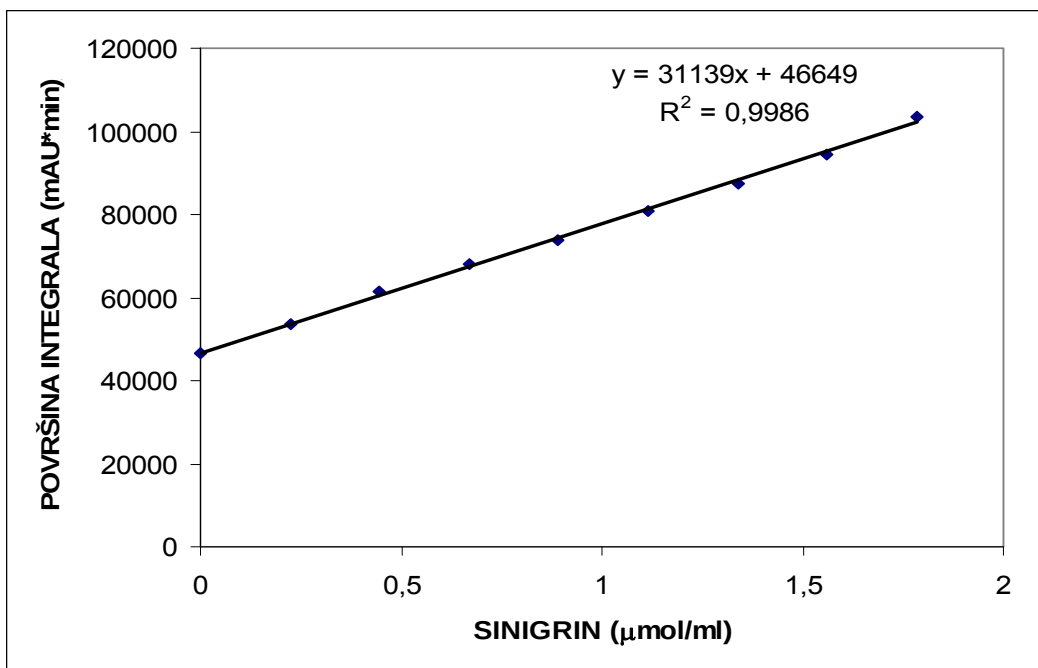
Priloga G: Umeritvena krivulja za glukoalizin.



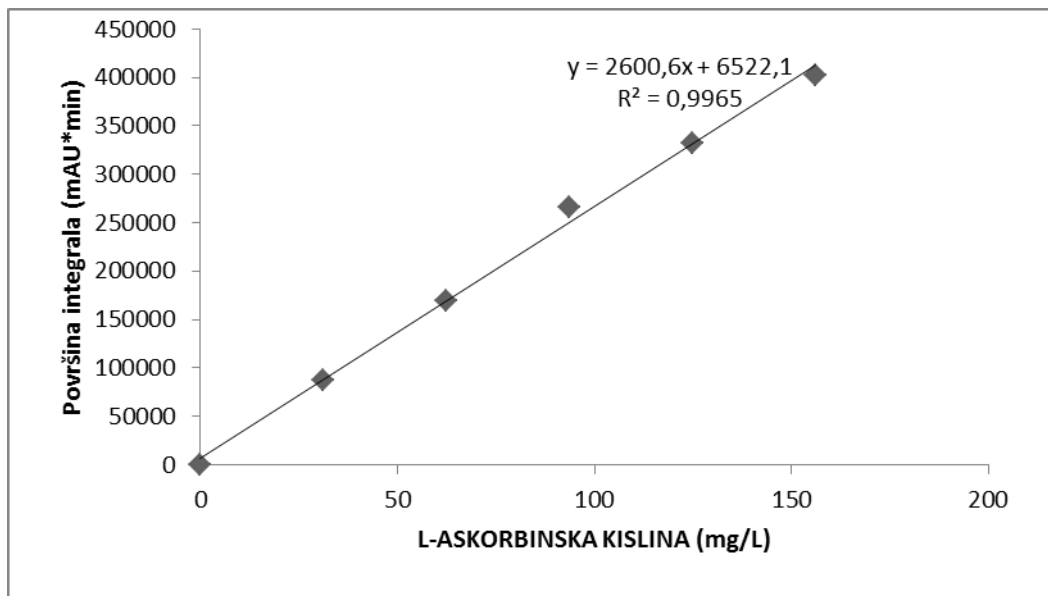
Priloga H: Umeritvena krivulja za neoglukobrazicinin.



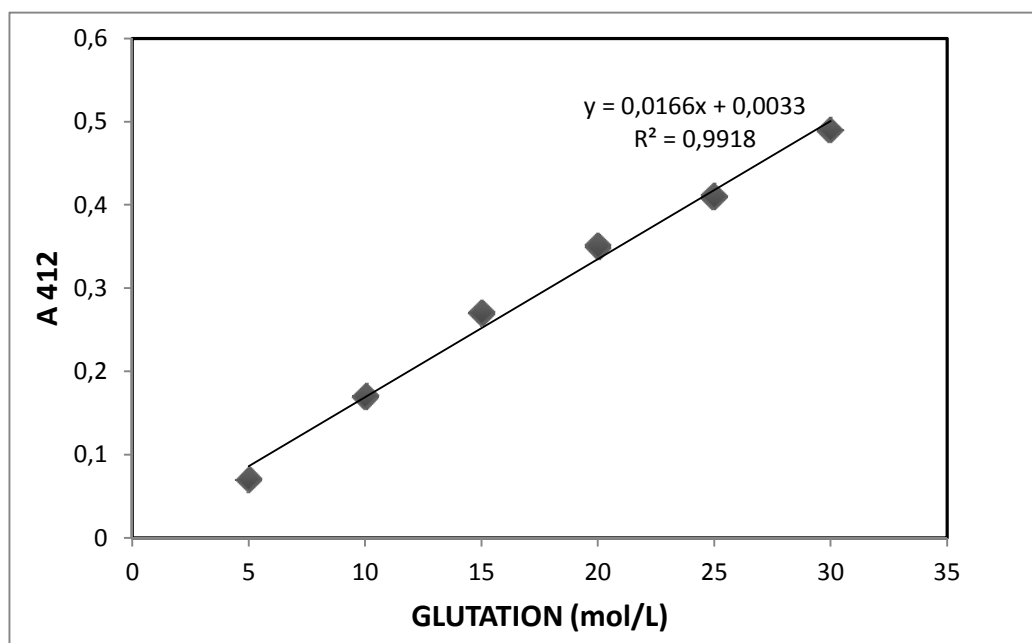
Priloga I: Umeritvena krivulja za glukonasturtin.



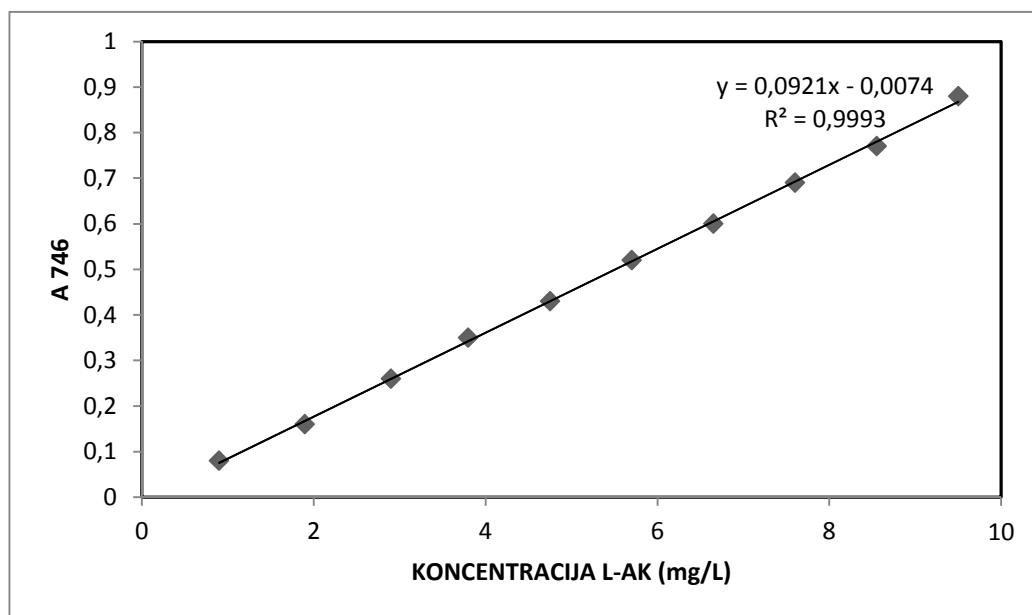
Priloga J: Umeritvena krivulja za sinigrin.



Priloga K: Umeritvena krivulja za L-askorbinsko kislino



Priloga L: Umeritvena krivulja za določanje glutatona



Priloga M: Umeritvena krivulja za določanje skupnih antioksidantov s Folin-Ciocalteu jevim reagentom

Priloga N1: Vsebnost L-AK v narezanem zelju pri različni debelini (0,5 mm in 2 mm), temperaturi 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

	ASKORBINSKA KISLINA													
OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 0,5 mm, T= 8 °C)						OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 2 mm, T= 8 °C)						
	čas (min)	povr. integrala L-AK	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)		sd	povr. integrala L-AK	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd
AV5 1	5	103668,249	110716,77	9968,1168	11,206585	12,019688	1,149902	BV5 1	93421,821	96319,073	4097,3324	10,024578	10,358799	0,47266
AV5 2		117765,295			12,832792			BV5 2	99216,324			10,69302		
CV5 1		116241,118			12,656966			DV5 1	129482,198			14,18443		
CV5 2		104244,178			11,273023			DV5 2	137288,077			15,084901		
EV5 1		109128,876			11,836512			FV5 1	101323,776			10,936131		
EV5 2	107430,548	108279,71	1200,8992	11,738554	0,1385333	FV5 2	105514,913	103419,34	2963,5814	11,177872	0,3418728			
AV30 1	30	96588,038	93565,876	4273,9825	10,389826	10,041195	0,493038	BV30 1	75991,767	85307,478	13174,404	8,0138815	9,0885231	1,5197728
AV30 2		90543,714			9,6925649			BV30 2	94623,188			10,163165		
CV30 1		116253,119			12,65835			DV30 1	112842,541			12,264913		
CV30 2		115874,391			12,614661			DV30 2	123912,021			13,541866		
EV30 1		103216,451			104990,92			2509,4725	11,154466			11,359165		
EV30 2	106765,381			11,563864			FV30 2	121762,058			13,29385			
AV2 1	120	97500,235	96617,237	1248,7477	10,495055	10,393194	0,144053	BV2 1	88463,521	93802,377	7550,2826	9,452598	10,068478	0,8709855
AV2 2		95734,239			10,291333			BV2 2	99141,233			10,684357		
CV2 1		109700,141			11,902412			DV2 1	117411,629			12,791994		
CV2 2		117954,328			12,854598			DV2 2	127965,989			14,009523		
EV2 1		107543,591			11,653637			FV2 1	113762,544			12,371043		
EV2 2	104651,111	106097,35	2045,2922	11,319966	11,486801	0,2359408	FV2 2	121621,115	117691,83	5556,8488	13,277592	12,824317	0,6410269	
AV12 1	720	93237,192	91244,212	2818,4993	10,003279	9,7733729	0,3251364	BV12 1	73577,362	81619,292	11373,006	7,7353605	8,6630614	1,3119671
AV12 2		89251,232			9,5434667			BV12 2	89661,221			9,5907622		
CV12 1		102745,237			11,100108			DV12 1	125965,352			13,778734		
CV12 2		106144,518			11,492242			DV12 2	128878,002			14,114731		
EV12 1		110291,721			11,970655			FV12 1	127632,953			13,971105		
EV12 2	119521,977	114906,85	6526,7766	13,035439	12,503047	0,7529159	FV12 2	127521,009	127576,98	79,156362	13,958191	13,964648	0,0091313	
AV27 1	1620	72659,005	71757,016	1275,6058	7,6294207	7,525369	0,1471513	BV27 1	75112,333	79559,286	6288,9405	7,9124317	8,4254232	0,7254796
AV27 2		70855,026			7,4213173			BV27 2	84006,238			8,9384148		
CV27 1		100643,911			10,857703			DV27 1	118487,234			12,916073		
CV27 2		101001,763			10,898984			DV27 2	133498,432			14,647735		
EV27 1		103482,117			11,185113			FV27 1	105366,098			107726,78		
EV27 2	110265,51	106873,81	4796,5832	11,967632	11,576372	0,5533242	FV27 2	110087,458			11,947092			

Priloga N2: Vsebnost L-AK v narezanem zelju pri različni debelini (0,5 mm in 2 mm), temperaturi 8 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

ASKORBINSKA KISLINA														
OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 0,5 mm, T= 20 °C)							OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 2 mm, T= 20 °C)					
	čas (min)	povr. integrala L-AK	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd		povr. integrala L-AK	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd
AV5 1	5	168008,484	166254,45	2480,5857	18,628745	18,426403	0,2861554	BV5 1	159801,75	165509,21	8071,5688	17,682033	18,340434	0,93112
AV5 2		164500,406			18,224061			BV5 2	171216,672			18,998835		
CV5 1		140276,237			15,429609			DV5 1	177324,691			19,703444		
CV5 2		148151,109			16,338038			DV5 2	180235,121			20,039186		
EV5 1		124354,203			13,592875			FV5 1	139862,359			15,381865		
EV5 2		155580,125			17,195035			FV5 2	129735,922			14,213699		
AV30 1	30	150264,156	150705,64	624,35337	16,581795	16,632724	0,0720242	BV30 1	180815,25	169514,09	15982,259	20,106108	18,802429	1,8436814
AV30 2		151147,125			16,683653			BV30 2	158212,922			17,498749		
CV30 1		158613,797			17,544993			DV30 1	162341,112			17,974969		
CV30 2		157099,313			17,370285			DV30 2	175541,815			19,497775		
EV30 1		103552,203			11,193198			FV30 1	105315,087			11,396561		
EV30 2		113633,297			12,356133			FV30 2	127009,344			13,899167		
AV2 1	120	156025,406	150825,12	7354,3192	17,246402	16,646507	0,8483795	BV2 1	163854,484	164974,13	1583,4221	18,149548	18,278709	0,1826604
AV2 2		145624,828			16,046612			BV2 2	166093,781			18,407869		
CV2 1		138813,328			15,260851			DV2 1	172221,581			19,11476		
CV2 2		154009,297			17,013827			DV2 2	169521,853			18,803325		
EV2 1		167826,094			18,607705			FV2 1	99417,367			10,716212		
EV2 2		164843,531			18,263643			FV2 2	136581,001			15,003334		
AV12 1	720	127158,148	133278,64	8655,6892	13,916333	14,622381	0,9985029	BV12 1	170205,219	170935,24	1032,4091	18,882156	18,96637	0,1190966
AV12 2		139399,141			15,328429			BV12 2	171665,266			19,050584		
CV12 1		173256,378			19,234132			DV12 1	182419,021			20,291116		
CV12 2		164237,882			18,193776			DV12 2	189342,791			21,089828		
EV12 1		175321,762			19,47239			FV12 1	156376,358			17,286887		
EV12 2		167325,112			18,549913			FV12 2	174632,98			19,392934		
AV27 1	1620	156438,869	159336,47	4097,8323	17,294098	17,62836	0,4727177	BV27 1	141187,969	146754,85	7872,7607	15,534785	16,176969	0,9081859
AV27 2		162234,079			17,962622			BV27 2	152321,734			16,819153		
CV27 1		165303,631			18,316719			DV27 1	180991,761			20,12647		
CV27 2		176321,112			19,587673			DV27 2	205123,045			22,910207		
EV27 1		192821,134			21,491083			FV27 1	172921,042			19,195448		
EV27 2		200123,671			22,333489			FV27 2	150623,012			16,623192		

Priloga N3: Vsebnost L-AK v narezanem zelju pri prepihovanju s kisikom ali zrakom pri določenem času (2 h, 12 h, 24 h, 72 h, 120 h)

ASKORBINSKA KISLINA																
OZNAKA VZORCA	POSKUS 2 (ZRAK)							OZNAKA VZORCA	POSKUS 2 (KISIK)							
	čas (min)	povr. integrala L-AK	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd		povr. integrala L-AK	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd		
ZAV2 1	2	82437,329	85701,442	4616,1522	8,7574286	9,13397	0,5325101	KAV2 1	73541,231	81982,545	11937,821	7,7311925	8,7049656	1,3771231		
ZAV2 2		88965,554			9,5105115			KAV2 2	90423,859			9,6787386				
ZBV2 1		72989,098			77050,766	5744,0653		7,6674996	8,1360454		KBV2 1	115328,752		112930,84	12,551717	12,275099
ZBV2 2		81112,433			8,6045912	KBV2 2		110532,934			11,998481					
ZCV2 1		117321,217			12,781564	KCV2 1		122816,026			13,415434					
ZCV2 2		118735,228			12,944681	KCV2 2		119427,751			13,024569					
ZAV12 1	12	174238,132	181802,64	10697,831	19,347385	20,220012	1,2340804	KAV12 1	130486,349	134255,27	5330,0634	14,300267	14,735043	0,6148654		
ZAV12 2		189367,15			21,092638			KAV12 2	138024,197			15,169818				
ZBV12 1		119052,981			121170,13	2994,1051		12,981337	13,225567		KBV12 1	113521,129		115640,11	12,343193	12,587635
ZBV12 2		123287,285			13,469798	KBV12 2		117759,087			12,832076					
ZCV12 1		130736,661			14,329143	13,920609		KCV12 1			129992,501	14,243298			13,626667	
ZCV12 2		123653,779			13,512076			KCV12 2			119301,77	13,010037				
ZAV24 1	24	140258,161	135228,21	7113,42	15,427524	14,847279	0,8205899	KAV24 1	131265,752	133494,9	3152,4949	14,390177	14,647328	0,3636655		
ZAV24 2		130198,266			14,267034			KAV24 2	135724,053			14,904478				
ZBV24 1		120119,043			13,104316	12,822846		KBV24 1	120209,821		122986,02	13,114787		13,435045		
ZBV24 2		115239,119			12,541377			KBV24 2	125762,228			13,755302				
ZCV24 1		119423,891			121389,59	2779,9168		13,024124	13,250883		KCV24 1	115024,872		114976,18	12,516662	12,511045
ZCV24 2		123355,287			13,477642	KCV24 2		114927,492			12,505429					
ZAV72 1	72	132765,024	135008,06	3172,1333	14,563131	14,821883	0,3659309	KAV72 1	129042,963	134640,37	7915,9254	14,133761	14,779466	0,9131653		
ZAV72 2		137251,098			15,080635			KAV72 2	140237,772			15,425172				
ZBV72 1		131459,032			14,412474	15,035452		KBV72 1	125902,045		131942,05	13,771431		14,468194		
ZBV72 2		142259,807			15,65843			KBV72 2	137982,052			15,164956				
ZCV72 1		125048,217			13,672935	13,984931		KCV72 1	125637,038		123840,02	13,74086		13,53356		
ZCV72 2		130457,391			14,296927			KCV72 2	122043,002			13,32626				
ZAV120 1	120	90972,051	86346,822	6541,0623	9,741977	9,2084198	0,7545638	KAV120 1	89023,823	84620,089	6227,8203	9,5172333	9,0092274	0,7184289		
ZAV120 2		81721,592			8,6748626			KAV120 2	80216,355			8,5012214				
ZBV120 1		82091,026			8,7174797	9,0250637		KBV120 1	72098,765		83765,383	7,5647925		8,9106302		
ZBV120 2		87423,712			9,3326477			KBV120 2	95432,001			10,256468				
ZCV120 1		93180,012			9,9966829	8,6796183		KCV120 1	84281,266		88409,675	8,9701414		9,4463864		
ZCV120 2		70345,623			7,3625536			KCV120 2	92538,084			9,9226314				

Priloga O1: Vsebnost skupnega vit C v narezanem zelju pri različni debelini (0,5 mm in 2 mm), temp. 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

ASKORBINSKA KISLINA														
OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 0,5 mm, T= 20 °C)							POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 2 mm, T= 20 °C)						
	čas (min)	povr. integrala celoten vitamin C (z TCEP)	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd	OZNAKA VZORCA	povr. integrala celoten vitamin C (z TCEP)	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd
AV5 1	5	106448,188	103375,19	4345,8698	34,581819	33,518336	1,5039925	BV5 1	132503,5	129162,8	4724,4632	43,598885	42,442756	1,6350138
AV5 2		100302,2			32,454853			BV5 2	125822,1			41,286626		
CV5 1		159367,281			52,895741			DV5 1	146059,188			48,290156		
CV5 2		163453,297			54,309804			DV5 2	159406,5			52,909313		
EV5 1		82654,234			26,347351			FV5 1	109324,651			35,577288		
EV5 2	30	102955,969	92805,102	14355,494	33,373253	29,860302	4,9680632	FV5 2	105317,594	107321,12	2833,4172	34,19055	34,883919	0,980572
AV30 1		138245,2			45,585938			BV30 1	163236,1			54,234638		
AV30 2		141367,5			46,666485			BV30 2	142867,2			47,185492		
CV30 1		158081,094			52,450625			DV30 1	158491,438			52,592634		
CV30 2		170139,281			56,62365			DV30 2	152929,063			50,667641		
EV30 1	120	103552,203	108592,75	7128,4099	33,579594	35,3239964	2,4669572	FV30 1	81772,125	92303,41	14893,486	26,042076	29,68668	5,154248
EV30 2		113633,297			37,068399			FV30 2	102834,695			33,331283		
AV2 1		130798,1			43,00869			BV2 1	139367,1			45,974198		
AV2 2		136976,4			45,146839			BV2 2	143954,2			47,561674		
CV2 1		128034,586			42,05231			DV2 1	148344,031			49,080881		
CV2 2	720	138835,078	133434,83	7637,1011	45,790079	43,9211946	2,643002	DV2 2	138990,25	143667,14	6614,122	45,84378	47,46233	2,2889755
EV2 1		88803,852			28,475574			FV2 1	75126,164			23,742082		
EV2 2		103490,734			33,558321			FV2 2	106777,922			34,695932		
AV12 1		111632,1			36,375836			BV12 1	154967,1			51,372952		
AV12 2		113479,2			37,01507			BV12 2	152683,7			50,582727		
CV12 1	1620	121417,414	115850,02	7873,4848	39,762279	37,8355485	2,7248082	DV12 1	146273,219	144829,27	2042,0473	48,364226	47,864514	0,7066994
CV12 2		110282,625			35,908818			DV12 2	143385,328			47,364802		
EV12 1		77420,375			24,536048			FV12 1	89199,227			28,612403		
EV12 2		73767,125			23,271754			FV12 2	98664,828			31,888201		
AV27 1		124327,766			40,769476			BV27 1	105239,902			34,163663		
AV27 2	1620	134992,391	129660,08	7541,0287	44,460225	42,6148507	2,6097538	BV27 2	100098,477	102669,19	3635,5365	32,384349	33,274006	1,2581646
CV27 1		97116,227			31,35227			DV27 1	148974,453			49,299053		
CV27 2		107622,172			34,988105			DV27 2	164964,375			54,832749		
EV27 1		96493,469			31,13675			FV27 1	108939,258			35,443914		
EV27 2		84302,797			26,917876			FV27 2	94064,82			30,296258		

Priloga O2: Vsebnost skupnega vit C v narezanem zelju pri različni debelini (0,5 mm in 2 mm), temp. 8 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

ASKORBINSKA KISLINA														
OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 0,5 mm, T= 8 °C)							POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 2 mm, T= 8 °C)						
	čas (min)	povr. integrala celoten vitamin C (z TCEP)	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd	OZNAKA VZORCA	povr. integrala celoten vitamin C (z TCEP)	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd
AV5 1	5	84827,328	88360,738	4996,9963	27,099402	28,3222234	1,7293304	BV5 1	76897,227	78170,047	1800,0393	24,355	24,79549	24,79549
AV5 2		91894,148			29,545045			BV5 2	79442,867			25,23598		
CV5 1		91779,602			29,505403			DV5 1	98055,945			31,677482		
CV5 2		90441,703			29,042391			DV5 2	110250,367			35,897655		
EV5 1		88787,359			28,469866			FV5 1	81366,172			25,901586		
EV5 2	30	90929,609	89858,484	1514,7995	29,211243	28,8405543	0,5242327	FV5 2	86761,844	84064,008	3815,3163	27,768888	26,835237	26,835237
AV30 1		73762,242			23,270064			BV30 1	54687,016			16,668624		
AV30 2		72943,07			22,98657			BV30 2	70662,492			22,197321		
CV30 1		91472,406			29,399091			DV30 1	88433,109			28,347269		
CV30 2		91083,742			29,264584			DV30 2	96407,883			31,107131		
EV30 1	120	84556,578	86047,074	2107,8797	27,005703	27,5215245	0,7294823	FV30 1	88015,508	90441,985	3431,556	28,202748	29,042489	29,042489
EV30 2		87537,57			28,037346			FV30 2	92868,461			29,882229		
AV2 1		77511,391			24,567547			BV2 1	65520,734			20,417892		
AV2 2		71602,414			22,522603			BV2 2	78394,328			24,873108		
CV2 1		86472,055			27,668599			DV2 1	91051,391			29,253388		
CV2 2	720	92820,852	89646,454	4489,2774	29,865753	28,7671761	1,5536221	DV2 2	95013,414	93032,403	2801,5733	30,624541	29,938965	29,938965
EV2 1		83561,031			26,66117			FV2 1	89382,188			28,675721		
EV2 2		84189,93			26,878815			FV2 2	94976,328			30,611707		
AV12 1		67693,602			21,169865			BV12 1	57491,664			17,63924		
AV12 2		68890,547			21,584097			BV12 2	72894,836			22,969877		
CV12 1	1620	85980,109	85664,359	446,53793	27,49835	27,3890768	0,1545352	DV12 1	95122,438	95240,934	167,57865	30,662272	30,70328	30,70328
CV12 2		85348,609			27,279804			DV12 2	95359,43			30,744289		
EV12 1		87405,25			27,991554			FV12 1	94984,508			30,614538		
EV12 2		92452,43			29,738252			FV12 2	95130,148			30,66494		
AV27 1		54405,008			16,571029			BV27 1	57038,922			17,482558		
AV27 2	1620	47574,996	81363,766	506,64201	14,207339	15,389184	1,6713808	BV27 2	63431,27	60235,096	4520,0726	19,694783	18,58867	18,58867
CV27 1		81722,016			26,024734			DV27 1	91911,406			29,551017		
CV27 2		81005,516			25,776772			DV27 2	101860,477			32,994132		
EV27 1		81191,133			25,84101			FV27 1	85170,984			27,218333		
EV27 2		82864,07			26,41997			FV27 2	89686,305			28,780968		

Priloga O3: Vsebnost skupnega vit C v narezanem zelju pri prepihovanju s kisikom ali zrakom pri določenem času (2 h, 12 h, 24 h, 72 h, 120 h)

ASKORBINSKA KISLINA														
OZNAKA VZORCA	POSKUS 2 (ZRAK)							POSKUS 2 (KISIK)						
	čas (min)	povr. integrala celoten vitamin C (z TCEP)	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd	OZNAKA VZORCA	povr. integrala celoten vitamin C (z TCEP)	povp.	sd	AK (mg/100g)	povp. (mg/100g)	sd
ZAV2 1	2	60886,219	62561,975	2369,8762	18,814007	19,3939426	0,8201525	KAV2 1	54567,535	64028,701	13380,109	16,627275	19,901538	4,6305077
ZAV2 2		64237,73			19,973878			KAV2 2	73489,867			23,175802		
ZBV2 1		49480,063			14,866633			KBV2 1	90947,883			29,217567		
ZBV2 2		60564,023			18,702504			KBV2 2	93918,469			30,24561		
ZCV2 1		90578,383			29,089693			KCV2 1	98163,977			31,714869		
ZCV2 2	12	90907,203	90742,793	232,51085	29,203489	29,1465907	0,080466	KCV2 2	96543,766	97353,872	1145,6622	31,154157	31,434513	0,3964839
ZAV12 1		140916,047			46,510249			KAV12 1	97790,023			31,585454		
ZAV12 2		155777,875			51,653541			KAV12 2	101546,438			32,885451		
ZBV12 1		88710,344			28,443213			KBV12 1	86307,891			27,611786		
ZBV12 2		94152,383			30,326561			KBV12 2	90616,313			29,102819		
ZCV12 1	24	99398,93	95754,305	5154,2781	32,142254	30,8809446	1,7837616	KCV12 1	101681,172	97111,625	6462,3153	32,932079	31,350678	2,2364392
ZCV12 2		92109,68			29,619635			KCV12 2	92542,078			29,769276		
ZAV24 1		103775,93			33,65702			KAV24 1	100995,813			32,694894		
ZAV24 2		104479,219			33,90041			KAV24 2	104619,148			33,948836		
ZBV24 1		92317,547			29,691572			KBV24 1	96403,734			31,105695		
ZBV24 2	72	97171,211	103500,32	8945,144	31,371299	33,5616389	3,0956816	KBV24 2	96206,594	95544,184	4970,8341	31,03747	31,071583	0,0482424
ZCV24 1		97175,148			31,372661			KCV24 1	92029,273			29,591808		
ZCV24 2		109825,492			35,750616			KCV24 2	99059,094			32,024646		
ZAV72 1		105835,703			34,369854			KAV72 1	99600,734			32,212094		
ZAV72 2		108998,898			35,464554			KAV72 2	108587,383			35,322139		
ZBV72 1	120	98501,18	105184,09	9451,062	31,831567	34,1443478	3,2707667	KBV72 1	94586,852	98413,282	5411,3885	30,476919	31,801147	1,8727408
ZBV72 2		111867			36,457129			KBV72 2	102239,711			33,125375		
ZCV72 1		102695,664			33,283168			KCV72 1	101656,266			32,92346		
ZCV72 2		106200,297			34,496031			KCV72 2	106745,148			34,684589		
ZAV120 1		64556,82			20,084307			KAV120 1	65967,445			20,572487		
ZAV120 2	120	77834,633	65594,004	1878,9652	24,679412	22,3818595	3,2492304	KAV120 2	60776,57	63372,008	3670,5029	18,776061	19,674274	1,2702656
ZBV120 1		64265,375			19,983445			KBV120 1	52726,547			15,990157		
ZBV120 2		66922,633			20,903053			KBV120 2	70280,031			22,064961		
ZCV120 1		72051,953			22,678177			KCV120 1	61512,293			19,030675		
ZCV120 2		56212,832			17,19667			KCV120 2	70981,031			22,307559		

Priloga P1: Vsebnost reducirane oblike glutationa v narezanem zelju pri debelini 0,5 mm, temperaturi 8 °C in 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

GLUTATION																	
OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 0,5 mm)																
	ČAS (min)	ABSORBANCA (T=8 °C) (nm)		povp. (nm)	sd	(μmol/kg)		povp. (nm)	sd	ABSORBANCA (T=20°C) (nm)		povp. (nm)	sd	(μmol/kg)		povp. (nm)	sd
		1	2							1	2						
AV5	5	0,211	0,212	0,212	0,00	375,36	377,2	376,27	1,2779	0,096	0,09	0,093	0,002	167,5	156,69	162,11	3,8337
CV5		0,166	0,178	0,172	0,008	294,04	315,7	304,88	15,335	0,126	0,121	0,1235	0,002	221,7	212,71	217,23	3,1948
EV5		0,209	0,201	0,205	0,006	371,75	357,3	364,52	10,223	0,131	0,129	0,13	0,001	230,8	227,17	228,98	1,2779
AV30	30	0,192	0,212	0,202	0,014	341,02	377,2	359,1	25,558	0,075	0,085	0,08	0,004	129,6	147,65	138,61	6,3895
CV30		0,156	0,182	0,169	0,018	275,96	323	299,46	33,225	0,145	0,126	0,1355	0,007	256,1	221,75	238,92	12,14
EV30		0,178	0,213	0,196	0,025	315,72	379	347,35	44,727	0,125	0,123	0,124	0,001	219,9	216,33	218,13	1,2779
AV2	12	0,194	0,216	0,205	0,016	344,64	384,4	364,52	28,114	0,11	0,14	0,125	0,021	192,8	247,05	219,94	19,169
CV2		0,182	0,195	0,189	0,009	322,95	346,4	334,7	16,613	0,11	0,106	0,108	0,001	192,8	185,6	189,22	2,5558
EV2		0,171	0,177	0,174	0,004	303,07	313,9	308,49	7,6674	0,143	0,137	0,14	0,002	252,5	241,63	247,05	3,8337
AV12	720	0,244	0,241	0,243	0,002	435	429,6	432,29	3,8337	0,109	0,106	0,1075	0,001	191	185,6	188,31	1,9169
CV12		0,199	0,172	0,186	0,019	353,67	304,9	329,28	34,503	0,176	0,152	0,164	0,008	312,1	268,73	290,42	15,335
EV12		0,212	0,218	0,215	0,004	377,17	388	382,59	7,6674	0,169	0,18	0,1745	0,004	299,5	319,34	309,4	7,0285
AV27	1650	0,245	0,239	0,242	0,004	436,81	426	431,39	7,6674	0,182	0,203	0,1925	0,007	323	360,9	341,93	13,418
CV27		0,229	0,245	0,237	0,011	407,89	436,8	422,35	20,446	0,176	0,237	0,2065	0,022	312,1	422,35	367,23	38,976
EV27		0,23	0,243	0,237	0,009	409,7	433,2	421,45	16,613	0,297	0,278	0,2875	0,007	530,8	496,45	513,61	12,14

Priloga P2: Vsebnost reducirane oblike glutathiona v narezanem zelju pri debelini 2 mm, temperaturi 8 °C in 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

GLUTATION																	
OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINAREZANJA 2 mm)																
	ČAS (min)	ABSORBANCA (T=8 °C) (nm)		povp. (nm)	sd	(μmol/kg)		povp. (nm)	sd	ABSORBANCA (T=20°C) (nm)		povp. (nm)	sd	(μmol/kg)		povp. (nm)	sd
		1	2							1	2						
BV5	5	0,23	0,267	0,249	0,258	409,7	476,6	443,13	47,282	0,18	0,175	0,1775	0,002	319,3	310,3	314,82	3,1948
DV5		0,224	0,237	0,231	0,234	398,86	422,3	410,6	16,613	0,211	0,198	0,2045	0,005	375,4	351,87	363,61	8,3064
FV5		0,262	0,275	0,269	0,272	467,53	491	479,28	16,613	0,169	0,165	0,167	0,001	299,5	292,23	295,84	2,5558
BV30	30	0,203	0,318	0,261	0,289	360,9	568,7	464,82	146,96	0,133	0,18	0,1565	0,017	234,4	319,34	276,87	30,031
DV30		0,266	0,233	0,25	0,241	474,76	415,1	444,94	42,171	0,221	0,186	0,2035	0,012	393,4	330,18	361,81	22,363
FV30		0,23	0,29	0,26	0,275	409,7	518,1	463,92	76,674	0,166	0,254	0,21	0,031	294	453,07	373,55	56,228
BV2	12	0,24	0,249	0,245	0,247	427,77	444	435,9	11,501	0,155	0,187	0,171	0,011	274,2	331,99	303,07	20,446
DV2		0,236	0,244	0,24	0,242	420,54	435	427,77	10,223	0,191	0,166	0,1785	0,009	339,2	294,04	316,63	15,974
FV2		0,211	0,229	0,22	0,225	375,36	407,9	391,63	23,002	0,19	0,201	0,1955	0,004	337,4	357,29	347,35	7,0285
BV12	720	0,243	0,272	0,258	0,265	433,19	485,6	459,4	37,059	0,169	0,169	0,169	0	299,5	299,46	299,46	0
DV12		0,287	0,285	0,286	0,286	512,71	509,1	510,9	2,5558	0,218	0,195	0,2065	0,008	388	346,45	367,23	14,696
FV12		0,276	0,291	0,284	0,287	492,83	519,9	506,39	19,169	0,198	0,193	0,1955	0,002	351,9	342,83	347,35	3,1948
BV27	1650	0,282	0,302	0,292	0,297	503,67	539,8	521,75	25,558	0,208	0,261	0,2345	0,019	369,9	465,72	417,83	33,864
DV27		0,266	0,294	0,28	0,287	474,76	525,4	500,06	35,781	0,229	0,259	0,244	0,011	407,9	462,11	435	19,169
FV27		0,269	0,257	0,263	0,26	480,18	458,5	469,34	15,335	0,223	0,249	0,236	0,009	397	444,04	420,54	16,613

Priloga P3: Vsebnost reducirane oblike glutathiona v narezanem zelju pri prepihanju s kisikom ali zrakom pri določenem času (2 h, 12 h, 24 h, 72 h, 120 h)

GLUTATION																	
OZNAKA VZORCA	POSKUS 2																
	ČAS (h)	ABSORBANCA (KISIK)		povp. (nm)	sd	(μmol/kg)		povp. (nm)	sd	ABSORBANCA (ZRAK)		povp. (nm)	sd	(μmol/kg)		povp. (nm)	sd
		1	2							1	2						
(K,Z) AV2	2	0,192	0,229	0,211	0,22	341,02	407,9	374,46	47,282	0,228	0,212	0,22	0,006	406,1	377,17	391,63	10,223
(K,Z) BV2		0,217	0,241	0,229	0,235	386,2	429,6	407,89	30,67	0,218	0,22	0,219	7E-04	388	391,63	389,82	1,2779
(K,Z) CV2		0,192	0,182	0,187	0,185	341,02	323	331,99	12,779	0,177	0,179	0,178	7E-04	313,9	317,53	315,72	1,2779
(K,Z) AV12	12	0,215	0,217	0,216	0,217	382,59	386,2	384,4	2,5558	0,203	0,256	0,2295	0,019	360,9	456,69	408,8	33,864
(K,Z) BV12		0,227	0,231	0,229	0,23	404,28	411,5	407,89	5,1116	0,211	0,237	0,224	0,009	375,4	422,35	398,86	16,613
(K,Z) CV12		0,198	0,251	0,225	0,238	351,87	447,7	399,76	67,729	0,249	0,206	0,2275	0,015	444	366,33	405,18	27,475
(K,Z) AV24	24	0,299	0,263	0,281	0,272	534,4	469,3	501,87	46,005	0,225	0,263	0,244	0,013	400,7	469,34	435	24,28
(K,Z) BV24		0,245	0,271	0,258	0,265	436,81	483,8	460,3	33,225	0,249	0,286	0,2675	0,013	444	510,9	477,47	23,641
(K,Z) CV24		0,299	0,276	0,288	0,282	534,4	492,8	513,61	29,392	0,248	0,264	0,256	0,006	442,2	471,14	456,69	10,223
(K,Z) AV72	72	0,266	0,279	0,273	0,276	474,76	498,3	486,51	16,613	0,256	0,31	0,283	0,019	456,7	554,28	505,48	34,503
(K,Z) BV72		0,276	0,299	0,288	0,293	492,83	534,4	513,61	29,392	0,255	0,272	0,2635	0,006	454,9	485,6	470,24	10,862
(K,Z) CV72		0,28	0,278	0,279	0,279	500,06	496,4	498,25	2,5558	0,294	0,272	0,283	0,008	525,4	485,6	505,48	14,057
(K,Z) AV120	120	0,31	0,289	0,3	0,294	554,28	516,3	535,3	26,836	0,241	0,314	0,2775	0,026	429,6	561,51	495,54	46,643
(K,Z) BV120		0,3	0,296	0,298	0,297	536,2	529	532,59	5,1116	0,268	0,279	0,2735	0,004	478,4	498,25	488,31	7,0285
(K,Z) CV120		0,295	0,296	0,296	0,296	527,17	529	528,07	1,2779	0,28	0,29	0,285	0,004	500,1	518,13	509,1	6,3895

Priloga R1: Vsebnost skupnih antioksidantov s F.C. reagentom v narezanem zelju pri debelini 0,5 mm, temperaturi 8 °C in 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

FOLIN																	
OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 0,5 mm)																
	ČAS (min)	ABSORBANCA (T=8 °C) (nm)		povp. (nm)	sd	(mg/100g)		povp. (nm)	sd	ABSORBANCA (T=20°C) (nm)		povp. (nm)	sd	(mg/100g)		povp. (nm)	sd
		1	2							1	2						
AV5	5	0,47	0,432	0,451	0,0269	51,835	47,709	49,772	2,9175	0,473	0,461	0,467	0,0085	52,161	50,858	51,509	0,9213
CV5		0,42	0,392	0,406	0,0198	46,406	43,366	44,886	2,1497	0,408	0,405	0,407	0,0021	45,103	44,777	44,94	0,2303
EV5		0,445	0,452	0,4485	0,0049	49,121	49,881	49,501	0,5374	0,417	0,449	0,433	0,0226	46,08	49,555	47,818	2,4568
AV30	30	0,449	0,45	0,4495	0,0007	49,555	49,663	49,609	0,0768	0,43	0,503	0,467	0,0516	47,492	55,418	51,455	5,6046
CV30		0,41	0,449	0,4295	0,0276	45,32	49,555	47,438	2,9943	0,399	0,4	0,4	0,0007	44,126	44,235	44,18	0,0768
EV30		0,396	0,456	0,426	0,0424	43,8	50,315	47,058	4,6066	0,424	0,478	0,451	0,0382	46,84	52,704	49,772	4,1459
AV2	12	0,402	0,508	0,455	0,075	44,452	55,961	50,206	8,1383	0,481	0,425	0,453	0,0396	53,029	46,949	49,989	4,2995
CV2		0,41	0,45	0,43	0,0283	45,32	49,663	47,492	3,071	0,387	0,362	0,375	0,0177	42,823	40,109	41,466	1,9194
EV2		0,399	0,392	0,3955	0,0049	44,126	43,366	43,746	0,5374	0,457	0,496	0,477	0,0276	50,423	54,658	52,541	2,9943
AV12	720	0,421	0,497	0,459	0,0537	46,515	54,767	50,641	5,835	0,442	0,402	0,422	0,0283	48,795	44,452	46,623	3,071
CV12		0,435	0,491	0,463	0,0396	48,035	54,115	51,075	4,2995	0,441	0,404	0,423	0,0262	48,686	44,669	46,678	2,8407
EV12		0,399	0,432	0,4155	0,0233	44,126	47,709	45,917	2,5336	0,426	0,43	0,428	0,0028	47,058	47,492	47,275	0,3071
AV27	1650	0,509	0,469	0,489	0,0283	56,069	51,726	53,898	3,071	0,449	0,496	0,473	0,0332	49,555	54,658	52,106	3,6085
CV27		0,448	0,462	0,455	0,0099	49,446	50,966	50,206	1,0749	0,465	0,574	0,52	0,0771	51,292	63,127	57,21	8,3686
EV27		0,486	0,507	0,4965	0,0148	53,572	55,852	54,712	1,6123	0,537	0,455	0,496	0,058	59,11	50,206	54,658	6,2956

Priloga R2: Vsebnost skupnih antioksidantov s F.C. reagentom v narezanem zelju pri debelini 2 mm, temperaturi 8 °C in 20 °C in času (5 min, 30 min, 2 h, 12 h, 27 h)

OZNAKA VZORCA	POSKUS 1 (DEBELINA REZANJA 2 mm)																
	ČAS (min)	ABSORBANCA (T=8 °C) (nm)		povp. (nm)	sd	(mg/100g)		povp. (nm)	sd	ABSORBANCA (T=20°C) (nm)		povp. (nm)	sd	(mg/100g)		povp. (nm)	sd
		1	2							1	2						
BV5	5	0,412	0,431	0,4215	0,0134	45,537	47,6	46,569	1,4587	0,431	0,54	0,486	0,0771	47,6	59,435	53,518	8,3686
DV5		0,48	0,472	0,476	0,0057	52,921	52,052	52,486	0,6142	0,448	0,47	0,459	0,0156	49,446	51,835	50,641	1,6891
FV5		0,486	0,483	0,4845	0,0021	53,572	53,246	53,409	0,2303	0,479	0,467	0,473	0,0085	52,812	51,509	52,161	0,9213
BV30	30	0,403	0,428	0,4155	0,0177	44,56	47,275	45,917	1,9194	0,56	0,59	0,575	0,0212	61,607	64,864	63,236	2,3033
DV30		0,491	0,475	0,483	0,0113	54,115	52,378	53,246	1,2284	0,477	0,442	0,46	0,0247	52,595	48,795	50,695	2,6872
FV30		0,449	0,496	0,4725	0,0332	49,555	54,658	52,106	3,6085	0,475	0,55	0,513	0,053	52,378	60,521	56,45	5,7582
BV2	12	0,476	0,52	0,498	0,0311	52,486	57,264	54,875	3,3781	0,545	0,539	0,542	0,0042	59,978	59,327	59,653	0,4607
DV2		0,458	0,48	0,469	0,0156	50,532	52,921	51,726	1,6891	0,437	0,438	0,438	0,0007	48,252	48,36	48,306	0,0768
FV2		0,424	0,382	0,403	0,0297	46,84	42,28	44,56	3,2246	0,53	0,461	0,496	0,0488	58,35	50,858	54,604	5,2975
BV12	720	0,499	0,511	0,505	0,0085	54,984	56,287	55,635	0,9213	0,539	0,577	0,558	0,0269	59,327	63,453	61,39	2,9175
DV12		0,517	0,533	0,525	0,0113	56,938	58,675	57,807	1,2284	0,545	0,496	0,521	0,0346	59,978	54,658	57,318	3,762
FV12		0,518	0,443	0,4805	0,053	57,047	48,903	52,975	5,7582	0,456	0,411	0,434	0,0318	50,315	45,429	47,872	3,4549
BV27	1650	0,539	0,554	0,5465	0,0106	59,327	60,955	60,141	1,1516	0,527	0,578	0,553	0,0361	58,024	63,561	60,793	3,9156
DV27		0,474	0,531	0,5025	0,0403	52,269	58,458	55,364	4,3762	0,52	0,535	0,528	0,0106	57,264	58,893	58,078	1,1516
FV27		0,44	0,515	0,4775	0,053	48,578	56,721	52,649	5,7582	0,522	0,492	0,507	0,0212	57,481	54,224	55,852	2,3033

Priloga R3: Vsebnost skupnih antioksidantov s F.C. reagentom v narezanem zelju pri prepihovanju s kisikom ali zrakom pri določenem času (2 h, 12 h, 24 h, 72 h, 120 h)

FOLIN																	
OZNAKA VZORCA	POSKUS 2																
	ČAS (h)	ABSORBANCA (ZRAK) (nm)		povp. (nm)	sd	(mg/100g)		povp. (nm)	sd	ABSORBANCA (KISIK) (nm)		povp. (nm)	sd	(mg/100g)		povp. (nm)	sd
		1	2							1	2						
(K,Z) AV2	2	0,513	0,512	0,5125	0,0007	56,504	56,395	56,45	0,0768	0,561	0,533	0,547	0,0198	61,716	58,675	60,195	2,1497
(K,Z) BV2		0,475	0,494	0,4845	0,0134	52,378	54,441	53,409	1,4587	0,484	0,439	0,462	0,0318	53,355	48,469	50,912	3,4549
(K,Z) CV2		0,461	0,495	0,478	0,024	50,858	54,549	52,704	2,6104	0,471	0,468	0,47	0,0021	51,944	51,618	51,781	0,2303
(K,Z) AV12	12	0,488	0,548	0,518	0,0424	53,789	60,304	57,047	4,6066	0,51	0,599	0,555	0,0629	56,178	65,841	61,01	6,8331
(K,Z) BV12		0,456	0,525	0,4905	0,0488	50,315	57,807	54,061	5,2975	0,474	0,555	0,515	0,0573	52,269	61,064	56,667	6,2189
(K,Z) CV12		0,468	0,5	0,484	0,0226	51,618	55,092	53,355	2,4568	0,512	0,462	0,487	0,0354	56,395	50,966	53,681	3,8388
(K,Z) AV24	24	0,464	0,494	0,479	0,0212	51,183	54,441	52,812	2,3033	0,477	0,511	0,494	0,024	52,595	56,287	54,441	2,6104
(K,Z) BV24		0,462	0,466	0,464	0,0028	50,966	51,401	51,183	0,3071	0,465	0,485	0,475	0,0141	51,292	53,464	52,378	1,5355
(K,Z) CV24		0,496	0,427	0,4615	0,0488	54,658	47,166	50,912	5,2975	0,491	0,481	0,486	0,0071	54,115	53,029	53,572	0,7678
(K,Z) AV72	72	0,533	0,555	0,544	0,0156	58,675	61,064	59,87	1,6891	0,533	0,551	0,542	0,0127	58,675	60,63	59,653	1,382
(K,Z) BV72		0,479	0,55	0,5145	0,0502	52,812	60,521	56,667	5,4511	0,524	0,539	0,532	0,0106	57,698	59,327	58,512	1,1516
(K,Z) CV72		0,534	0,509	0,5215	0,0177	58,784	56,069	57,427	1,9194	0,575	0,534	0,555	0,029	63,236	58,784	61,01	3,1478
(K,Z) AV120	120	0,644	0,568	0,606	0,0537	70,727	62,476	66,602	5,835	0,641	0,731	0,686	0,0636	70,402	80,174	75,288	6,9098
(K,Z) BV120		0,584	0,575	0,5795	0,0064	64,213	63,236	63,724	0,691	0,533	0,608	0,571	0,053	58,675	66,819	62,747	5,7582
(K,Z) CV120		0,575	0,624	0,5995	0,0346	63,236	68,556	65,896	3,762	0,639	0,621	0,63	0,0127	70,185	68,23	69,207	1,382

Priloga S1: Vpliv intenzitete mehanske poškodbe in časa merjenja na vsebnost (srednja vrednost ± standardni odklon) glukozinolatov v narezanem zelju, skladiščenem pri 8 °C.

Glukozinolati (μmol/100g)	Rezanje (mm)	čas					
		nenarezan	5min	30min	2h	12h	27h
glukobrazicin	0,5	41,1 ± 19	31,8 ± 24	57,0 ± 8,2	62,1 ± 18	48,4 ± 5,1	54,1 ± 14
	2	41,1 ± 19	63,8 ± 22	63,1 ± 13	64,1 ± 12	65,5 ± 11	61,5 ± 25
neoglukobrazicin	0,5	16,0 ± 5,1	9,5 ± 3,0	11,5 ± 1,9	11,6 ± 1,3	10,3 ± 1,6	10,3 ± 1,6
	2	16,0 ± 5,1	14,3 ± 2,7	15,4 ± 2,1	14,8 ± 1,5	14,3 ± 2,5	11,2 ± 3,5
sinigrin	0,5	7,4 ± 3,8	7,8 ± 4,5	11,1 ± 2,7	10,3 ± 2,9	8,8 ± 2,5	11,0 ± 3,8
	2	7,4 ± 3,8	12,0 ± 5,9	13,5 ± 4,7	12,6 ± 4,7	13,4 ± 4,3	11,3 ± 3,7
glukonasturtin	0,5	2,4 ± 1,0	3,1 ± 2,4	5,2 ± 1,3	4,7 ± 1,1	4,2 ± 1,3	4,6 ± 0,6
	2	2,4 ± 1,0	5,5 ± 1,5	5,0 ± 0,8	5,3 ± 1,1	5,5 ± 1,2	5,0 ± 1,6
glukobrazikanapin	0,5	3,2 ± 1,0	6,4 ± 6,8	3,5 ± 0,8	3,1 ± 1,3	2,4 ± 1,4	3,1 ± 1,2
	2	3,2 ± 1,0	2,5 ± 1,3	3,7 ± 0,7	3,3 ± 1,1	3,4 ± 1,1	2,8 ± 0,5
4-hidroksi-glukobrazicin	0,5	1,2 ± 0,4	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,2	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,3
	2	1,2 ± 0,4	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,5
glukoalizin	0,5	0,8 ± 0,8	3,7 ± 3,3	1,0 ± 0,7	1,2 ± 0,8	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,1
	2	0,8 ± 0,8	0,9 ± 0,8	0,8 ± 0,3	0,6 ± 0,4	1,2 ± 1,5	0,6 ± 0,4
progoitrin	0,5	0,4 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,2
	2	0,4 ± 0,2	0,9 ± 0,2	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,5
glukonapin	0,5	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1
	2	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
glukonapoliferin	0,5	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,2
	2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
skupni	0,5	72,6 ± 27	63,9 ± 17	91,2 ± 11	95,0 ± 23	76,3 ± 8,1	85,5 ± 20
	2	72,6 ± 27	101 ± 24	104 ± 11	103 ± 11	106 ± 13	95 ± 34

Priloga S2: Vpliv intenzitete mehanske poškodbe in časa merjenja na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) glukozinolotov v narezanem zelju, skladiščenem pri 20 °C.

Glukozinolati ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)	Rezanje (mm)	čas					
		nenarezan	5min	30min	2h	12h	27h
glukobrazicin	0,5	47,0 $\pm$ 10	25,9 $\pm$ 7,1	42,9 $\pm$ 4,3	51,5 $\pm$ 4,6	38,6 $\pm$ 4,7	26,1 $\pm$ 13
	2	47,0 $\pm$ 10	55,4 $\pm$ 19	64,7 $\pm$ 21	81,7 $\pm$ 26	63,6 $\pm$ 22	60,7 $\pm$ 19
neoglukobrazicin	0,5	23,1 $\pm$ 7,8	9,7 $\pm$ 1,8	11,6 $\pm$ 0,5	13,3 $\pm$ 1,3	7,1 $\pm$ 0,9	8,2 $\pm$ 3,6
	2	23,1 $\pm$ 7,8	16,5 $\pm$ 0,9	18,4 $\pm$ 1,6	20,7 $\pm$ 2,5	14,0 $\pm$ 2,1	21,7 $\pm$ 3,3
sinigrin	0,5	8,3 $\pm$ 3,4	3,3 $\pm$ 0,6	6,4 $\pm$ 1,2	7,6 $\pm$ 0,9	5,1 $\pm$ 1,8	3,5 $\pm$ 0,9
	2	8,3 $\pm$ 3,4	6,7 $\pm$ 2,3	11,7 $\pm$ 3,3	15,6 $\pm$ 2,1	4,9 $\pm$ 0,8	4,2 $\pm$ 1,3
glukonasturtin	0,5	6,8 $\pm$ 2,4	4,9 $\pm$ 1,2	8,2 $\pm$ 3,7	5,8 $\pm$ 1,9	6,0 $\pm$ 1,1	4,4 $\pm$ 1,9
	2	6,8 $\pm$ 2,4	7,7 $\pm$ 1,3	8,0 $\pm$ 2,8	9,6 $\pm$ 3,5	6,7 $\pm$ 2,6	5,8 $\pm$ 2,2
4-hidroksi-glukobrazicin	0,5	1,1 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,3
	2	1,1 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,6	1,5 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,2
glukoalizin	0,5	0,8 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,3
	2	0,8 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,7	1,4 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,9
progoitrin	0,5	0,6 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1
	2	0,6 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,3	1,2 $\pm$ 0,7	1,4 $\pm$ 0,4	0,2 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,2
glukobrazikanapin	0,5	0,6 $\pm$ 0,5	0,4 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,7	0,9 $\pm$ 0,7	0,9 $\pm$ 0,8	0,4 $\pm$ 0,6
	2	0,6 $\pm$ 0,5	0,6 $\pm$ 0,5	1,2 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,7	0,7 $\pm$ 0,6
glukonapoliferin	0,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1
	2	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,2	0,0 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
glukonapin	0,5	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
	2	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
skupni	0,5	89 $\pm$ 11	45,4 $\pm$ 10	71,5 $\pm$ 2,3	81,9 $\pm$ 3,6	59,5 $\pm$ 6,7	44,2 $\pm$ 19
	2	89 $\pm$ 11	89,0 $\pm$ 21	109 $\pm$ 29	133 $\pm$ 32	92,5 $\pm$ 27	95,5 $\pm$ 22

Priloga S3: Vpliv atmosfere, s katero smo vzorce prepihovali na vsebnost (srednja vrednost $\pm$ standardni odklon) glukozinolotov v narezanem zelju, skladiščenem pri 8 °C.

Glukozinolati ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)	atmosfera	čas (h)					
		nenarezan	2	12	24	72	120
glukobrazicin	kisik	65,5 $\pm$ 21	66,5 $\pm$ 12	71,2 $\pm$ 14	93,5 $\pm$ 16	84,4 $\pm$ 12	70,7 $\pm$ 24
	zrak	65,5 $\pm$ 21	57,8 $\pm$ 17	69,5 $\pm$ 5,0	85,1 $\pm$ 19	85,6 $\pm$ 15	81,6 $\pm$ 4,9
sinigrin	kisik	17,0 $\pm$ 10	14,9 $\pm$ 3,9	18,3 $\pm$ 7,0	21,5 $\pm$ 4,7	10,0 $\pm$ 6,0	8,9 $\pm$ 2,3
	zrak	17,0 $\pm$ 10	12,3 $\pm$ 2,6	20,1 $\pm$ 7,0	20,2 $\pm$ 3,2	11,2 $\pm$ 4,3	9,8 $\pm$ 1,4
neoglukobrazicin	kisik	17,6 $\pm$ 2,8	12,4 $\pm$ 1,7	12,5 $\pm$ 1,1	14,8 $\pm$ 1,6	11,6 $\pm$ 1,9	10,3 $\pm$ 1,0
	zrak	17,6 $\pm$ 2,8	11,4 $\pm$ 1,2	11,7 $\pm$ 0,8	16,6 $\pm$ 3,6	12,3 $\pm$ 2,0	11,2 $\pm$ 1,3
4-hidroksi-glukobrazicin	kisik	2,3 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,3	1,1 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,3
	zrak	2,3 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,3	1,2 $\pm$ 0,3	1,2 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,2
glukonasturtin	kisik	7,5 $\pm$ 4,0	7,3 $\pm$ 2,0	6,5 $\pm$ 2,4	8,5 $\pm$ 2,9	6,4 $\pm$ 2,7	4,9 $\pm$ 1,9
	zrak	7,5 $\pm$ 4,0	6,0 $\pm$ 1,2	6,3 $\pm$ 1,3	8,1 $\pm$ 1,6	6,6 $\pm$ 2,3	5,4 $\pm$ 1,2
glukobrazikanapin	kisik	5,4 $\pm$ 1,5	4,0 $\pm$ 0,7	2,9 $\pm$ 1,5	1,9 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,5	2,6 $\pm$ 0,8
	zrak	5,4 $\pm$ 1,5	4,1 $\pm$ 0,7	3,4 $\pm$ 0,8	1,7 $\pm$ 0,7	2,6 $\pm$ 0,7	3,4 $\pm$ 0,9
progoitrin	kisik	2,0 $\pm$ 1,6	1,8 $\pm$ 1,0	1,9 $\pm$ 1,6	1,6 $\pm$ 1,0	1,4 $\pm$ 1,2	1,1 $\pm$ 0,6
	zrak	2,0 $\pm$ 1,6	1,6 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 1,8	1,4 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 1,1	1,3 $\pm$ 0,7
glukoalizin	kisik	0,9 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 0,6	1,1 $\pm$ 0,8	1,8 $\pm$ 1,2	1,1 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,5
	zrak	0,9 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,9	1,2 $\pm$ 1,1	1,0 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,4
glukonapin	kisik	0,7 $\pm$ 0,7	0,7 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,5	0,4 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,2
	zrak	0,7 $\pm$ 0,7	0,5 $\pm$ 0,4	0,6 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,2
glukonapoliferin	kisik	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,2
	zrak	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,2	0,0 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1
skupaj	kisik	119 $\pm$ 18	110 $\pm$ 15	116 $\pm$ 23	145 $\pm$ 23	119 $\pm$ 22	101 $\pm$ 26
	zrak	119 $\pm$ 18	95,6 $\pm$ 17	116 $\pm$ 12	136 $\pm$ 19	122 $\pm$ 23	115 $\pm$ 5,0