

»59. srečanje mladih raziskovalcev Slovenije 2025«

**VPLIV RAZLIČNIH EMBALAŽ NA OBSTOJNOST VITAMINA C V
SADJU**

Raziskovalno področje: Biotehnologija, gozdarstvo,
kmetijstvo ali veterina

Raziskovalna naloga

Avtorja: Stojan Đorđević, Rok Marzidovšek

Mentor: dr. Jure Škraban

Šola: II. gimnazija Maribor

Maribor, februar 2025

KAZALO VSEBINE

Povzetek.....	V
Summary	V
Zahvala.....	VI
1 Uvod.....	1
1.1 Raziskovalna vprašanja	2
1.2 Hipoteze.....	2
2 Teoretično ozadje	3
2.1 Vitamin C	3
2.2 AA oksidaza	4
2.3 Sadje	5
2.4 Oksidativni stres pri rastlinah	6
2.5 Zorenje sadja (fruit ripening)	7
2.6 Posode.....	8
2.6.1 Compactor.....	8
2.6.2 Fresko	8
2.6.3 Full tritan	8
2.7 Uporabljena raziskovalna metoda	9
2.7.1 Titracija z jodovico.....	9
3 MATERIALI IN METODE	10
3.1 Materiali.....	10
3.1.1 Kemikalije	10
3.1.2 Laboratorijski pribor.....	10
3.1.3 Laboratorijske naprave	11
3.1.4 Sadje	11
3.1.5 Posode.....	11
3.2 Metodologija	13

3.2.1	Priprava sadnih sokov in shramba	13
3.2.2	Priprava kontrole	13
3.2.3	Priprava škrobovice	13
3.2.4	Titracija jodovice.....	13
3.2.5	Priprava standardne krivulje vitamina C.....	14
3.2.6	Statistična analiza.....	14
4	REZULTATI	15
4.1	Povprečne vrednosti vitamina C v različnih embalažah	18
4.2	Primerjava med posameznimi posodami	20
4.3	Primerjava med časi inkubacije.....	23
4.4	Primerjava med sadjem.....	24
5	RAZPRAVA	25
6	ZAKLJUČEK.....	29
7	DRUŽBENA ODGOVORNOST	30
8	VIRI IN LITERATURA	31
8.1	Bibliografija	31
8.2	Viri slik.....	34

Kazalo slik

Slika 1: Oksidacija Askorbinske kisline	9
Slika 2: Posode od leve proti desni (Fresko, Full tritan in compactor)	11
Slika 3: Anaerobna posoda z vrečko biomerieux	12

Kazalo tabel

Tabela 1: Število porabljenih kapljic jodovice med titracijo posameznega sadnega soka tekom trajanja poskusa. Vsaka meritev je bila ponovljena trikrat.	15
Tabela 2: Povprečen volumen porabljene jodovice (PPVJ) med titracijo pri treh ponovitvah in standardne deviacije (SD). Ena kapljica iz tabele 1 je imela volumen 47,6 mikrolitrov. Vrednosti so zaokrožene na eno decimalko.	16
Tabela 3: Prikaz statistično pomembnih rezultatov analize primerjave med posameznimi posodami (aerobna, Compactor, Fresko, Full Tritan, anaerobna) pri limoni.	17
Tabela 4: Prikaz statistično pomembnih rezultatov analize primerjave med posameznimi posodami (aerobna, Compactor, Fresko, Full Tritan, anaerobna) pri kiviju	17
Tabela 5: Prikaz statistično pomembnih rezultatov analize primerjave med posameznimi posodami (aerobna, Compactor, Fresko, Full Tritan, anaerobna) pri ananasu	17
Tabela 6: Prikaz rezultatov statistične analize med različnimi vrstami sadja (limona, pomaranča, kivi, ananas, vitamin C)	18
Tabela 7: Prikaz rezultatov statistične analize med različnimi časi inkubacije (72 ur, 168 ur, 240 ur, 336 ur)	18

Kazalo grafov

Graf 1: Standardna krivulja vitamina C, ki prikazuje število kapljic jodovice porabljenih med titracijo v odvisnosti od različnih koncentracij vitamina C (40, 60, 80, 100, 150 in 200 mg/100mL)	14
Graf 2-6: Povprečne koncentracije s standardnimi deviacijami vitamina C (mg/100 mL) pri različnih vrstah sadja (limona, pomaranča, kivi, ananas, vitamin C (0,1 mg/ml)), pri različnih časih inkubacije (0 ur, 72 ur, 168 ur, 240 ur, 336 ur) in različnih posodah	19

Graf 7-11: Povprečne koncentracije vitamina C (mg/100 mL) v vzorcih limoninega soka, inkubiranih pri različnih časih (0 ur, 72 ur, 168 ur, 240 ur, 336 ur) v različnih posodah (Aerobna, Compactor, Fresko, Full Tritan, Anaerobna), v hladilniku pri temperaturi 4°	22
Graf 12: Frekvenčna porazdelitev volumnov dodane jodovice pri titriranju pomarančnega soka, ki je bila shranjena v različnih embalažah.	23
Graf 13: Vpliv časa inkubacije na koncentracijo vitamina C (mg/100 mL), za vse vrste sadja (limona, pomaranča, kivi in ananas) in vse posode (Aerobno, Compactor, Fresko, Full Tritan in Anaerobno) skupaj	24
Graf 14: Primerjava koncentracije vitamina C (mg/100ml) pri različnih vrstah sadja (limona, pomaranča, kivi, ananas)	24

POVZETEK

Vitamin C, poznan tudi kot L-askorbinska kislina, igra v našem telesu pomembno vlogo antioksidanta ter prispeva k normalnemu delovanju imunskega sistema, žil, kosti, dlesni, kože in zob. Raziskovalna naloga se osredotoča na vpliv različnih embalaž na obstojnost vitamina C v sadju skozi čas. Z uporabo titracije jodovice smo analizirali vzorce sokov limone, pomaranče, kivija, jabolka in ananasa, shranjenih v različnih posodah (aerobna, anaerobna, Compactor, Fresko in Full tritan). Rezultati so pokazali, da se koncentracija vitamina C s časom zmanjšuje, pri čemer je razgradnja najhitrejša v aerobni posodi in najpočasnejša v anaerobni posodi. Med testiranimi embalažami se je Full tritan izkazal kot najboljša alternativa anaerobni posodi. Pomarančni sok je imel najvišjo stabilnost vitamina C, kar pripisujemo naravni vsebnosti antioksidantov ter nižji aktivnosti encima AA oksidaze. Raziskovalna naloga tako poudarja pomen pravilne izbire embalaže za zmanjšanje izgube hranil in podaljšanje hranilne vrednosti živil.

SUMMARY

Vitamin C, also known as L-ascorbic acid, plays an important role in our body as an antioxidant and contributes to the normal functioning of the immune system, blood vessels, bones, gums, skin, and teeth. The research paper focuses on the impact of different packaging on the stability of vitamin C in fruit over time. Using iodine titration, we analyzed samples of lemon, orange, kiwi, apple, and pineapple juices stored in various containers (aerobic, anaerobic, Compactor, Fresko, and Full Tritan). The results showed that the concentration of vitamin C decreases over time, with the degradation being fastest in the aerobic container and slowest in the anaerobic container. Among the tested packaging options, Full Tritan proved to be the best alternative to the anaerobic container. Orange juice exhibited the highest vitamin C stability, which we attribute to its natural antioxidant content and lower activity of the AA oxidase enzyme. The research paper thus highlights the importance of choosing the right packaging to minimize nutrient loss and extend the nutritional value of food.

ZAHVALA

Rada bi se zahvalila mentorju za vso pomoč in podporo pri izdelavi najine raziskovalne naloge, uporabne smernice in ves čas, ki ga je namenil najini raziskovalni nalogi. Zahvalila bi se rada tudi laborantki za njeno strokovno pomoč pri pripravi in izvedbi eksperimenta ter za uporabo laboratorijskih pripomočkov.

1 UVOD

Vitamin C, znan tudi kot L-askorbinska kislina, ima v telesu pomembno vlogo pri delovanju imunskega sistema, sodeluje v procesu tvorbe kolagena, ki je potreben za normalno delovanje žil, kosti, hrustanca, dlesni, kože in zob, znana pa je tudi njegova antioksidativna vloga, kar pomeni, da ščiti strukture v telesu pred oksidativnim stresom. Vitamin C obenem prispeva k normalnemu delovanju živčnega sistema in zmanjšani utrujenosti oz. izčrpanosti. Pomemben je tudi pri absorpciji in metabolizmu hranil. Tako npr. podpira absorpcijo železa, prav tako pa tudi podpira obnovo reducirane (delujoče) oblike vitamina C. Zaradi vseh funkcij v našem telesu je ta vitamin izrednega pomena za ohranjanje našega zdravja, pri čemer je potrebno dodati, da ga večina prebivalcev že z običajno prehrano zaužije dovolj, tako da dodajanje s prehranskimi dopolnili običajno ni potrebno. (Prehrana.si, 2016).

Vitamin C, ali askorbinska kislina, je znan po svojih antioksidativnih lastnostih in je ključnega pomena za zdravje človeka, vendar je hkrati zelo občutljiv na različne dejavnike okolja, kot so svetloba, temperatura, kisik in pH (Giannakourou & Taoukis, 2021). Degradacija tega vitamina v sadju je torej naraven proces, na katerega lahko močno vplivajo načini in pogoji shranjevanja. Namen te raziskave je preučiti razlike v količini in dinamiki spreminjanja koncentracije vitamina C pri različnih vrstah sadja, shranjenega v različnih posodah skozi daljše časovno obdobje. Določiti želimo, kako se koncentracija vitamina C v sadju spreminja v različnih vrstah posod, ki so pogosto uporabljeni za shranjevanje hrane. To bo pomagalo razumeti, kako različni tipi posod za shranjevanje živil (s črpalko ali brez), vplivajo na stabilnost vitamina C. Drugič, z raziskovanjem časovne dimenzije želimo opazovati hitrost in vzorec degradacije vitamina C, kar bo omogočilo določiti primeren čas hranjenja preizkušenih vrst sadja v testiranih posodah in prispevalo k boljši praksi shranjevanja hrane v gospodinjstvih in industriji. Rezultati bi lahko služili kot podlaga za priporočila, kako lahko potrošniki in proizvajalci hrane optimizirajo shranjevalne pogoje, da bi podaljšali svežino in hranilno vrednost sadja. Poleg tega bi naša raziskava lahko prispevala k širšemu razumevanju interakcij med hranili v hrani in zunanjimi dejavniki, kar bi lahko vodilo v izbiro primernejših načinov shranjevanja in razvoja boljših embalaž za shranjevanje svežih živil, ki vsebujejo občutljiva hranila in tako je pomembno prispevala k napredku v živilstvu in promociji zdrave prehrane.

1.1 Raziskovalna vprašanja

Z nalogo smo želeli odgovoriti na naslednja vprašanja:

1. Kako se koncentracija vitamina C (mg/100 ml) v sadnem soku (ananas, jabolko, kivi, limona in pomaranča), shranjenem v različnih posodah (aerobna odprta posoda, anaerobna posoda, Compactor, Fresko in Full tritan), spreminja s časom (0, 72, 168, 240 in 336 ur)?
2. Ali se hitrost padanja koncentracije vitamina C skozi čas razlikuje pri različnih vrstah sadja?
3. Katera izmed testiranih posod je najprimernejša za dolgoročno shranjevanje sadja?

1.2 Hipoteze

- 1 Koncentracija vitamina C se bo s časom v vseh vzorcih zmanjšala, pri čemer bo koncentracija vitamina C najbolj padla pri sadju hranjenem v aerobni posodi, najmanj pa pri sadju hranjenem v anaerobni posodi.
- 2 Hitrost padanja koncentracije vitamina C se bo razlikovala med različnimi vrstami sadja.
- 3 Za dolgoročno shranjevanje sadja je najprimernejša anaerobna posoda.

2 TEORETIČNO OZADJE

2.1 Vitamin C

Vitamin C, znan tudi kot L-askorbinska kislina, je vodotopen vitamin, ki je prisoten v nekaterih živilih. Je nujna sestavina naše vsakdanje prehrane, saj ga za razliko od večine ostalih živalih sami ne moremo sintetizirati (Li & Schellhorn, 2007). Vitamin C je izjemno pomemben za biosintezo kolagena, L-karnitina, določenih nevrotransmiterjev, sodeluje pri zgradbi vezivnega tkiva ter ključno sodeluje pri celjenju ran. Je prav tako zelo pomemben antioksidant, poleg tega pa ima pomembno vlogo pri delovanju imunskega sistema ter izboljšuje absorpcijo železa (Carr & Frei, 1999; Frei idr., 1989; Gershoff, 1993).

Vitamin C se nahaja večinoma v svežem sadju in zelenjavi, predvsem v citrusih (pomaranče, grenivke in limone), jagodičevju (jagode in ribez) pa tudi v kiviju, češnjah, ananasu, meloni, lubenici in papaji (Office of Dietary Supplements - Vitamin C, n.d.). Glede na to, da človeško telo samo ne proizvaja vitamina C, je priporočeni dnevni vnos približno 80 mg/dan, kar pa je možno doseči z ustrežno prehrano (Regulation: No 1169/2011 of the European Parliament... - Google Scholar, n.d.). Ta vrednost seveda varira glede na spol, starost in življenjski slog posameznika. Kot navedeno zgoraj je vitamin C znan kot askorbinska kislina (L-enantiomer), ki je sestavljena iz šestih ogljikovih atomov, na 2. in 3. pa ima vezano še enediolno skupino. Askorbinska kislina ima kar 4 izomere, izmed katerih pa je le en aktiven v našem telesu, in to je L-askorbinska kislina (znana tudi kot vitamin C). Ostali izomeri te kisline so D-askorbinska kislina, L-izoaskorbinska kislina in D-izoaskorbinska kislina, ki pa se uporabljajo predvsem kot antioksidanti in konzervansi, saj zmanjšajo vpliv kisika na hrano, ki jo shranjujemo (Capino & Faruq, 2024).

V znanstveni literaturi obstaja veliko študij o različnih načinih razgradnje vitamina C v kompleksnih živilih ter o dejavnikih, ki imajo največji vpliv pri takšni razgradnji. Razgradnja askorbinske kisline v sistemih z visoko vodno aktivnostjo in prisotnostjo kisika temelji na njeni oksidaciji v dehidroaskorbinsko kislino, ki na koncu razpade še na 2,3-diketogulonsko kislino (Al Fata idr., 2018; Nemet & Monnier, 2011; Washko idr., 1992). Ugotovljeno je bilo, da povečanje vodne aktivnosti in prisotnost Fe^{3+} ionov pospešuje razgradnjo askorbinske kisline,

medtem, ko pa aminokislina cistein povzroča obraten proces (ponovno formacijo vitamina C) (Herbig & Renard, 2017). Askorbinska kislina se lahko prav tako razgradi po anaerobni poti, pri čemer se tvori 2,3-diketogulonska kislina. Pri tej poti se askorbinska kislina razgradi brez predhodne oksidacije, kar pomeni, da dehidroaskorbinska kislina ne nastane (Peleg, 2017). Na stabilnost vitamina C v živilih najbolj vplivajo pH, svetloba, temperatura, koncentracija kovinskih ionov, kisik in razgradni encimi (Giannakourou & Taoukis, 2021). V pH območju med 2 in 4 je bila izmerjena najvišja stabilnost vitamina C (Giannakourou & Taoukis, 2021). Prav tako lahko povišana koncentracija CO₂ upočasni razgradnjo vitamina C (Mastrandrea idr., 2017). Izguba vitamina C se pospeši zaradi encima askorbinska peroksidaza (AA peroksidaza) (Zerdin idr., 2003). Po drugi strani pa obstajajo številni dejavniki, ki vitamin C ščitijo pred njegovo oksidacijo, na primer prisotnost določenih skupin fenolov in sladkorjev, ki zmanjšujejo topnost kisika in njegovo dostopnost ter s tem izboljšajo ohranjanje vitamina C (Herbig & Renard, 2017).

Vitamin C je zelo nestabilen in izjemno občutljiv na svetlobo in toploto, saj lahko izjemno hitro pride do njegove razgradnje med kuhanjem ter oksidacije med izpostavljanjem vitamina C zraku (Valter Longo Foundation, 2021). Sprememba koncentracije vitamina C ne poteka linearno, ampak se hitrost padanja koncentracije s časom upočasni (Van Bree idr., 2012).

2.2 AA oksidaza

AA Oksidaza ali askorbinska oksidaza je encim, ki katalizira oksidacijo askorbinske kisline oz. vitamina C v L-dehidroaskorbinsko kislino ob prisotnosti kisika. Encim vsebuje minimalno 4 bakrove atome, pojavlja pa se predvsem v apoplazmi celične stene. Biosinteza tega encima je odvisna od prisotnosti bakra v sadju, saj se aktivnost le njega zmanjša pri rastlinah z nižjo vsebnostjo bakra. Tako lahko AA Oksidaza regulira hitrost razgradnje in tako koncentracijo vitamina C v sadju (Cakmak idr., 2023).

Delovanje AA oksidaze je odvisna od pogojev, v katerih se nahaja. Encim ima temperaturni optimum pri temperaturi 40°C, vendar se encimska aktivnost vstran od optimuma hitro zmanjša. Na njegovo aktivnost močno vpliva tudi pH. Največja je v pH območju od 5 do 7, z

optimumom pri vrednosti 5, izven tega območja pa se aktivnost zmanjšuje (*Ascorbate Oxidases - Creative Enzymes*, n.d.).

Na ASPB (American society of plant biology) so prav tako izvedli raziskavo pri kateri so ugotavljali aktivnost AA Oksidaze v citrusih in ugotovili, da je le ta v pomaranči zanemarljiva (Vines & Oberbacher, 1963).

2.3 Sadje

Pri testiranem sadju nas je predvsem zanimala količina vitamina C in prisotnost dejavnikov, ki vplivajo na stabilnost askorbinske kisline. Informacije o hranilni sestavi vseh spodaj naštetih vrst sadja smo poiskali na USDA Agricultural Research Service (USDA FoodData Central Food Details, n.d.)

Limona je zelo znana po svoji vsebnosti vitamina C in kislosti. pH vrednost limoninega soka je med 2.2 in 2.6 (Clemson University, n.d.).

Na 100 g sadnega mesa vsebuje:

- vitamin C (53,00 mg),
- železo (Fe) (0,60 mg),
- baker (Cu) (0,037 mg).

Pomaranča ima pH vrednost med 3.69 in 4.34 (Clemson University, n.d.).

Na 100 g sadnega mesa vsebuje:

- vitamin C (59,10 mg),
- železo (Fe) (0,33 mg),
- baker (Cu) (0,064 mg).

Zeleni kivi (*Actinidia deliciosa*) je sadje z izvorom v vzhodni Kitajski. Vsebnost vitamina C v zelenem kiviju variira med 80 in 120 mg na 100 g sadnega mesa. Naravna razlika v koncentraciji je posledica številnih dejavnikov, kot so rastna regija, uporaba gnojil, zrelost sadežev ob nabiranju, čas nabiranja, skladiščenja in zorenja sadja (Lee & Kader, 2000). Kivi je zelo kislo sadje, saj se njegova pH vrednost giblje med 3.1 in 4.0 (Strik idr., 2021).

Na 100 g sadnega mesa vsebuje:

- vitamin C (92,70 mg),
- železo (Fe) (0,31 mg),
- baker (Cu) (0,13 mg).

Jabolko ima pH vrednost med 3.3 in 4.0 (Clemson University, n.d.).

Na 100 g sadnega mesa vsebuje:

- vitamin C (4,60 mg),
- železo (Fe) (0,12 mg),
- baker (Cu) (0,027 mg).

Ananas ima pH vrednost ananasa med 3.20 in 4.00 (Clemson University, n.d.).

Na 100 g sadnega mesa ima:

- vitamin C (47,8 mg),
- železo (Fe) (0,11 mg),
- baker (Cu) (0,29 mg).

2.4 Oksidativni stres pri rastlinah

Oksidativni stres je biološko stanje, ki nastopi, ko pride do neravnovesja med reaktivnimi kisikovimi vrstami (ROS), kot so prosti radikali (npr. superoksid, hidroksil) ali ne-radikalske reaktivne spojine (npr. vodikov peroksid) in antioksidativnimi obrambnimi mehanizmi. V sadju ROS nastajajo kot stranski produkt normalnih presnovnih procesov (npr. celično dihanje in fotosinteza) ali pa zaradi zunanjih stresnih dejavnikov (mehanske poškodbe, npr. rezanje, stiskanje, izpostavljenost svetlobi, temperaturne spremembe, izpostavljenost patogenom in izpostavljenost abiotičnem stresu (npr. suša)) (Apel & Hirt, 2004).

Za pomaranče je značilna izjemno visoka aktivnost antioksidantov, med drugim tudi vitamina C, ki velja za enega najpomembnejših antioksidantov v tem sadju. Prav tako so pomaranče izjemno bogate s flavonoidi, kot so hesperidin in naringin, ki imajo poleg antioksidativnih lastnosti tudi protivnetne in kardioprotektivne učinke. Vsebujejo tudi karotenoide (npr. beta karoten), ki prav tako pomagajo pri zaščiti celic pred poškodbami zaradi oksidativnega stresa (Park idr., 2014).

2.5 Zorenje sadja (fruit ripening)

Zorenje sadja ali fruit ripening je niz procesov, ki se zgodijo pri poznejših fazah rasti in razvoja sadja do trenutka, ko je sadež pripravljen za uživanje. Zorenje povzroči spremembe v kakovostnih značilnostih sadeža. Trdota sadeža in koncentracije raznih kislin prisotnih v sadju se zmanjšajo, vsebnost sladkorja pa naraste. Medtem se tudi sprostito hlapne snovi, na koncu pa se posledično razvije pravi okus sadeža. Barva sadežev prav tako potemni, saj zelena osnova zbledi. Hormon, ki igra pomembno vlogo pri spodbujanju procesa zorenja pri mnogih sadežih je etilen. Nezreli sadeži običajno vsebujejo nizke ravni etilena. Proizvodnja etilena se po obiranju še naprej povečuje, kar pomeni, da lahko sadež zori tudi med skladiščenjem po obiranju, kar v angleškem jeziku imenujemo postharvest ripening. To je proces zorenja sadja tudi po tem, ko je že bil utrgan z drevesa (Capino & Farcuh, 2024).

Post harvest ripening se lahko zgodi pri nekaterih vrstah sadja. Sadje pri katerem se to pojavlja je: kivi, banane, kakiji, mango, jabolka, papaja, itd... Na primer pri citrusih se to redko pojavi, vendar pa je možno, kar navaja vir (Four Winds Growers, n.d.).

Postopno povečanje izpostavljenosti etilena se uporablja večinoma za zorenje citrusov, ki rastejo v tropskih območjih, da dosežejo svojo komercialno zrelost. Po obiranju sadeža se tako izvaja postopek "ethylene degreening", da bi spremenili barvo sadeža v običajno rumeno ali oranžno barvo. Ta postopek vključuje 24-72 urno izpostavljanje citrusnih sadežev atmosferi, ki vsebuje 2-5 ppm etilenskega plina, pri temperaturah 20-23°C in visoki relativni vlažnosti nad 92%. Izpostavljanje etilenu se lahko pojavi tudi naravno, ko sadež po obiranju začne sam

proizvajati etilen. Proizvodnja etilena pa je močno povezana z aktivnostjo encima GPP (L-galactose-1-phosphate phosphatase), saj etilen aktivnost encima GPP poveča. Encim GPP pa je ključen pri sintezi askorbinske kisline oz. vitamina C. Med izpostavitvijo etilenu lahko celice sadja trpijo tudi oksidativne poškodbe. Vitamin C pa deluje kot antioksidant, ki celice pred temi poškodbami ščiti. Posledično se lahko pri postopku “ethylene degreeing” pojavi tudi zvišana koncentracija vitamina C skozi čas (Chaudhary idr., 2015). Podobno so opazili tudi pri raziskavi na University of KwaZulu-Natal, kjer so preverjali dejavnike, ki vplivajo na koncentracijo vitamina C v sadju po obiranju. Mditshwa in sod. 2017 so poročali o zvišanju koncentracije vitamina C pri citrusih po postopku “ethylene degreeing”.

2.6 Posode

2.6.1 Compactor

Compactor posoda je posoda za shranjevanje hrane. Je iz prozorne plastike z belo obarvanim plastičnim pokrovom (slika 2).

2.6.2 Fresko

Fresko posoda je vakuumska posoda za shranjevanje sadja in zelenjave, pred pripravljenih obrokov in ostankov hrane. Narejena je iz polipropilena, lahek in odporen material, pokrovi pa so stekleni. Posodo postane neprepustna že s pritiskom, lahko pa zrak izčrpamo tudi s vakuumsko črpalko (slika 2).

<https://www.status.si/izdelek/fresko-vakuumska-posoda-09-litra/>

2.6.3 Full tritan

Full tritan vakuumske posode so namenjene vakuumskemu shranjevanju hrane. V celoti je narejena iz plastike tritan, visoko kakovostne plastike, ki se od drugih plastičnih materialov razlikuje po transparentnosti in izredni vzdržljivosti. Zaradi tega jo lahko uporabimo nekaj let,

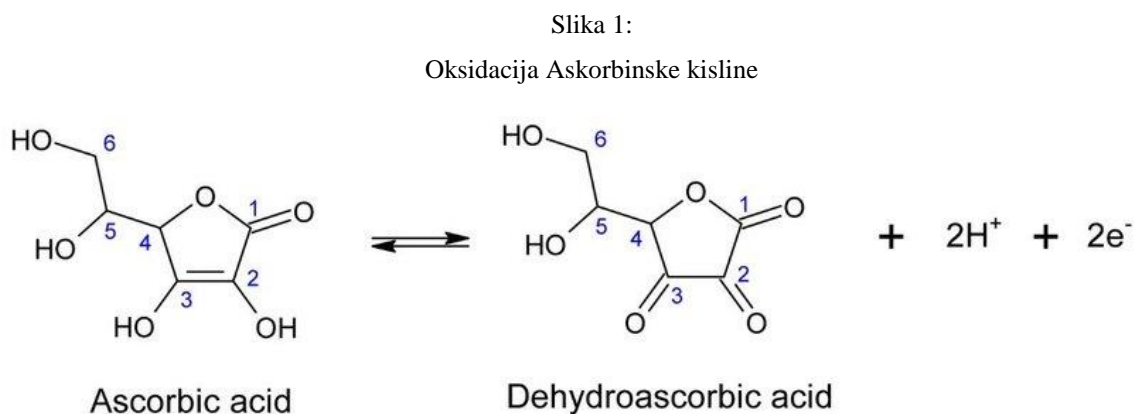
tudi več generacij. Posoda ima zeleni indikator za vakuum, ki nam pokaže, kdaj je v posodi vzpostavljen zadosten podtlak (slika 2).

<https://www.status.si/izdelek/full-tritan-vakuumska-posoda-05-litra/>

2.7 Uporabljen raziskovalna metoda

2.7.1 Titracija z jodovico

Titracija jodovice je metoda, s katero smo določili koncentracijo vitamina C v posameznem soku iztisnjene sadja, je temeljila na titraciji jodovice (1,8 g joda in 5 g kalijevega jodida na liter) s sokom. Ko jodovico dodamo tekočini, ki vsebuje vitamin C, le ta povzroči oksidacijo L-askorbinske kisline v dehidroaskorbinsko kislino, medtem ko se jodovica reducira v jodidne ione dokler je L-askorbinska kislina še prisotna v vzorcu. Ko vsa L-askorbinska kislina oksidira, začne odvečna jodovica reagirati z škrobom, kar tvori temno moder kompleks. Ko se vzorec obarva temno modro je dosežena, končna točka titracije. (How to Measure the Amount of Vitamin c in Fruits - Google Search, n.d.)



(https://www.researchgate.net/figure/Oxidation-mechanism-of-vitamin-C-L-ascorbic-acid_fig2_34291806)

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Materiali

3.1.1 Kemikalije

- Destilirana voda
- Jodovica (1,8 g joda in 5 g kalijevega jodida na liter)
- Škrob (1 %, w/v)
- Vitamin C

3.1.2 Laboratorijski pribor

- Avtomatske pipete Transferpette S (1-10 mL, 0,1-1 mL) in sterilni nastavki za pipete (1-10 mL, 0,1-1 mL)
- Epruvete (za eno meritev 90x10 mL)
- Filter papir (Melita)
- Čaše (1000 mL, 500 mL, 250 mL, 200mL)
- Kapalka
- Gorilnik
- Ročni ožemalnik
- Ribež
- Steklana palčka
- Sterilne rokavice
- Vrečka za ustvarjanje anaerobnega okolja (bioMerieux)

3.1.3 Laboratorijske naprave

- Elektronska tehtnica (Kern, do 1000 g, natančnost na 0,01 g)
- Hladilnik (4°C, Gorenje)

3.1.4 Sadje

- Ananas (SPAR)
- Jabolka (SPAR)
- Kivi (SPAR)
- Limona (SPAR)
- Pomaranča (SPAR)

3.1.5 Posode

- Compactor
- Fresko
- Full tritan (posoda s vakuumsko črpalko)

Slika 2:

Posode od leve proti desni (Fresko, Full tritan in compactor)



(lasten vir).

- Anaerobna posoda z vrečko

Slika 3:

Anaerobna posoda z vrečko Biomeriux



(lasten vir).

3.2 Metodologija

3.2.1 Priprava sadnih sokov in shramba

Limonin, pomarančni in kivijev sok smo iztisnili s pomočjo ročnega ožemalnika, jabolčni in ananasov pa s pomočjo ribeža. Vse sokove smo nato prefiltrirali s pomočjo filter papirja. Sokove smo nato enakomerno razdelili v enake čaše (5 čaš za vsako posodo; aerobna, compactor, Fresko, Full tritan in anaerobna). Vse vzorce sokov smo med meritvami hranili v hladilniku pri stalni temperaturi 4°C.

3.2.2 Priprava kontrole

Raztopino vitamina C smo pripravili tako, da smo v merilni valj dali 1 g vitamina C in nato dolili 100 mL destilirane vode (10 mg/ml). Raztopino smo nato 10-krat redčili do končne koncentracije 1 mg/ml. Raztopino vitamina C smo hranili pod enakimi pogoji kot sadne sokove (v hladilniku pri stalni temperaturi 4°C).

3.2.3 Priprava škrobovice

Raztopino škrobovice smo pripravili tako, da smo k enemu gramu škroba dolili 100 mL destilirane vode (1% raztopina). Raztopino smo segrevali do vrenja in ohladili. Svežo raztopino škrobovice smo pripravili vsake 3 dni.

3.2.4 Titracija jodovice

Meritve smo opravljali na vsakih 72 ali 96 ur. V vsako epruveto smo nalili 1 ml soka oz. raztopino vitamina C (izvedli smo tri ponovitve za posamezno sadje oz. vitamin C, v posamezni posodi) in ji s pomočjo kapalka dodali eno kapljico škrobovice. Nato smo v epruveto s kapalko dodajali kapljice jodovice, dokler se raztopina soka in škrobovice ni obarvala temno modro. Rezultat titracije smo najprej zabeležili kot število dodanih kapljic jodovice. To smo nato

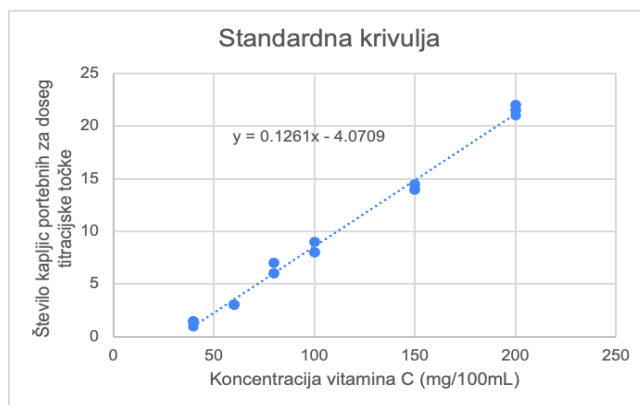
pretvorili v volumen porabljene jodovice, saj smo empirično volumen ene kapljice izmerili z avtomatsko pipeto (1 kapljica jodovice je imela povprečen volumen 47,6 mikrolitrov).

3.2.5 Priprava standardne krivulje vitamina C

Standardno krivuljo vitamina C smo pripravili, da smo dobili povezavo med porabljenim volumnom jodovice in koncentracijo vitamina C. Za standardno krivuljo smo si pripravili naslednje koncentracije raztopine vitamina C (40, 60, 80, 100, 150, 200 in 250 mg/100 mL) in raztopine titrirali z jodovico na enak način kot sadne sokove. S pomočjo meritev smo pridobili krivuljo (graf 1) in enačbo premice uporabili za izračun koncentracije vitamina C v sokovih.

Graf 1:

Standardna krivulja vitamina C, ki prikazuje število kapljic jodovice porabljenih med titracijo v odvisnosti od različnih koncentracij vitamina C (40, 60, 80, 100, 150 in 200 mg/100 mL)



(lasten vir).

3.2.6 Statistična analiza

Podatke, ki smo jih pridobili z opravljenimi meritvami, smo statistično predelali in grafično prikazali s programoma Jamovi in Excel. Za primerjanje podatkov smo v programu Jamovi uporabili Kruskal-Wallis neparametrični test, za računanje povprečij oziroma aritmetičnih sredin in standardnih deviacij smo si pomagali z Excelom. Pare skupin pri posamezni statistični analizi smo primerjali z Dwass-Steel-Critchlow-Fligner pairwise comparison testom.

4 REZULTATI

Z metodo titracije jodovice v raztopine sadnih sokov in škrobovice smo določili koncentracijo vitamina C v posameznem soku in spremljali kako je koncentracija vitamina C v sokovih in čisti raztopini vitamina C tekom inkubacije padala. Spodnje preglednice prikazujejo neobdelane (tabela 1) in obdelane podatke (tabela 2).

Tabela 1:
Število porabljenih kapljic jodovice med titracijo posameznega sadnega soka tekom trajanja poskusa. Vsaka meritev je bila ponovljena trikrat.

Čas inkubacije (ure)	Posoda	Limona	Pomaranča	Kivi	Jabolko	Ananas	Vitamin C
0	Aerobno	10,11,10	21,22,23	9,9,8	1,1,1	17,17,16	20,18,19
72	Aerobno	9,9,9	21,22,19	6,5,6	-	9,8,8	18,19,18
72	Compactor	9,8,8	21,21,21	7,7,6	-	10,11,10	17,17,15
72	Fresko	9,9,9	17,20,19	7,8,6	-	9,11,9	19,18,18
72	Full tritan	8,9,8	20,21,20	7,7,7	-	11,11,10	16,17,16
72	Anaerobno	10,10,10	18,21,20	8,8,7	-	11,11,12	18,18,17
168	Aerobno	5,6,5	19,18,19	4,5,4	-	5,5,5	16,16,15
168	Compactor	6,5,6	20,19,19	6,4,5	-	8,7,8	17,16,16
168	Fresko	8,7,7	21,20,18	5,4,4	-	6,7,6	15,15,15
168	Full tritan	11,8,8	21,21,20	6,5,6	-	9,8,8	19,17,17
168	Anaerobno	11,11,10	19,21,20	7,6,7	-	10,10,10	18,17,18
240	Aerobno	5,4,5	17,18,17	4,4,3	-	5,3,4	15,16,15
240	Compactor	4,4,5	18,19,18	4,4,3	-	6,5,6	16,15,15
240	Fresko	5,6,4	19,18,18	4,4,4	-	6,4,4	15,14,15
240	Full tritan	7,8,8	21,20,20	5,5,6	-	7,6,7	16,17,16
240	Anaerobno	10,11,11	20,20,19	6,6,6	-	8,9,8	16,17,17
366	Aerobno	2,3,2	17,17,16	1,1,1	-	2,3,3	13,14,13
366	Compactor	2,2,2	18,17,16	3,3,2	-	4,3,4	14,14,14
366	Fresko	3,4,3	20,17,17	4,3,3	-	3,4,4	12,13,13
366	Full tritan	5,4,4	18,19,18	4,4,5	-	4,3,5	16,15,16
366	Anaerobno	6,6,7	22,21,21	6,6,7	-	4,5,5	13,14,13

(lasten vir).

Tabela 2:

Povprečen volumen porabljene jodovice (PPVJ) med titracijo pri treh ponovitvah in standardne deviacije (SD).
Ena kapljica iz tabele 1 je imela volumen 47,6 mikrolitrov. Vrednosti so zaokrožene na eno decimalno.

Čas Inkubacije (ure)	Posode	Limona		Pomaranča		Kivi		Ananas		Vitamin C	
		PVPJ	SD	PVPJ	SD	PVPJ	SD	PVPJ	SD	PVPJ	SD
0	Aerobno	491,9	27,5	1047,2	47,6	412,5	27,5	793,3	27,5	904,4	47,6
72	Aerobno	428,4	0,0	983,7	72,7	269,7	27,5	396,7	27,5	872,7	27,5
72	Compactor	396,7	27,5	999,6	0,0	317,3	27,5	491,9	27,5	777,5	55,0
72	Fresko	428,4	0,0	888,5	72,7	333,2	47,6	460,1	55,0	872,7	27,5
72	Full tritan	396,7	27,45	967,9	27,5	333,2	0,0	507,7	27,5	777,5	27,5
72	Anaerobno	476,0	0,0	936,1	72,7	364,9	27,5	539,5	27,5	840,9	27,5
168	Aerobno	253,9	27,5	888,5	27,5	206,3	27,5	238,0	0,0	745,7	27,5
168	Compactor	269,7	27,5	920,3	27,5	238,0	47,6	364,9	27,5	777,5	27,5
168	Fresko	349,1	27,5	936,1	72,7	206,3	27,5	301,5	27,5	714,0	0,0
168	Full tritan	428,4	82,4	983,7	27,5	269,7	27,5	396,7	27,5	840,9	54,5
168	Anaerobno	507,7	27,5	952,0	47,6	317,3	27,5	476,0	55,0	840,9	27,5
240	Aerobno	222,1	27,5	825,1	27,5	174,5	27,5	190,4	47,6	729,9	27,5
240	Compactor	206,3	27,5	872,7	27,5	174,5	27,5	269,7	27,5	729,9	27,5
240	Fresko	238,0	47,6	872,7	27,5	190,4	0,0	222,1	55,0	698,1	27,5
240	Full tritan	364,9	27,5	967,9	27,5	253,9	47,6	317,3	27,5	777,5	27,5
240	Anaerobno	507,7	27,5	936,1	27,5	285,6	0,0	396,7	27,5	793,3	27,5
366	Aerobno	111,1	27,5	793,3	27,5	47,6	0,0	111,1	27,5	634,7	27,5
366	Compactor	95,2	0,0	809,2	47,6	126,9	27,5	174,5	27,5	666,4	0,0
366	Fresko	158,7	27,5	856,8	82,4	158,7	27,5	174,5	27,5	602,9	27,5
366	Full tritan	206,3	27,5	872,7	27,5	206,3	27,5	190,4	47,6	745,7	27,5
366	Anaerobno	301,5	27,5	1015,5	27,5	301,5	27,5	206,3	27,5	634,7	27,5

(lasten vir).

Tabele 3-7 prikazujejo rezultate statistične analize (primerjava med posameznimi posodami (aerobna, Compactor, Fresko, Full tritan, anaerobna) pri določeni vrsti sadja (limona, pomaranča, ananas, kivi, vitamin C), primerjavo med različnimi vrstami sadja (limona, pomaranča, ananas, kivi, vitamin C) ter primerjavo med različnimi časi inkubacije (0 ur, 72 ur, 168 ur, 240 ur in 336 ur).

Tabela 3:

Prikaz statistično pomembnih rezultatov analize primerjave med posameznimi posodami (aerobna, Compactor, Fresko, Full tritan, anaerobna) pri limoni.

Metoda	Primerjane skupine	Stopnje svobode (df)	p-vrednost
Kruskal-Wallis	Aerobno/Anaerobno	4	0.003
Kruskal-Wallis	Compactor/Anaerobno	4	0.003
Kruskal-Wallis	Fresko/Anaerobno	4	0.014

(lasten vir).

Pri pomaranči statistično pomembnih rezultatov analize primerjave med posameznimi posodami ni bilo.

Tabela 4:

Prikaz statistično pomembnih rezultatov analize primerjave med posameznimi posodami (aerobna, Compactor, Fresko, Full tritan, anaerobna) pri kiviju

Metoda	Primerjane skupine	Stopnje svobode (df)	p-vrednost
Kruskal-Wallis	Aerobno/Anaerobno	4	<0.01
Kruskal-Wallis	Fresko/Anaerobno	4	0.025
Kruskal-Wallis	Compactor/Anaerobno	4	0.025

(lasten vir).

Tabela 5:

Prikaz statistično pomembnih rezultatov analize primerjave med posameznimi posodami (aerobna, Compactor, Fresko, Full tritan, anaerobna) pri ananasu

Metoda	Primerjane skupine	Stopnje svobode (df)	p-vrednost
Kruskal-Wallis	Aerobno/Anaerobno	4	0.045

(lasten vir).

Pri vitaminu C statistično pomembnih rezultatov analize primerjave med posameznimi posodami ni bilo.

Tabela 6:

Prikaz rezultatov statistične analize med različnimi vrstami sadja (limona, pomaranča, kivi, ananas, vitamin C)

Metoda	Primerjane skupine	Stopnje svobode (df)	p-vrednost
Kruskal-Wallis	limona/pomaranča	4	<0.001
Kruskal-Wallis	limona/kivi	4	0.006
Kruskal-Wallis	limona/vitamin C	4	<0.001
Kruskal-Wallis	pomaranča/kivi	4	<0.001
Kruskal-Wallis	pomaranča/ananas	4	<0.001
Kruskal-Wallis	pomaranča/vitamin C	4	<0.001
Kruskal-Wallis	kivi/ananas	4	0.010
Kruskal-Wallis	kivi/vitamin C	4	<0.001
Kruskal-Wallis	ananas/vitamin C	4	<0.001

(lasten vir).

Tabela 7:

Prikaz rezultatov statistične analize med različnimi časi inkubacije (72 ur, 168 ur, 240 ur, 336 ur)

Metoda	Primerjane skupine	Stopnje svobode (df)	p-vrednost
Kruskal-Wallis	72 ur/240ur	3	0.002
Kruskal-Wallis	72 ur/336 ur	3	<0.001
Kruskal-Wallis	168 ur/240 ur	3	<0.001
Kruskal-Wallis	168 ur/336 ur	3	0.031

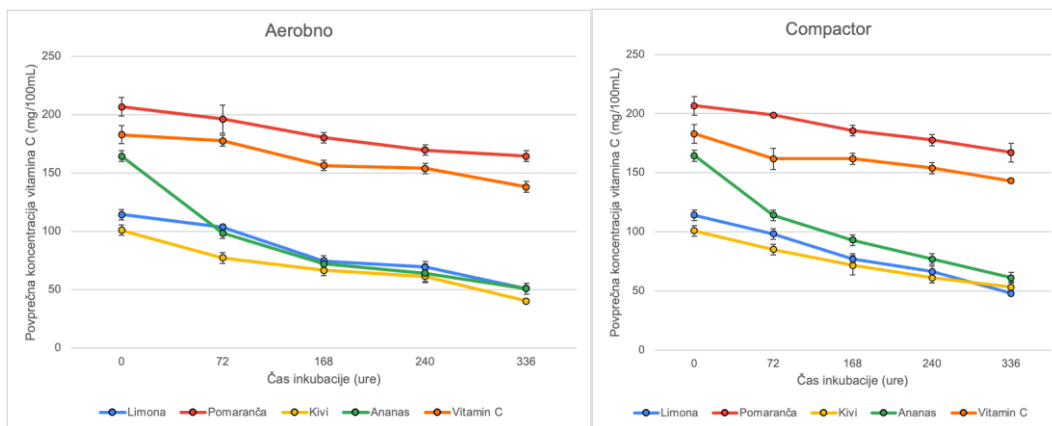
(lasten vir).

4.1 Povprečne vrednosti vitamina C v različnih embalažah

Iz grafov 2, 3, 4, 5 in 6 je razvidno, da se koncentracija vitamina C v vsaki posodi in pri vsaki vrsti sadja zmanjšuje s časom, vendar je hitrost padanja odvisna od posamezne vrste sadja. Pomaranči se koncentracija v vseh posodah drastično ne spremeni, kar sklepamo iz naklona krivulje, ki je dokaj majhen. Podoben trend lahko opazimo pri čisti raztopini vitamina C, medtem ko pri ananasu koncentracija vitamina C v vseh posodah hitro pade, pri čemer je hitrost padanja najhitrejša v prvih 72 urah.

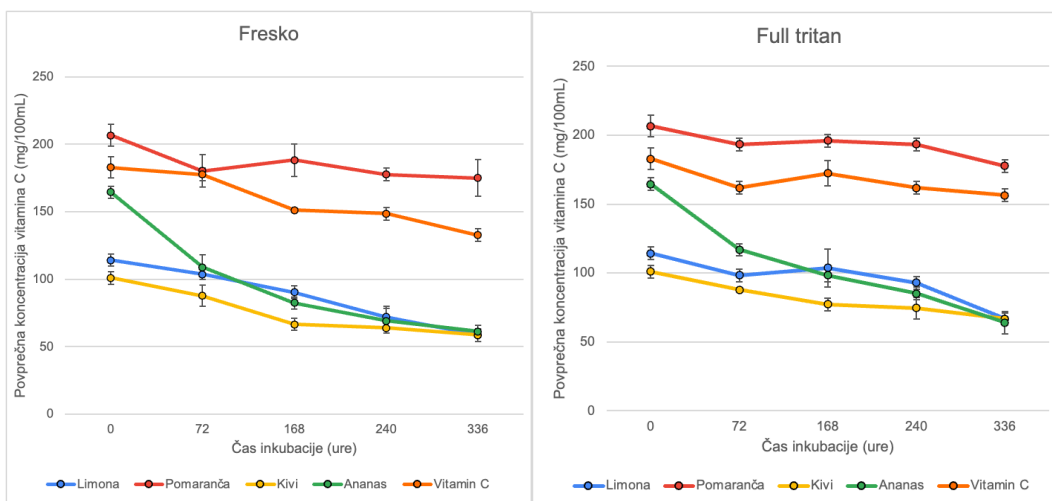
Graf 2-6:
 Povprečne koncentracije s standardnimi deviacijami vitamina C (mg/100 mL) pri različnih vrstah sadja (limona, pomaranča, kivi, ananas, vitamin C (0,1 mg/ml)), pri različnih časih inkubacije (0 ur, 72 ur, 168 ur, 240 ur, 336 ur) in različnih posodah

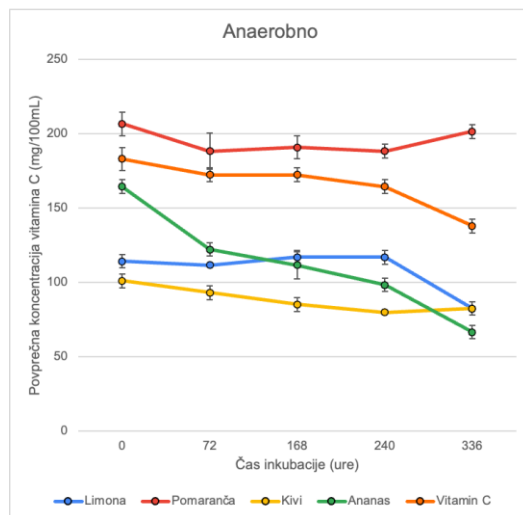
3



4

5





(lasten vir).

4.2 Primerjava med posameznimi posodami

Naredili smo tudi primerjavo med posameznimi posodami za posamezno sadje.

Pri limoni (graf 7) je razvidno, da je koncentracija vitamina C najpočasneje padala pri anaerobni posodi in posodi Full tritan. Razlike med anaerobno posodo in ostalimi (razen posodo Full tritan) so bile statistično pomembne ($p < 0.05$).

Pri pomaranči (graf 8) je razvidno, da se v anaerobni posodi koncentracija vitamina C v vzorcu pomarančnega soka skorajda ni spremenila. Tudi pri ostalih posodah smo opazili visoko obstojnost vitamina C, vendar manjšo kakor v anaerobni posodi, čeprav je statistična analiza pokazala, da so razlike med posodami statistično nepomembne ($p > 0.05$).

Pri kiviju (graf 9) ponovno opazimo trend, da je vitamin C v njegovem soku najboljše obstojen v posodi, kjer je anaerobno okolje in v posodi Full tritan. Statistična analiza je pokazala, da so razlike med anaerobno posodo in aerobno posodo, oz. posodo Compactor, oz. Fresko statistično pomembne ($p < 0.05$). Razlika v koncentraciji vitamina C pri posodi Full tritan in anaerobni posodi ni bila statistično pomembna ($p > 0.05$). Statistično pomembna pa je bila razlika med vzorcem, ki je bil shranjen v aerobnih razmerah, z vzorcem, ki je bil shranjen v posodi Full tritan ($p < 0.05$). Ostale primerjave so statistično nepomembne ($p > 0.05$).

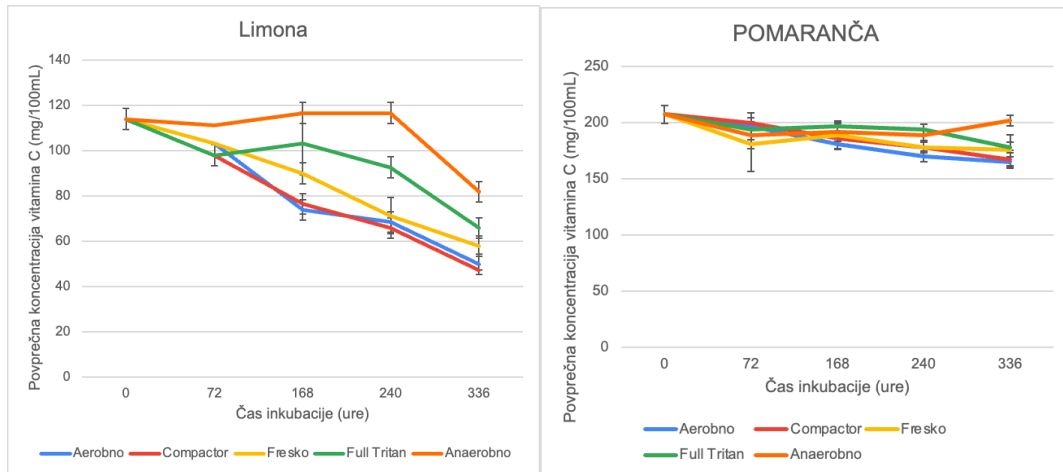
Pri primerjavi koncentracije vitamina C, med vzorci ananasovega soka (graf 10), ki so bili shranjeni v različnih posodah, je bil statistično pomemben le rezultat primerjave vzorca, ki je bil hranjen v aerobnem okolju, z vzorcem, ki je bil hranjen v anaerobnem okolju ($p < 0.05$). Ostali rezultati so bili statistično nepomembni ($p > 0.05$).

Na grafu 11 je vidno, da je bil trend upadanja koncentracije vitamina C podoben v vseh posodah. Vse primerjave med posodami so bile statistično nepomembne ($p > 0.05$).

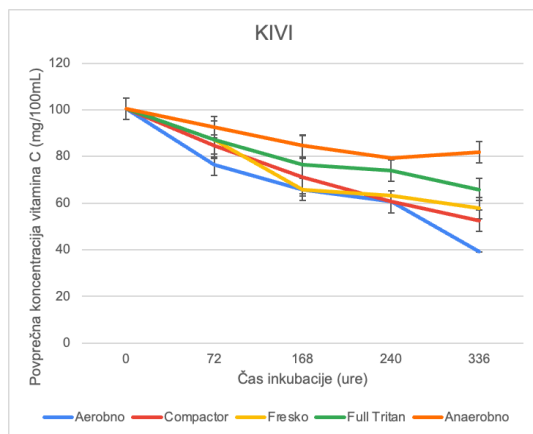
Graf 7-11:

Povprečne koncentracije vitamina C (mg/100 mL) v vzorcih limoninega soka, inkubiranih pri različnih časih (0 ur, 72 ur, 168 ur, 240 ur, 336 ur) v različnih posodah (Aerobna, Compactor, Fresko, Full tritan, Anaerobna), v hladilniku pri temperaturi 4°

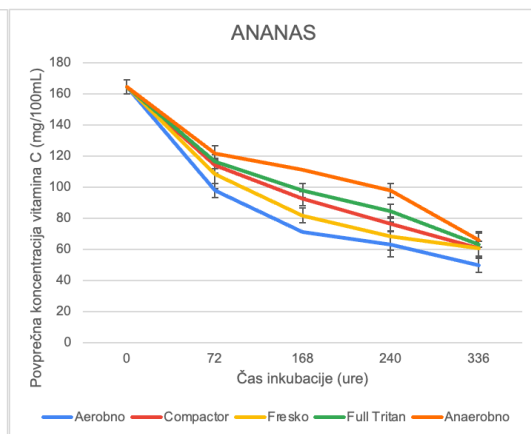
8



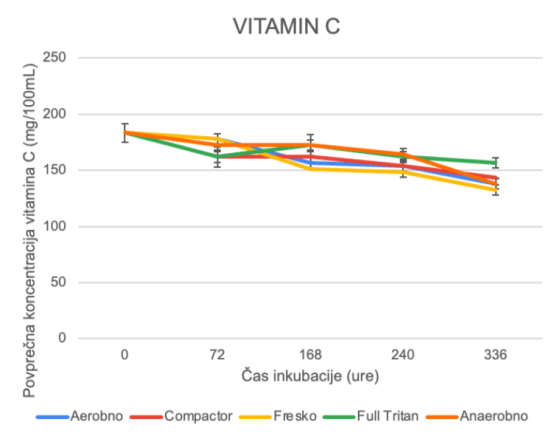
9



10



11

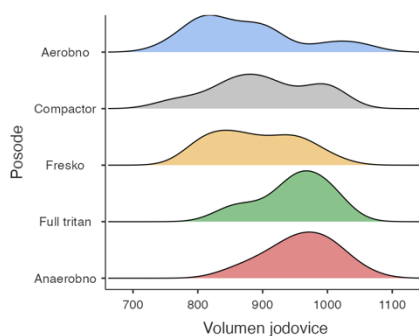


(lasten vir).

Graf 12 prikazuje frekvenčno porazdelitev meritev za pomarančo. Iz grafa je razvidno, da je bila porazdelitev meritev pri posodah Full tritan in anaerobni posodi, najbolj normalna (zvonasta). Pri ostalih posodah so bile porazdelitve meritev bolj razpršene in bolj odstopale od normalnosti. Podoben trend smo opazili pri vseh vrstah sadja. Zaradi tega smo pri statistični analizi uporabili neparametrične teste. V konkretnem primeru za pomarančo (graf 8) razlike med posodami niso bile statistično pomembne ($p>0.05$).

Graf 12:

Frekvenčna porazdelitev volumnov dodane jodovice pri titriranju pomarančnega soka, ki je bila shranjena v različnih embalažah.



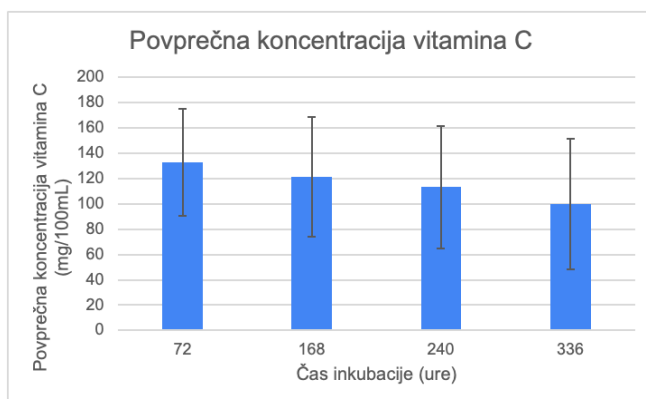
(lasten vir).

4.3 Primerjava med časi inkubacije

Na grafu 13 je predstavljena primerjava koncentracije vitamina C pri različnih časih inkubacije naših vzorcev. Pri statistični obdelavi rezultatov smo ugotovili, da je rezultat primerjave koncentracije vitamina C pri vzorcih, ki so bili obdelani po 72. urah z vzorci po 168. urah, statistično nepomemben ($p>0.05$). Prav tako je primerjava vzorcev med 168. in 240. urami statistično nepomembna. Ostale primerjave so statistično pomembne ($p<0.05$).

Graf 13:

Vpliv časa inkubacije na koncentracijo vitamina C (mg/100 mL), za vse vrste sadja (limona, pomaranča, kivi in ananas) in vse posode (Aerobno, Compactor, Fresko, Full tritan in Anaerobno) skupaj



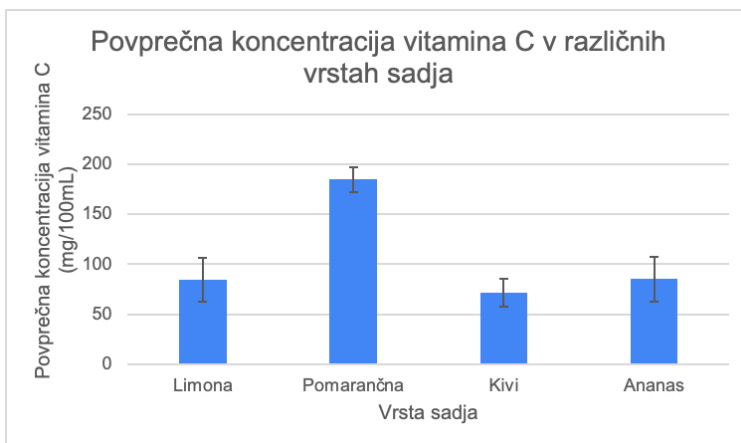
(lasten vir).

4.4 Primerjava med sadjem

Iz grafa 14 je razvidno, da je pomaranča vsebovala največ vitamina C (180 mg/100 ml). Pri statistični obdelavi podatkov so bili vsi rezultati statistično pomembni ($p < 0.05$), razen med vzorci ananasovega in limoninega soka. ($p > 0.05$).

Graf 14:

Primerjava koncentracije vitamina C (mg/100ml) pri različnih vrstah sadja (limona, pomaranča, kivi, ananas)



5 RAZPRAVA

Najprej bi se rada osredotočila na vpliv vrste posod na spremembo koncentracijo vitamina C v vzorcih sadja (limona, pomaranča, kivi, ananas in C-Vitamin), ki so bili shranjeni v njih. Iz grafov (2, 3, 4, 5 in 6) je razvidno, da se je koncentracija vitamina C naših vzorcev v vseh posodah zmanjšuje s časom, vendar z različno hitrostjo (naklon krivulje), odvisno od pogojev shranjevanja.

V aerobni posodi je bilo opazno največje zmanjšanje koncentracije vitamina C (graf 2), kjer so bili vzorci tudi v največji meri izpostavljeni kisiku. Razgradnja vitamina C je posledica oksidativnih procesov, ki jih spodbuja prisotnost kisika, svetloba in encimske reakcije (Giannakourou & Taoukis, 2021). Nasprotno smo v anaerobni posodi zaznali najmanjšo spremembo v koncentraciji vitamina C. Statistična analiza (tabela 3) je pokazala, da so razlike med aerobno in anaerobno posodo statistično pomembne ($p < 0.05$) pri limoni, kiviju in ananasu.

Med posodami (aerobna, Compactor, Fresko, Full tritan) se je posoda Full tritan izkazala kot najbolj učinkovita pri ohranjanju vitamina C (tabela 3). Grafa (5 in 6) kažeta, da je bila koncentracija vitamina C v tej posodi primerljiva z anaerobno. S tem potrjujemo hipotezi, da se je koncentracija vitamina C najboljše ohranila v anaerobni posodi in najmanj v aerobni ter, da je anaerobna posoda najučinkovitejša pri ohranjanju vsebnosti vitamina C v sadnih sokovih. V prihodnosti bi bilo potrebno narediti poskuse na celem sadju preizkusiti več različnih vrst sadja in zelenjave, da bi lahko rezultate splošili. Pri čemer bi morali spremljati tudi vpliv vrste embalaže oz. prisotnosti kisika na razvoj mikroorganizmov (števila in vrst) v različnih vrstah hrane.

Raziskala sva tudi vpliv časa na koncentracijo vitamina C v naših vzorcih (graf 13). Največje zmanjšanje koncentracije vitamina C se je zgodilo v prvih 72 urah, še posebej pri ananasu, kar je razvidno iz grafov (2, 3, 4, 5 in 6). To se sklada s preteklimi raziskavami, ki kažejo, da vitamin C najhitreje upada v začetnih fazah shranjevanja in se nato upočasni. Razgradnja vitamina C je na začetku najhitrejša, ker je takrat njegova koncentracija najvišja, zato so oksidativni procesi intenzivnejši (Van Bree idr., 2012). Članek tudi navaja, da je hitrost razgradnje vitamina C močno odvisna od koncentracije raztopljenega kisika v soku (Dhuique-

Mayer idr., 2007), kar pomeni, da je na začetku, ko je kisika največ, reakcija najhitrejša. Kasneje, ko se količina vitamina in raztopljenega kisika zmanjša, se upočasni tudi hitrost njegove razgradnje. (Van Bree idr., 2012).

Primerjala sva tudi degradacijo vitamina C med posameznimi sadji. Na podlagi grafov (2, 3, 4, 5 in 6) je razvidno, da so bile razlike med posameznimi vrstami sadja statistično pomembne (Tabela 6), kar potrjuje različne stopnje razgradnje vitamina C pri različnih vrstah sadja. Pomaranča je pokazala najvišjo stabilnost vitamina C skozi celotno obdobje shranjevanja. Na Grafu 8 je razvidno, da se vzorcem pomarančnega, shranjenega v različnih embalažah koncentracija vitamina C skozi čas ni bistveno spremenila. To lahko pojasnimo z visoko vsebnostjo flavonoidov in drugih antioksidantov, ki posredno ščitijo vitamin C pred oksidacijo (Park idr., 2014). Statistična analiza je pokazala, da so bile razlike med pomarančo in ostalimi vrstami sadja statistično pomembne ($p < 0.05$).

Pri pomarančnem soku, inkubiranem v anaerobni posodi, smo opazili skoraj ničelno spremembo v koncentraciji vitamina C. Najprej se moramo zavedati, da ko smo pripravili vse sokove potrebne za izvedbo eksperimenta, smo morali sadje stisniti. Vso sadje je bilo tako izpostavljeno oksidativnemu stresu, kar povzroči nastanek reaktivnih kisikovih vrst (ROS). Park idr., 2014, navajajo, da imajo pomaranče veliko različnih antioksidantov poleg askorbinske kisline, kot so flavonoidi in karotenoidi. Glede na to, se za odziv na ta oksidativni stres vitamin C verjetno ne porabi v veliki meri, saj za odziv poskrbijo ostali antioksidanti. S tem lahko pojasnimo majhno spremembo v koncentraciji vitamina C pri pomaranči. Prav tako so v prejšnjih raziskavah v pomarančnem soku izmerili zanemarljivo aktivnost AA oksidaze, ki je ključen encim pri razgradnji vitamina C v dehidroaskorbinsko kislino (Vines, Oberbacher, 1963). Visoka vsebnost vitamina C v pomarančnem soku bi lahko bila tudi posledica postopka, ki se pojavi pri sadežih po tem, ko jih pobereмо iz drevesa, tako imenovan post-harvest ripening (Capino & Faruh, 2024). To pomeni zorenje sadja po obiranju, kar se lahko zgodi tudi pri citrusih. Del tega procesa pa je "ethylene degreening" pri katerem pride do večje proizvodnje etilena v sadežu. Etilen pa je encim, ki poveča aktivnost encima GPP (L-galactose-1-phosphate phosphatase), ki igra ključno vlogo pri sintezi L-askorbinske kisline. Posledično lahko pride do zvišanja koncentracije vitamina C v sadežu tudi po tem, ko je bilo že obrano (Chaudhary idr., 2015). V preostalih posodah se koncentracija vitamina C ni zvišala, saj so bile veliko bolj izpostavljane kisiku in je imel ta proces "ethylene degreening" veliko manjši vpliv. Tako sva

ugotovila, da je pomaranča najbolj obstojen vir vitamina C med vsemi testiranimi sadji (limona, pomaranča, kivi, ananas). Tako potrjujeva hipotezo, da se bo koncentracija vitamina C pri različnih vrstah sadja različno hitro spreminjala.

Pri kiviju in ananasu so bile prav tako opažene velike spremembe v koncentraciji vitamina C (Graf 9 in 10), kar lahko pojasnimo z visoko prisotnostjo železovih (Fe) in bakrovih (Cu) ionov v tem sadju, ki še dodatno pospešijo oksidacijo askorbinske kisline v dehidroaskorbinsko kislino (Herbih, Renard, 2017). Iz grafa 14 je razvidno, da je povprečna koncentracija vitamina C bila pri kiviju najnižja, kar se ne sklada z literaturo, ki navaja, da ima kivi celo višjo koncentracijo vitamina C, kot pomaranča. (USDA FoodData Central Food Details, n.d.). Razliko za to bi lahko pojasnili z dejstvom, da je kivi eden izmed sadežev, pri katerem post-harvest ripening poteka zelo intenzivno (Four Winds Growers, n.d.).

Ob evalvaciji vseh rezultatov smo tako ugotovili, da se je vitamin C najbolj ohranil v anaerobni posodi, kot pričakovano in najmanj v aerobni posodi, kar je tudi pričakovano (graf 2 in 6). Pri vsakdanjem shranjevanju živil bi bila uporaba anaerobne posode nepraktična in draga, saj je za to posodo nujna uporaba anaerobne vrečke (v našem primeru Biomeriux). Prav tako bi bilo potrebno preveriti, kako bi na kakovost hrane vplivale anaerobne bakterije, ki bi se v tem primeru lahko razvile v različnih vrstah hrane. Nekatere anaerobne bakterije, kot je *Clostridium botulinum*, lahko proizvajajo toksine in zastrupitve s hrano. Zato pa sva midva želela najti alternativo, ki bi ohranjala svežino in hranilne vrednosti hrane primerljivo dobro z anaerobno posodo. Poleg anaerobne posode je bil vitamin C najbolj obstojen v posodi Full tritan. To sva sklepala iz trendov na grafih. Kljub temu da so bili rezultati primerjave med posodo Full tritan z anaerobno posodo, Fresko in Compactor statistično nepomembni, pa lahko vidimo iz trendov na grafih, da je bil vitamin C primerljivo obstojen pri anaerobni posodi in posodi Full tritan. (graf 2-11).

Razmislili smo tudi o možnih izboljšavah naše metode, s katerimi bi izboljšali zanesljivost naših rezultatov. Najprej, titracije bi se lahko lotili z bireto, namesto s kapalkami, kakor smo mi. Za kapalke sva se odločila zgolj iz praktičnega razloga, saj je štetje kapljic z njimi preprostejše, titracija pa hitrejša. Pri uporabi kapalke je gotovo prišlo do veliko odstopanj prav zaradi neenakomernega volumna posameznih kapljic. Zanesljivost rezultatov bi lahko povečali prav tako z večjim številom ponovitev titracij in s tem pridobili bolj zanesljive povprečne

vrednosti. Prav tako bi bilo smiselno testirati tudi celotne sadeže, ne pa samo sadne sokove. Sadne sokove smo uporabili, ker smo hoteli izenačiti pogoje med skupinami, vendar so se lahko zaradi tega pojavile možne težave, kot sta mešanje encimov in razgradni procesi v različnih sokovih. Ena izmed izboljšav bi bila priprava kontrole, saj smo pripravili vodno raztopino, kjer je nevtralen pH (7). Avtorja (Giannakourou & Taoukis, 2021) navajata, da je najvišja stabilnost vitamina C bila izmerjena v pH območju med 2 in 4. Zato bi bilo smiselno kontrolo pripraviti v raztopini, ki ima pH v tem območju ali še bolje posnemati pH sadja, ki ga testiramo. S tem bi kontrolirali vpliv pH-ja na stabilnost vitamina C.

V prihodnjih raziskavah bi bilo smiselno tudi preveriti vpliv ostalih dejavnikov, kot so temperatura shranjevanja, svetloba in vlaga, UV svetloba,.. ter analizirati interakcijo vitamina C z drugimi bioaktivnimi spojinami (fenoli, encimi oksidaze, železo, baker itd.) v sadju. Verodostojnost rezultatov raziskave bi lahko podprli s širšim naborom sadnih vrst in različnimi metodami merjenja vsebnosti vitamina C (npr. metoda DCPIP (diklorofenolindofenol), HPLC (tekočinska kromatografija visoke ločljivosti), kolorimetrična metoda).

6 ZAKLJUČEK

Vitamin C je izjemno pomembno hranilo, ki ima pomembno vlogo pri delovanju imunskega sistema vsakega posameznika, celice ščiti pred oksidativnim stresom in sodeluje pri različnih bioloških procesih v telesu. Ker ga človeško telo ne more proizvajati samo, ga moramo v zadostnih količinah vnesti s prehrano, predvsem s svežim sadjem in zelenjavo, njegova obstojnost pa je odvisna od številnih dejavnikov, kot so svetloba, temperatura in kisik.

V tej raziskavi smo preučevali, kako različne vrste embalaž vplivajo na ohranjanje vitamina C v sadju skozi čas. Ugotovili smo, da se koncentracija vitamina C zmanjšuje pri vseh vzorcih, v odvisnosti od časa, pri čemer je hitrost padanja odvisna tako od vrste sadja kot od načina shranjevanja. Anaerobna in Full tritan posod sta omogočili boljše ohranjanje vitamina C, medtem ko sta Compactor in Fresko dopuščali hitrejšo razgradnjo.

Ti rezultati potrjujejo, da lahko izbira prave embalaže pomembno vpliva na ohranjanje vitamina C v sadju. Raziskava prinaša vpogled v to, kako lahko ustrezni pogoji shranjevanja pomagajo zmanjšati izgubo hranilnih snovi in podaljšati svežino živil.

7 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Raziskovalna naloga o vplivu embalaže na obstojnost vitamina C ima prav tako širše družbene implikacije, saj osvetljuje pomen trajnostnega ravnanja s hrano in odgovorne potrošnje. Vsako leto se zaradi nepravilnega shranjevanja zavrže velike količine sadja in zelenjave, kar prispeva h globalnemu problemu prehranskih izgub in odpadkov. Z ustrezno izbiro embalaže in optimizacijo shranjevalnih pogojev lahko zmanjšamo nepotrebno zavrženo hrano ter s tem zmanjšamo ekološki odtis.

Poleg zmanjševanja živilskih izgub raziskava poudarja tudi pomen ozaveščanja potrošnikov o hranilni vrednosti živil in vplivu shranjevanja na njihovo kakovost. Potrošniki, ki so bolje informirani o tem, kako lahko podaljšajo obstojnost vitamina C v sadju, lahko sprejemajo bolj trajnostne odločitve pri nakupu in shranjevanju hrane.

8 VIRI IN LITERATURA

8.1 Bibliografija

- Al Fata, N., Georgé, S., Dlalah, N., & Renard, C. M. G. C. (2018). Influence of partial pressure of oxygen on ascorbic acid degradation at canning temperature. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 49, 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.11.007>
- Annabelle Capino and Macarena Faruh. (2024). Ethylene and the Regulation of Fruit Ripening | University of Maryland Extension. <https://extension.umd.edu/resource/ethylene-and-regulation-fruit-ripening>
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). REACTIVE OXYGEN SPECIES: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55(Volume 55, 2004), 373–399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- Apples, raw, with skin (Includes foods for USDA’s Food Distribution Program)—USDA FoodData Central Food Details. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/171688/nutrients>
- Ascorbate oxidases—Creative Enzymes. (n.d.). Retrieved February 7, 2025, from https://www.creative-enzymes.com/resource/ascorbate-oxidases_78.html#
- Cakmak, I., Brown, P., Colmenero-Flores, J. M., Husted, S., Kutman, B. Y., Nikolic, M., Rengel, Z., Schmidt, S. B., & Zhao, F.-J. (2023). Micronutrients☆*. In Z. Rengel, I. Cakmak, & P. J. White (Eds.), *Marschner’s Mineral Nutrition of Plants (Fourth Edition)* (pp. 283–385). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819773-8.00017-4>
- Capace, M. (2021, December 14). PROPERTIES AND SOURCES OF VITAMIN C. Fondazione Valter Longo Onlus. <https://www.fondazionevalterlongo.org/properties-and-sources-of-vitamin-c/?lang=en>
- Carr, A. C., & Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 1086–1107. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.6.1086>
- Chaudhary, P. R., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2015). Ethylene degreening modulates health promoting phytochemicals in Rio Red grapefruit. *Food Chemistry*, 188, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.044>
- Clemson University. (n.d.). pH Values of Common Foods and Ingredients. Retrieved February 8, 2025, from <https://www.google.com/search?client=safari&rls=en&q=pineapple+ph+level&ie=UTF-8&oe=UTF-8>
- Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M., & Amiot, M. J. (2007). Thermal degradation of antioxidant micronutrients in citrus juice: Kinetics and newly formed compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4209–4216. <https://doi.org/10.1021/jf0700529>

- Four Winds Growers. (n.d.). How Long Does It Take Citrus Fruit to Ripen? Four Winds Growers. Retrieved February 8, 2025, from <https://www.fourwindsgrowers.com/a/blog/how-long-does-it-take-citrus-fruit-to-ripen>
- Frei, B., England, L., & Ames, B. N. (1989). Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(16), 6377–6381. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6377>
- Gershoff, S. N. (1993). Vitamin C (ascorbic acid): New roles, new requirements? *Nutrition Reviews*, 51(11), 313–326. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1993.tb03757.x>
- Giannakourou, M. C., & Taoukis, P. S. (2021). Effect of Alternative Preservation Steps and Storage on Vitamin C Stability in Fruit and Vegetable Products: Critical Review and Kinetic Modelling Approaches. *Foods*, 10(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/foods10112630>
- Herbig, A.-L., & Renard, C. M. G. C. (2017a). Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix. *Food Chemistry*, 220, 444–451. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.012>
- Herbig, A.-L., & Renard, C. M. G. C. (2017b). Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix. *Food Chemistry*, 220, 444–451. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.012>
- how to measure the amount of vitamin c in fruits—Google Search. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from https://www.google.com/search?client=safari&rls=en&q=how+to+measure+the+amount+of+vitamin+c+in+fruits&ie=UTF-8&oe=UTF-8#vhid=zephyr:0&vssid=atritem-http://tehnologije.ijs.si/en/wp-content/uploads/2020/08/STEM4YouthChemistryAndAgriculture_EN.pdf
- Kiwifruit, green, raw—USDA FoodData Central Food Details. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/168153/nutrients>
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2)
- Lemons, raw, without peel—USDA FoodData Central Food Details. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/167746/nutrients>
- Li, Y., & Schellhorn, H. E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *The Journal of Nutrition*, 137(10), 2171–2184. <https://doi.org/10.1093/jn/137.10.2171>
- Mastrandrea, L., Amodio, M. L., de Chiara, M. L. V., Pati, S., & Colelli, G. (2017). Effect of temperature abuse and improper atmosphere packaging on volatile profile and quality of rocket leaves. *Food Packaging and Shelf Life*, 14, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.08.004>

- Mditshwa, A., Magwaza, L. S., Tesfay, S. Z., & Opara, U. L. (2017). Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: A review. *Scientia Horticulturae*, 218, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.024>
- Nemet, I., & Monnier, V. M. (2011). Vitamin C Degradation Products and Pathways in the Human Lens *. *Journal of Biological Chemistry*, 286(43), 37128–37136. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.245100>
- Oranges, raw, navels—USDA FoodData Central Food Details. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/746771/nutrients>
- Park, J.-H., Lee, M., & Park, E. (2014). Antioxidant Activity of Orange Flesh and Peel Extracted with Various Solvents. *Preventive Nutrition and Food Science*, 19(4), 291–298. <https://doi.org/10.3746/pnf.2014.19.4.291>
- Peleg, M. (2017). Theoretical study of aerobic vitamin C loss kinetics during commercial heat preservation and storage. *Food Research International*, 102, 246–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.008>
- Pineapple | Description, History, Fruit, Plant, & Facts | Britannica. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from <https://www.britannica.com/plant/pineapple>
- Pineapple, raw, all varieties—USDA FoodData Central Food Details. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/169124/nutrients>
- Prehrana.si. (2016, May 3). Vitamin C. Prehrana. <https://www.prehrana.si/sestavine-zivil/vitamini/vitamin-c>
- Regulation: No 1169/2011 of the European Parliament... - Google Scholar. (n.d.). Retrieved February 8, 2025, from [https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=No+1169/2011+of+the+European+Parliament+and+of+the+Council+of+25+October+2011+on+the+provision+of+food+information+to+consumers,+amending+Regulations+\(EC\)+No+1924/2006+and+\(EC\)+No+1925/2006+of+the+European+Parliament+and+of+the+Council&author=Regulation+\(EU\)&publication_year=2009&journal=Off.+J.+Eur.+Union&volume=77&pages=81](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=No+1169/2011+of+the+European+Parliament+and+of+the+Council+of+25+October+2011+on+the+provision+of+food+information+to+consumers,+amending+Regulations+(EC)+No+1924/2006+and+(EC)+No+1925/2006+of+the+European+Parliament+and+of+the+Council&author=Regulation+(EU)&publication_year=2009&journal=Off.+J.+Eur.+Union&volume=77&pages=81)
- Strik, B. (2022, July 8). Growing Kiwifruit in Your Home Garden [Extension Catalog publication]. Extension Communications; Oregon State University Extension Service. <https://extension.oregonstate.edu/catalog/pub/em-9322-growing-kiwifruit-your-home-garden>
- Van Bree, I., Baetens, J. M., Samapundo, S., Devlieghere, F., Laleman, R., Vandekinderen, I., Noseda, B., Xhaferi, R., De Baets, B., & De Meulenaer, B. (2012). Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration. *Food Chemistry*, 134(1), 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.096>
- Vines, H. M., & Oberbacher, M. F. (1963). Citrus Fruit Enzymes. I. Ascorbic Acid Oxidase in Oranges. *Plant Physiology*, 38(3), 333–337.
- Washko, P. W., Welch, R. W., Dhariwal, K. R., Wang, Y., & Levine, M. (1992). Ascorbic acid and dehydroascorbic acid analyses in biological samples. *Analytical Biochemistry*, 204(1), 1–14. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(92\)90131-P](https://doi.org/10.1016/0003-2697(92)90131-P)

- Zerdin, K., Rooney, M. L., & Vermuë, J. (2003). The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. *Food Chemistry*, 82(3), 387–395. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00559-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00559-9)

8.2 Viri slik

- Slika 1: Oksidacija askorbinske kisline (ResearchGate, dostopno na: https://www.researchgate.net/figure/Oxidation-mechanism-of-vitamin-C-L-ascorbic-acid_fig2_342918066, datum dostopa: 2. 2. 2025)
- Slika 2: Posode od leve proti desni (fresko, full tritan in compactor) (lasten vir)
- Slika 3: Anaerobna posoda z vrečko biomeriux (lasten vir)