Određivanje vitamina C i ukupnih ugljikohidrata u varaždinskom kupusu

Gulija, Mateja

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:214605

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Biotehnologija

Mateja Gulija

6658/BT

ODREĐIVANJE VITAMINA C I UKUPNIH UGLJIKOHIDRATA U VARAŽDINSKOM KUPUSU

ZAVRŠNI RAD

Modul: Biotehnologija 4

Mentor: izv. prof. dr.sc. Ivana Radojčić Redovniković

Zagreb, 2016

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno–biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija
Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju i primjenu stanica i biotransformacije

ODREĐIVANJE VITAMINA C I UKUPNIH UGLJIKOHIDRATA U VARAŽDINSKOM KUPUSU

Mateja Gulija, 6658/BT

Sažetak: Uobičajeno je prihvaćeno da zelje potječe iz zemalja sjeverne Europe i Baltičke obale te Mediteranskog područja. Varaždinsko zelje je povrtna kultura dobivena od autohtone čuvane sorte varaždinski kupus (*Brassica oleracea var. capitata f. alba*), upisane u sortnu listu u Republici Hrvatskoj, a koja se proizvodi na tradicionalan način, na ograničenom zemljopisnom području Varaždinske županije u sustavu kontrole izvornosti, podrijetla i kvalitete. U ovom radu je analizirano deset uzoraka varaždinskog zelja s ciljem određivanja udjela suhe tvari, vitamina C i ukupnih ugljikohidrata. Udjeli vitamina C i ugljikohidrata su određeni spektrofotometrijski. Udio suhe tvari je bio u rasponu od 6,78 ± 0,23 do 9,74 ± 0,57 %. Udio vitamina C je bio u rasponu od 48,19 ± 2,81 do 83,81 ± 0,64 mg 100 g^{-1} svježe tvari, a udio ukupnih ugljikohidrata u rasponu od 36,99 ± 3,01 do 59,06 ± 2,80 mg g^{-1} svježe tvari.

Ključne riječi: varaždinsko zelje, suha tvar, vitamin C, ukupni ugljikohidrati, spektrofotometrija
Rad sadrži: 26 stranica, 14 slika, 19 literaturnih navoda
Jezik izvornika: hrvatski
Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno–biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb
Mentor: *izv. prof. dr. sc. Ivana Radojčić Redovniković*

Rad predan: lipanj, 2016

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Undergraduate studies Biotechnology
Department of Biochemical Engineering
Laboratory for Cell Technology, Application and Biotransfomations

DETERMINATION OF VITAMIN C AND TOTAL CARBOHYDRATES IN VARAŽDIN CABBAGE

Mateja Gulija,6658/BT

Abstract*:* It is commonly accepted that the origin of cabbage is the north european countries and the Baltic Sea coast and the Mediterranean region. Cabbage "Varaždinsko zelje" (*Brassica oleracea var. capitata f. alba*) is an authentic vegetable variety of Varaždin cabbage, registered in the list of varieties of Croatia, which is in Varaždin region, produced in the traditional way under authenticity, origin and quality control. In this study ten samples of Varaždin cabbage in order to determine the content of dry matter, vitamin C and total carbohydrates. Spectrophotometric method was used for determination of contents of vitamin C and total carbohydrates. Dry matter was in range from 6,78 ± 0,23 to 9,74 ± 0,57 %. Content of vitamin C in Varaždin cabbage was in range from 48,19 ± 2,81 to 83,81 ± 0,64 mg 100 g^{-1} of fresh weight, and total carbohydrates were in range from 36,99 ± 3,01 to 59,06 ± 2,80 mg g^{-1} of fresh weight.

Keywords: varaždin cabbage, dry matter, vitamin C, total carbohydrates, spectrophotometry
Thesis contains: 26 pages, 14 figures, 19 references
Original in: Croatian
Final work in printed and electronic (pdf format) verison is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb
Mentor: *Ph. D. Ivana Radojčić Redovniković, Associate Professor*

Thesis delivered: June, 2016

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
2.1. Kupus 3
2.1.1. Svojstva kupusa 3
2.1.2. Sastojci kupusa i pozitivni učinci na ljudsko zdravlje 4
2.1.3. Varaždinsko zelje 5
2.2. Vitamin C 7
2.2.1. Struktura i uloga 7
2.2.2. Funkcija vitamina C u stanici 9
2.3. Ugljikohidrati 10
2.3.1. Svojstva ugljikohidrata 10
2.3.2. Ugljikohidrati u povrću 10
3. EKSPERIMENTALNI DIO 12
3.1. MATERIJAL 12
3.1.1. Uzorci 12
3.1.2. Kemikalije 12
3.1.3. Oprema 12
3.2. METODE 13
3.2.1. Određivanje udjela suhe tvari u varaždinskom zelju 13
3.2.2. Određivanje vitamina C u varaždinskom zelju 14
3.2.2.1. Priprema otopina za provođenje analize 15
3.2.2.2. Priprema biljnog materijala i ekstrakcija vitamina C 15
3.2.2.3. Postupak mjerenja 15
3.2.2.4. Izrada baždarnog pravca 15
3.2.3. Određivanje ukupnih ugljikohidrata u varaždinskom zelju 16
3.2.3.1. Priprema otopina za provođenje analize 17
3.2.3.2. Priprema biljnog materijala i ekstrakcija ukupnih ugljikohidrata 17
3.2.3.3. Postupak mjerenja 17
3.2.3.4. Izrada baždarnog pravca 17
4. REZULTATI I RASPRAVA 18
4.1. Određivanje suhe tvari u varaždinskom zelju 18
4.2. Određivanje vitamina C u varaždinskom zelju 19
4.3. Određivanje ukupnih ugljikohidrata u varaždinskom zelju 21
5. ZAKLJUČAK 24
6. LITERATURA 25

1. UVOD

Porodica *Brassicaceae* uključuje više od 350 rodova i 3500 vrsta, a karakterizira ga kratki životni vijek i prilagodljivost. Kao takvi, oni su pogodni za uzgoj u različitim godišnjim dobima, kao i u različitim klimatskim uvjetima. Mnoge *Brasicaecae* kulture (npr. kupus, brokula, prokulice, cvjetača) poznatije kao kupusnjače, zanimljive su zbog pozitivnog utjecaja na ljudsko zdravlje (Nosek i sur., 2011).

Bijeli kupus (*Brassica oleracea L. var. Capitata f. Alba*), podrijetlom iz mediteranskog područja, bio je poznat i starim Grcima i Rimljanima. Danas, zbog sklonosti potrošača, jeftinoj cijeni i dostupnosti, među ostalim kupusnjačama jedan je od najvažnijih prehrambenih povrća konzumiranih u Europi i svijetu. Bijeli kupus sadrži značajne razine vitamina (A, C, E, K) i druge fitokemikalije poput glukozinolata ili spojeva koji sadrže sumpor. Štoviše, mnoga epidemiološka istraživanja pokazuju vezu između konzumacije povrća iz roda Brassicaceae i zaštite od brojnih kroničnih bolesti, uključujući i nekoliko vrsta raka, kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih, oka i mnogih neuroloških bolesti. Poznato je da vitamini, kao što su vitamin C i E, mogu stimulirati imunološki sustav i mogu usporiti nekoliko degenerativnih procesa (Nosek i sur., 2011).

Varaždinsko zelje je povrtna kultura dobivena od izvorne sorte varaždinski kupus, upisane u popis utvrđenih domaćih i udomaćenih stranih sorti poljoprivrednoga bilja koje se nalazi u proizvodnji u Republici Hrvatskoj. Varaždinsko zelje proizvodi se od istoimene sorte varaždinski kupus, koji se izvan Varaždinske županije ne proizvodi u većim količinama za komercijalne svrhe. Od 1967. godine, kad je uspostavljena prva službena lista domaćih i udomaćenih sorti sjemena poljoprivrednoga bilja, varaždinsko zelje je pod nazivom varaždinski kupus uvršteno na sortnu listu na kojoj se i danas nalazi. Varaždinsko zelje, s nutricionističkoga stajališta, karakterizira posebna kvaliteta i sadržaj korisnih tvari. To je, prije svega, visok sadržaj suhe tvari (oko 8%) s iznimno visokim udjelom šećera (oko 40 g kg^{-1}) bitnim za proces fermentacije (Kovačić, 2006). Osobito je značajan sadržaj sekundarnih metabolita ukupnih fenola i flavonoida te glukozinolata u uzorcima analiziranim u tehnološkoj zrelosti kao i u kiselom varaždinskom zelju. Veliki postotak šećera u varaždinskom zelju koji se tijekom fermentacije transformira u mliječnu kiselinu služi kao konzervans, te nije potrebno koristiti

umjetne konzervanse (Kovačić, 2006). Stoga, potrebna je detaljnija karakterizacija navedenih korisnih tvari u varaždinskom zelju.

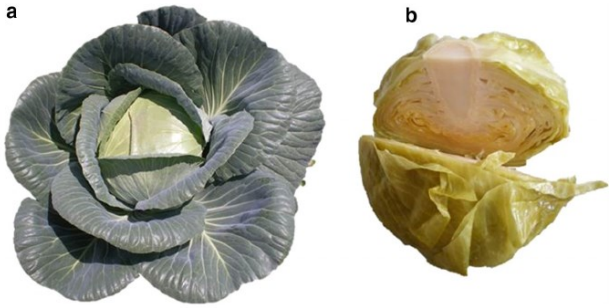
Cilj ovog rada je bio odrediti udio suhe tvari te udjele vitamina C i ukupnih ugljikohidrata u deset uzoraka varaždinskog zelja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Kupus

2.1.1. Svojstva kupusa

Kupus je jedna od najvažnijih povrtnica koja se uzgaja u cijelom svijetu. Ono pripada obitelji *Cruciferae*, što uključuje brokulu, cvjetaču, kelj i mnoge druge biljne vrste. Sorte kupusa prvenstveno se razlikuju po duljini vegetacije, obliku i veličini glave, duljini i udjelu kocena, veličini, obliku i boji listova, čvrstoći, zbijenosti i otpornosti glavica na pucanje, otpornosti na niske temperature i preranu cvatnju, namjeni za korištenje i drugim svojstvima (Rokayya i sur., 2013). Najučestalija podjela sorti je na bijelo i crveno zelje, te kultivare vrlo rane, rane, srednje rane, srednje kasne i kasne vegetacije (Kovačić, 2006). Približno 6,3 kg kupusnjača se konzumira po osobi godišnje. Kupus se konzumira bilo sirovo ili obrađeno na različite načine, na primjer, kuhano ili fermentirano ili se koristi u salatama (slika 1). Izvozi se oko 450 tona, a uvozi čak 1 800 tona zelja godišnje. Glavna proizvodna područja u Hrvatskoj su Varaždinština (slika 2), Podravina, Ogulinsko područje, Sinjsko polje, Ravni Kotari i područje Neretve, odnosno Zagrebačka, Zadarska i Splitsko-dalmatinska županija (Kovačić, 2006).



Slika 1. Bijeli kupus (*Brassica oleraceae var.capitata f alba*): Svježa glavica (a), te fermentirana glavica (b) (Šamec i sur.,2015)

Slika 2. Uzgoj bijelog kupusa (*Brassica oleracea var. Capitata f. Alba* cv. Kupusa varaždinskog) u Varaždinskoj županiji, Hrvatska (Šamec i sur., 2015)

2.1.2. Sastojci kupusa i pozitivni učinci na ljudsko zdravlje

Bijeli kupus (*Brassica oleraceae var. Capitata f. Alba*) zbog svoje dostupnosti na lokalnim tržištima i preferenciji potrošača predstavlja značajan izvor fitonutrijenata u ljudskoj prehrani. Zdravstvene beneficije kupusa su uglavnom povezane sa prisutnošću bioaktivnih spojeva s dokazanim antioksidativnim djelovanjem, kao što su vitamin C, karotenoidi, polifenoli, tokoferoli, flavonoidi, produkti hidrolize glukozinolata (izocijanati, indol-3-karbinol) itd. Osim glukozinolata i njihovih derivata, bijeli kupus je dobar izvor fenolnih spojeva poput flavonoida i hidroksicinaminske kiseline. Vitamini i karotenoidi su neophodni sastojci kupusa koji promiču zdravlje i odgovorni su za funkcioniranje ljudskog metabolizma i poticanje imunosnog odgovora. Karotenoidi i tokoferoli (analozi vitamina E) zajedno s vitaminom C su sastojci s dokazanim antioksidativnim djelovanjem u bijelom kupusu.
Osim što posjeduju antioksidativna svojstva, α- i ß-karoten, preteče vitamina A, potrebni su za zdravlje kože, kostiju, gastrointestinalnog i dišnog sustava. Vitamin C ima ulogu u povećanju imunosnog odgovora, dok vitamin E regulira aktivnost enzima i ekspresiju gena (Šamec i sur., 2015).

Kupus je također bogat mineralima, naročito kalijem, natrijem, kalcijem i magnezijem te ugljikohidratima, koji se sastoje od skoro 90% suhe tvari, pri čemu približno jedna trećina su dijetalna vlakna, a dvije trećine su niskomolekularni ugljikohidrati (Kovačić, 2006). Biološki fermentirani kupus ili kiseli kupus značajna je prehrambena namirnica bogata vitaminima i mineralima. Osim vitamina C, kiseli kupus sadrži i dosta mliječne kiseline koja pogoduje prirodnoj crijevnoj flori.

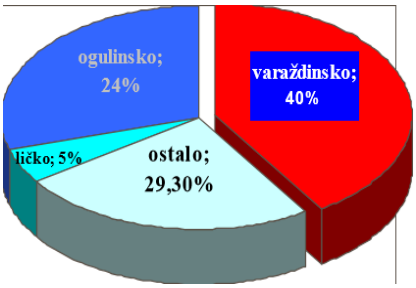
Uslijed svojih antioksidativnih, protuupalnih i antibakterijskih svojstava, kupus ima široku primjenu u tradicionalnoj medicini u ublažavanju simptoma povezanih s gastrointestinalnim poremećajima (gastritis, želučani čirevi, sindrom iritabilnog crijeva), kao i za tretiranje manjih posjekotina, rana i mastitisa. Sok od svježeg kupusa, pripravljen sam, ili miješan s drugim povrćem kao što su mrkva i celer, često je uključen u mnoge komercijalne dijete za mršavljenje, dijete koje poboljšavaju biološki dostupan sadržaj željeza kao i alternativne terapije za pacijente s karcinomom. Klinička istraživanja pokazala su pozitivne učinke konzumiranja kupusa za iscjeljivanje peptičkog ulkusa (Rokayya i sur., 2013).

2.1.3. Varaždinsko zelje

Varaždinsko zelje pripada glavatom zelju plosnato-okruglih i bijelih glava (slika 3). Korijen varaždinskog zelja je vrlo snažan i prodire do 150 cm u dubinu, a stabljika (kocen) je dosta izražena. U odnosu na druge sorte karakteristična je ne prevelika, vrlo čvrsta, tvrda i spljoštena glava, kao i maslinasto-zelena boja listova koji imaju izraženu nervaturu i preko 30 % težinskog udjela. Težina glave je obično 1,5-2,5 kg, rijetko je veća. Pripada grupi kasnih sorti, ali zbog otpornosti na hladnoću i postojanja populacija s kraćom vegetacijom može se proizvoditi i kao rano zelje. Vrlo se dobro regenerira i odlično podnosi transport. Jedna od prednosti varaždinskog zelja je njegova prikladnost za poljsku proizvodnju uz skromnije tehnološke zahtjeve. Neki autori ističu otpornost sorte na bolesti, posebno bakterioze (Kovačić, 2006).

Slika 3. Varaždinsko zelje (Kovačić, 2006)

Varaždinsko zelje ima imidž jedne od najkvalitetnijih sorti kupusa na domaćem tržištu, posebice kada se koristi kao sirovina za kiseljenje. Rezultati istraživanja provedenog među potrošačima kiselog zelja na zagrebačkom potvrđuju ovaj javni stav. Najviše potrošača preferira upravo varaždinsko zelje, (40,4%), potom ogulinsko (24,2%) te svega 5,1% ličko (slika 4). Sva ostala navedena zelja imaju malu poznatosti i slab imidž na zagrebačkom tržištu (Kovačić, 2006).



Slika 4. Preferencije kiselog kupusa prema području proizvodnje (Kovačić, 2006)

Varaždinsko zelje posebno je na cijeni kao sirovina za kiseljenje. Kod tehnologije prerade ističe se čvrstim, elastičnim listovima i otpornošću na raskvašivanje, zatim visokim sadržajem suhe tvari i iznimno visokim udjelom šećera i aromatskih ulja, posebno glikozida sinergina koji zelju daje karakterističan ljutkasti okus, zbog čega je iznimno pogodno za kiseljenje. Tanki i čvrsti listovi odlični su za pripremu sarme. Na području Varaždina bilježi se službena proizvodnja tržišnog kiselog zelja od 1931. godine, ujedno preteča današnje tvrtke Prehrana, koja je s oko 3 000 t godišnje proizvodnje najveća kiseljara na području Varaždinštine, a i šire (Kovačić, 2006).

Optimalna je temperatura zraka za rast zelja 15 do 20 ºC. Nagle promjene temperature zraka izazivaju jaka oštećenja. Zelju pogoduje visoka relativna vlaga zraka. Zastoj u rastu, uz visoke temperature, rezultat je nedostatka vode u tlu. Zelje dobro podnosi sušu, a nastavlja rasti pri povoljnijim hidrološkim prilikama. U Varaždinskoj županiji moguća je najranija sadnja zelja krajem mjeseca ožujka, češće početkom travnja, ovisno o duljini zime i brzini

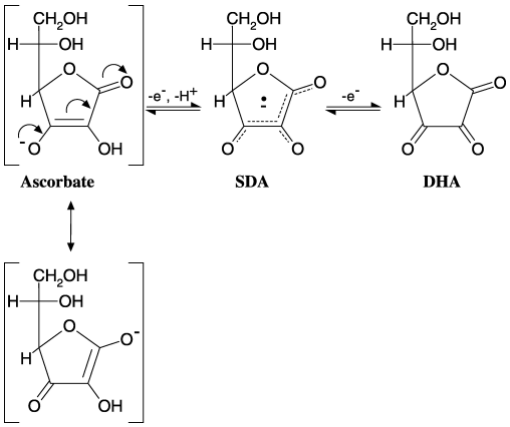
prosušivanja tla. Najranija je berba u drugoj polovici mjeseca srpnja. Zadnji su rokovi sadnje krajem mjeseca lipnja za berbu u listopadu. Zelje raste na svim tlima. Ipak, najpovoljnija su tla dubokog profila, ilovaste teksture, dobrog kapaciteta za vodu i zrak, humusna, pH-vrijednosti 6 do 6,5. Na kiselim je tlima veća vjerojatnost pojave gljivične bolesti kupusna kila (zadebljanje korijena) (slika 5) (Kovačić, 2006).

Slika 5. Kila kupusa – *Plasmodiophora brassicae* (Anonymous 1)

2.2. Vitamin C

2.2.1. Struktura i uloga

Vitamin C je skupni pojam za askorbinsku kiselinu i dehidroaskorbinsku kiselinu, organske kiseline (slika 6). Većina životinja može sintetizirati vitamin C iz glukoze ili galaktoze preko metabolitskog puta glukoze. Ljudi vitamin C unose prehranom jer negdje u evoluciji su izgubili enzim L-glukonolakton-oksidazu koji oksidira L-glukonolakton na 2-keto-glukonolakton koji zatim izomerizira u askorbinsku kiselinu (vitamin C) (Simon, 1992).



Slika 6. Tri redoks stanja vitamina C (askorbinska kiselina, potpuno reducirani oblik, SDA, monodehidro-L-askorbinska kiselina, monooksidirani oblik; DHA, dehidro-L-askorbinska kiselina, potpuno oksidirani oblik) (Linster and Schaftingen, 2006)

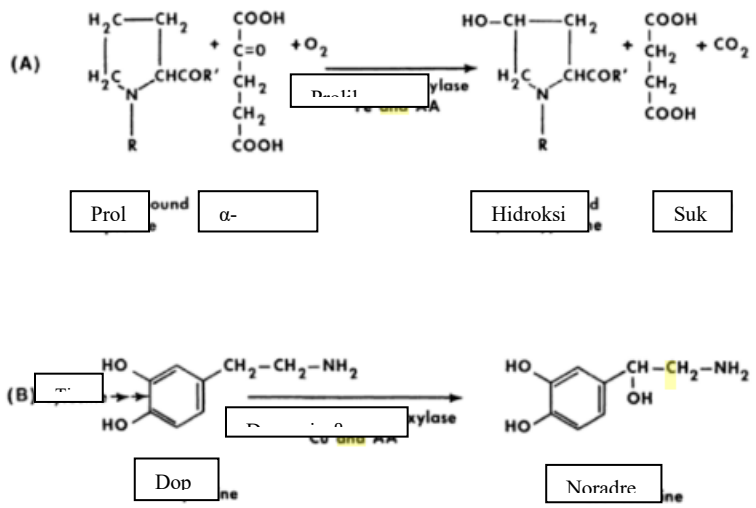
Vitamin C je uključen u odgovor biljnih tkiva protiv stresnih čimbenika, djeluje kao antioksidans te je dokazano da djeluje protiv muške neplodnosti. Kupus je odličan izvor vitamina C te samo jedna šalica kuhanog povrća opskrbljuje 89 % dnevne potrebe za vitaminom C. Česta konzumacija povrća bogatih vitaminom C pomaže u zaštiti od raka i bolesti oka. Vitamin C štiti stanice uklanjanjem slobodnih radikala. Dnevna potreba je najmanje 75 mg, a u 100 grama svježega kiselog kupusa ima ga 20 mg (Park i sur., 2014). Također se može koristiti za regeneraciju vitamina E (Müller-Moulé i sur. 2002).

Sadržaj vitamina C u voću i povrću može biti pod utjecajem raznih faktora kao što su genotipske razlike, klimatski uvjeti, metode sijanja i žetve. Što je veći intenzitet svjetlosti tijekom vegetacije, to je veći sadržaj vitamina C u biljnim tkivima. Visoke stope dušičnih gnojiva imaju tendenciju smanjiti sadržaj vitamina C u mnogim vrstama voća i povrća. Vitamin C iz namirnica podliježe razgradnji tijekom obrade i kuhanje (Lee i Kader, 2000).

Vitamin C je elektron donor, a ta značajka je pokretač svih njegovih poznatih funkcija. Kao elektron-donor, vitamin C je antioksidans u ljudi zbog svoje strukture (nekoliko konjugiranih dvostrukih veza i strukture prstena). Ljudske bolesti, poput ateroskleroze i raka se mogu pojaviti zbog oksidativnog oštećenja u tkivima uzrokovanih štetom koju nanose slobodni radikali (Padayatty i sur., 2003).

2.2.2. Funkcija vitamina C u stanici

Vitamin C služi kao kofaktor u raznim biokemijskim reakcijama. Većina enzimskih reakcija zahtjeva ione željeza ili bakra koji se oksidiraju tijekom hidroksilacije. Vitamin C obično djeluje kao kofaktor u ovim reakcijama, reducirajući metalne ione natrag u svoje prvobitno stanje. Vitamin C je potreban za poslijetranslacijsku hidroksilaciju peptid-vezanih prolinskih ostataka prokolagena (slika 7 (A)). Vitamin C aktivira enzim reducirajući željezo u fero oblik. Vitamin C također je potreban za hidroksilaciju lizina, što je bakar ovisna reakcija. Vitamin C reaktivira enzim reducirajući bakar na aktivnom mjestu enzima. Ove reakcije hidroksilacije stabiliziraju tro-spiralnu strukturu molekule kolagena što jača vezivna tkiva. Vitamin C je bitan za sintezu karnitina u mišićima koji je potreban za prijenos masnih kiselina u mitohondrije. Biosinteza karnitina uključuje metilaciju lizina, što zahtijeva askorbinsku kiselinu, kao i željezo. Biosinteza karnitina je neophodna za optimalnu proizvodnju energije. Vitamin C se koristi za hidroksilaciju dopamina u noradrenalin u mozgu (slika 7(B)). Askorbinska kiselina je kofaktor enzima dopamin-beta-monooksigenaze koji sadrži bakar (Simon, 1992).



Slika 7. Reakcije vitamina C: (A) hidroksilacija prolina, (B) hidroksilacija dopamina (Simon, 1992)

2.3. Ugljikohidrati

2.3.1. Svojstva ugljikohidrata

Ugljikohidrati u biljaka služe kao izvor raspoložive energije ali i kao rezerve hrane i kao konstrukcijski materijali. Oni su jedan od glavnih skupina prehrambenih tvari (ugljikohidrati, bjelančevine, i masti) koje se sintetiziraju u biljkama iz jednostavnih organskih tvari. Empirijski sastav ugljikohidrata može izraziti formulom CnH2nOn. S obzirom na njihova specifična kemijska svojstva, ugljikohidrati mogu sadržavati potencijalni aldehidnu-, -CHO, ili keto-, C = O, grupu. Općenito, tvari koje pripadaju ovoj klasi spojeva se mogu podijeliti u tri široke skupine: monosaharidi, oligosaharidi, polisaharidi. Monosaharidi sadrže pet ugljikovih atoma (pentoze) ili šest atoma ugljika (hektoze) i imaju sladak okus. Druga skupina ugljikohidrata, oligosaharidi se sastoje od dva ili više monosaharidnih jedinica povezanih jedan na drugi glikozidnom vezom. To su disaharidi, trisaharidi, tetrasaharidi, itd a mogu i ne moraju imati redukcijska svojstva. Polisaharidi predstavljaju velike agregate monosaharida (škrob, celuloza, pektin, i sl). Oni se metaboliziraju u druge proizvode uz izdvajanje ugljičnog dioksida i vode, i energije. Osim toga, određeni proizvodi od ugljikohidrata pomažu u razgradnji mnogih prehrambenih proizvoda, koji djeluju kao katalizatori u biološkim oksidacijama. Ugljikohidrati se također mogu koristiti kao polazni materijal za biološku sintezu drugih tipova spojeva u tijelu, kao što su masne kiseline i određene aminokiseline. Bez obzira na oblik u kojem ugljikohidrate unesemo u organizam, oni se moraju transformirati u monosaharide za apsorpciju i metabolizam, dakle s naglaskom na značaj monosaharida u proizvodnji hrane. Uslijed ubrzanog razvoja uloga šećera u metaboličkim procesima, neophodno je da se određene šećere u hrani identificira (Lee, Shallenberger, and Vittum, 1970).

2.3.2. Ugljikohidrati u povrću

Vrsta i koncentracija slobodnih šećera utječu na okus povrća iz roda Brassica. Fruktoza, glukoza i saharoza su glavni topljivi šećeri u Brassica. Sveobuhvatna procjena nutritivnog profila Brassica povrtnica pokazala je da svi sadrže saharozu (7,5 % do 8,7%), oligosaharide (2,3% do 2,5%) i neškrobne polisaharide (20,4% do 19,7%). Fruktoza je glavni šećer u različitim vrstama povrtnica iz roda Brassica, predstavlja između 48,8% i 56,9% od ukupnog

sadržaja šećera. Glukoza je drugi zastupljeni šećer, dok saharoza predstavlja maksimum od 20,5% (Radovich i sur., 2005).

Varaždinsko zelje, s nutricionističkoga stajališta, karakterizira posebna kvaliteta i sadržaj korisnih tvari. To je, prije svega, visok sadržaj suhe tvari s iznimno visokim udjelom šećera bitnim za proces fermentacije. Veliki postotak šećera u varaždinskom zelju koji se tijekom fermentacije transformira u mliječnu kiselinu služi kao konzervans, te nije potrebno koristiti umjetne konzervanse (Bogović i sur., 2011).

U bijelom kupusu (*B. oleracea* var. *capitata*) dijetalna vlakna predstavljaju jednu trećinu ukupnog sadržaja ugljikohidrata, a ostale dvije trećine su niskomolekularni ugljikohidrati, uključujući glukozu (37%), uronsku kiselinu (32%), arabinozu (12%) i galaktozu (8%). Analiza prehrambenih vlakana od 6 sorti bijelog kupusa (*B. oleracea* var. *capitata*) procijenila je da je od prosječne ukupne količine dijetalnih vlakana od 241 mg g^{-1} suhe tvari, oko 25% je topivih (Jahangir i sur., 2009).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJAL

3.1.1. Uzorci

Deset uzoraka varaždinskog zelja (*Brassica oleracea* var. *capitata f. alba*).

3.1.2. Kemikalije

Sve korištene kemikalije bile su analitičke čistoće.

- Anthrone, Sigma
- Askorbinska kiselina, Sigma
- Brom, Sigma
- Destilirana voda, PBF Zagreb
- 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH), Sigma
- Metafosforna kiselina, Sigma
- Octena kiselina, Kemika
- Tiourea, Kemika
- Sumporna kiselina, Kemika

3.1.3. Oprema

- laboratorijska centrifuga, Hettich Zentrifugen, ROTOFIX 32
- laboratorijsko posuđe
- UV/VIS spektrofotometar, Helios γ v 7.03
- vaga analitička, Kern
- vodena kupelj, Vamlab Limited, tip SUB 14

3.2. METODE

3.2.1. Određivanje udjela suhe tvari u varaždinskom zelju sušenjem na 105°C

U suhu i izvaganu posudicu stavi se oko 2 g lista kupusa i izvaže. Posudica u kojoj se nalazi ispitivana količina uzorka stavi se u laboratorijski sušionik zagrijan na 105±0,5°C te se zagrijava jedan sat do konstantne mase.

Račun:

$$\text{Suha tvar}(\%)=\frac{m2-m0}{m1-m0}\times 100$$

gdje je:

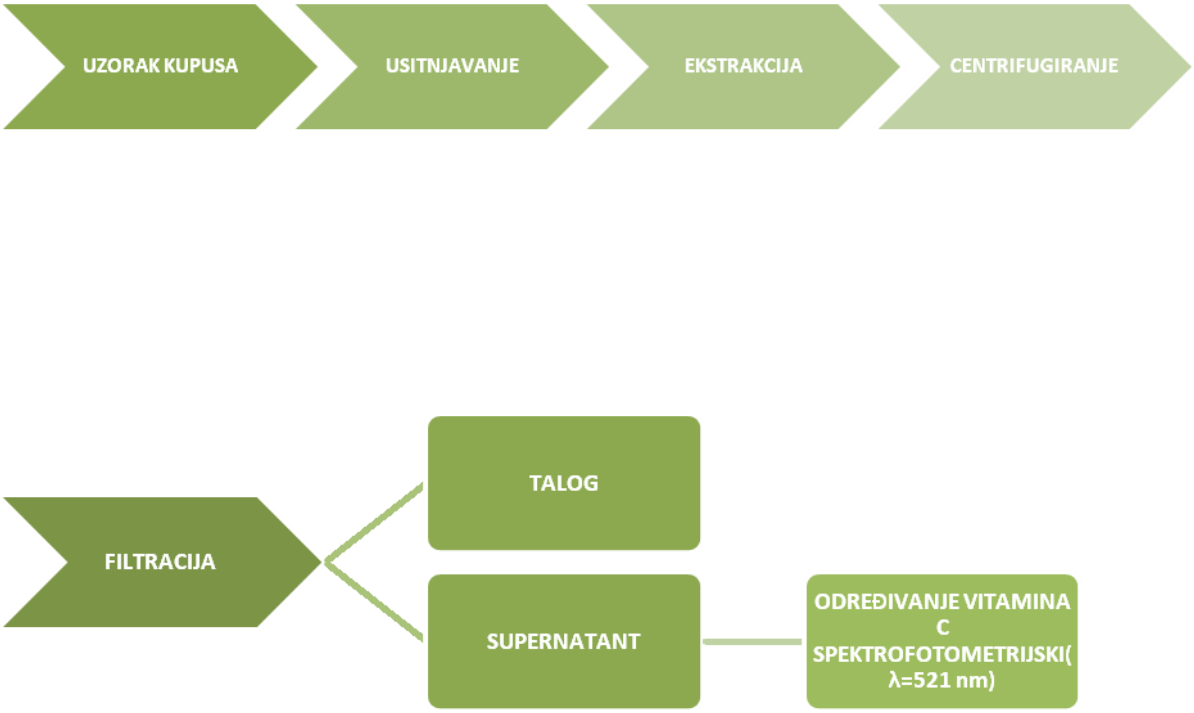
m_0 (g) - masa prazne posude

m_1 (g) - masa posude i uzorka prije sušenja

m_2 (g) - masa posude i uzorka nakon sušenja

3.2.2. Određivanje vitamina C u varaždinskom zelju

Uzorke kupusa najprije usitnimo u tarioniku pomoću tučka te ekstrahiramo pomoću smjese metafosforne i octene kiseline. Potom centrifugiramo da bismo lakše odvojili čvrste zaostale komponente smjese te provedemo filtraciju preko filtar papira. Talog bacimo, a dobiveni supernatant u kojem se nalazi vitamin C kojeg želimo odrediti koristimo za spektrofotometrijsku analizu (λ=521 nm). Na slici 8. prikazan je postupak pripreme i određivanja vitamina C.



Slika 8. Shema eksperimentalnog rada određivanja vitamina C u varaždinskom zelju

3.2.2.1. Priprema otopina za provođenje analize

Za pripremu otopine za ekstrakciju (otopina 1) potrebno je u odmjernoj tikvici od 200 mL otopiti 6,5 g metafosforne kiseline u 16 mL octene kiseline i nadopuniti tikvicu destiliranom vodom do oznake.

Za pripremu DNPH otopine potrebno je otopiti 500 mg DNPH u 6 mL 4.5 M sumporne kiseline.

3.2.2.2. Priprema biljnog materijala i ekstrakcija vitamina C

Deset uzoraka varaždinskog zelja homogenizira se u tarioniku sa 10 mL otopine 1 te se ekstrakti centrifugiraju (20 min, 5000 o min^{-1}). Supernatant se nakon centrifugiranja oddekantira u odmjernu tikvicu od 10 mL preko filter papira i nadopuni do oznake s otopinom 1. Prije mjerenja potrebno je uzorke razrijediti 10 puta.

3.2.2.3. Postupak mjerenja

U kivete se doda 2 mL ekstrakta i 115 µL 3 %tne bromne vode te se homogenizira. Nakon toga se doda 65 µL 10 % tne tiouree i 500 µL DNPH otopine. Slijedi inkubacija kroz 3 h pri 37 °C. Po završetku inkubacije uzorci se stave na led 30 min. U ohlađene uzorke se doda 2,5 mL ohlađene 85 % tne sumporne kiseline te se mjeri apsorbancija pri 521 nm. Za slijepu probu umjesto ekstrakta dodaje se 2 mL otopine 1 (Kapur i sur., 2012).

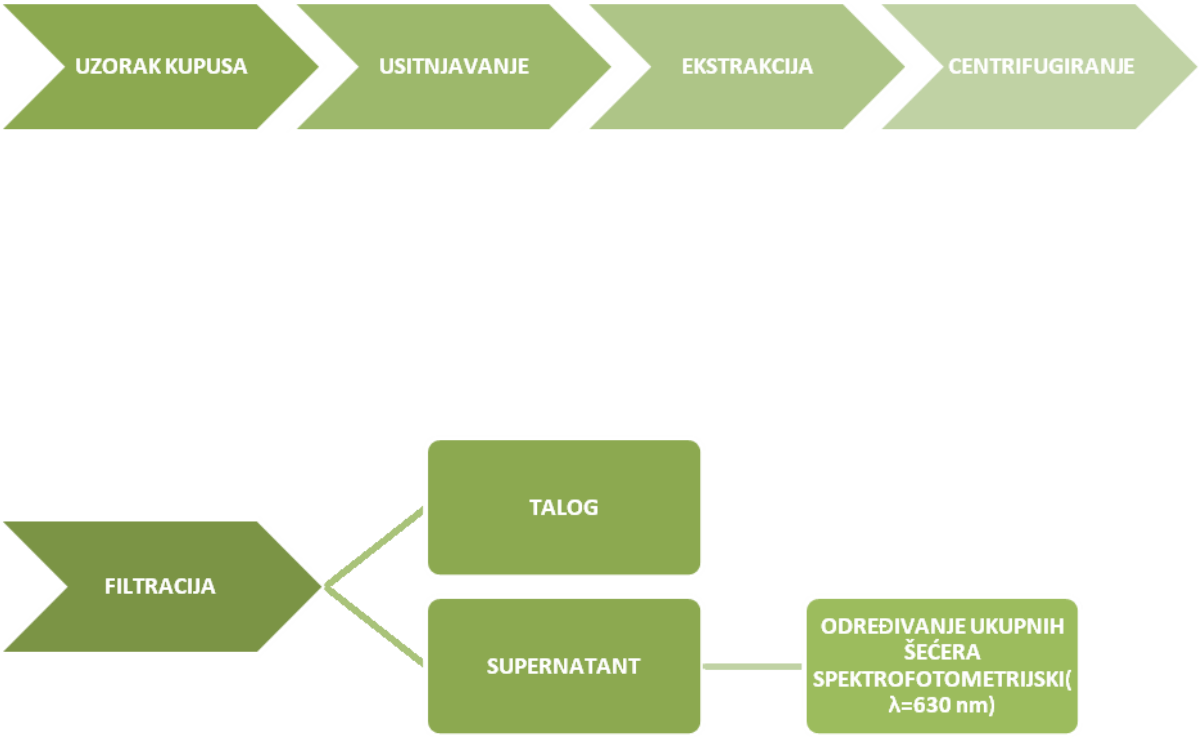
3.2.2.4. Izrada baždarnog pravca

Otopina askorbinske kiseline koncentracije 0,5 mg mL^{-1} pripremi se otapanjem 5 mg askorbinske kiseline u 10 mL otopine 1. Iz tako pripremljene otopine, naprave se razrjeđenja osnovne otopine do masene koncentracije od 0,005, 0,010, 0,025, 0,050, 0,100 mg mL^{-1}. Slijedi isti postupak kao i za mjerenje uzoraka, osim što se umjesto ekstrakta doda pripremljena

razrijeđena otopina standarda. Izmjerene vrijednosti apsorbancije uzoraka nanesu se na ordinatu koordinatnog sustava, dok se masena koncentracije askorbinske kiseline (mg mL^{-1}) nanesu na apscisu. Pomoću računala se nacrta baždarni pravac. Prema dobivenoj jednadžbi pravca izračuna se udio vitamina C u uzorcima zelja.

3.2.3. Određivanje ukupnih ugljikohidrata u varaždinskom zelju

Uzorke kupusa najprije usitnimo u tarioniku pomoću tučka te ekstrahiramo pomoću smjese anthrona i sulfatne kiseline. Potom centrifugiramo da bismo lakše odvojili čvrste zaostale komponente smjese te provedemo filtraciju preko filtar papira. Talog bacimo, a dobiveni supernatant u kojem se nalaze ukupni ugljikohidrati koje želimo odrediti koristimo za spektrofotometrijsku analizu (λ=630 nm). Na slici 9. prikazan je postupak pripreme i određivanja ukupnih ugljikohidrata.



Slika 9. Shema eksperimentalnog rada određivanja ukupnih ugljikohidrata u varaždinskom zelju

3.2.3.1. Priprema otopina za provođenje analize

Za pripremu anthrona potrebno je u tikvici od 100 mL otopiti 200 mg anthrona u 100 mL 95 %tne sulfatne kiseline te nadopuniti do oznake.

3.2.3.2. Priprema biljnog materijala i ekstrakcija ukupnih ugljikohidrata

Uzorci varaždinskog zelja (4 g) homogeniziraju se u tarioniku sa 20 mL destilirane vode te se provede ekstrakcija zagrijavanjem uzoraka u vodenoj kupelji pri 85 °C 30 minuta. Ekstrakti se centrifugiraju, a supernatant se oddekantira u odmjernu tikvicu od 10 mL preko filter papira i nadopuni do oznake destiliranom vodom. Prije mjerenja potrebno je uzorke razrijediti 100 puta.

3.2.3.3. Postupak mjerenja

Dobivenom volumenu ekstrakta uzorka od 0,5 mL se doda 2 mL otopine anthrona te se zagrijava u vrućoj vodenoj kupelji kroz 10 min, hladi na ledu i mjeri apsorbancija pri 630 nm.

3.2.3.4. Izrada baždarnog pravca

Otopina glukoze koncentracije 1 mg mL^{-1} pripremi se otapanjem 100 mg glukoze u 100 mL destilirane vode. Iz tako pripremljene otopine, naprave se razrjeđenja osnovne otopine glukoze do masenih koncentracija od 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 mg mL^{-1}. Slijedi isti postupak kao za mjerenje uzoraka, osim što se umjesto ekstrakta doda pripremljena razrijeđena otopina. Izmjerene vrijednosti apsorbancije uzoraka nanesu se na ordinatu koordinatnog sustava, dok se masena koncentracije glukoze (mg mL^{-1}) nanese na apscisu. Pomoću računala se nacrta baždarni pravac. Prema dobivenoj jednadžbi pravca izračuna se udio ukupnih ugljikohidrata kao ekvivalent glukoze u uzorcima varaždinskog zelja.

4. REZULTATI I RASPRAVA

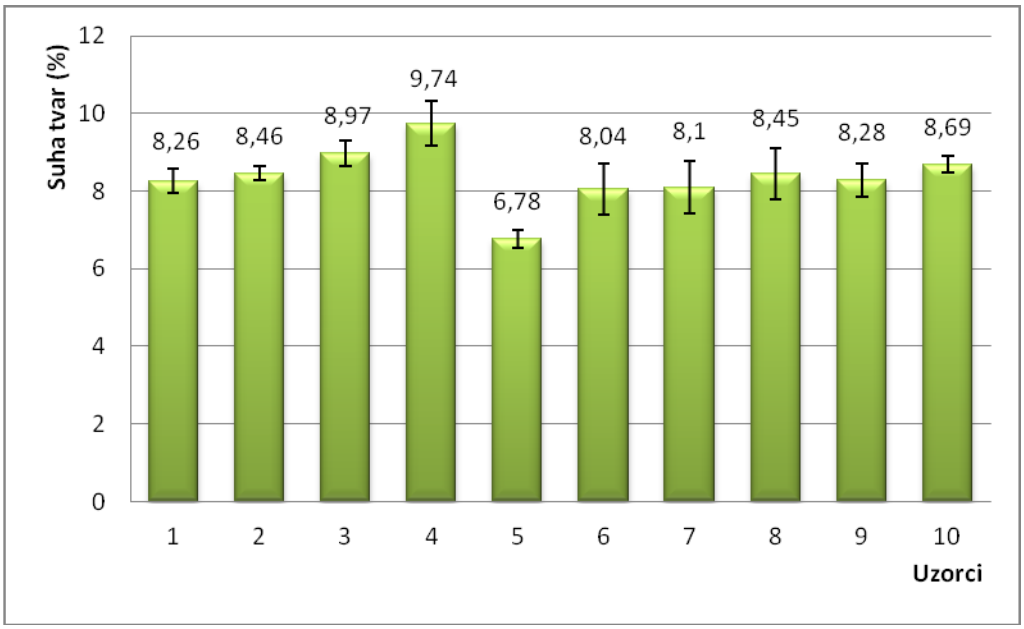
Posebnost proizvoda varaždinsko zelje je činjenica da predstavlja izvorni hrvatski proizvod od izvorne hrvatske sorte koji ujedno simbolizira i doprinosi održanju vlastite poljoprivredne bioraznolikosti. S obzirom da se sve faze proizvodnje varaždinskoga zelja odvijaju u tom zemljopisnom području, od sjemena do gotovog proizvoda, zaštitom izvornosti se dodatno jamči ujednačena kvaliteta proizvoda (Bogović i sur., 2011).
U svrhu zaštite izvornosti, sljedivost u lancu proizvodnje varaždinskoga zelja temelji se na označavanju i evidenciji svake isporučene količine uz potrebnu prateću dokumentaciju, te na dokumentacijskom sustavu koji je propisan specifikacijom, odnosno na dokumentima koji su propisani zakonskom regulativom. Praćenje i nadzor sljedivosti u proizvodnji varaždinskoga zelja omogućeno je putem dokumentacijskoga sustava koji sadrži niz posebnih internih obrazaca u koje se upisuju ključni podaci. Ukoliko je varaždinsko zelje proizvedeno u skladu sa specifikacijom prilikom prodaje se uz prateću dokumentaciju stavlja i oznaka izvornosti (Bogović i sur., 2011).

U ovom radu ispitani su udjeli suhe tvari, vitamina C i ukupnih ugljikohidrata u deset uzoraka varaždinskog zelja. Udjeli vitamina C i ugljikohidrata su određeni spektrofotometrijski. Određivanje udjela vitamina C se temelji na oksidaciji askorbinske kiseline do dehidroaskorbinske kiseline bromnom vodom u prisutnosti octene kiseline, a apsorbancija se mjeri na 521 nm. Određivanje udjela ukupnih ugljikohidrata se temelji na reakciji ugljikohidrata iz uzoraka s Anthronovim reagensom kuhanjem u kiseloj sredini, a apsorbancija se mjeri na 630 nm.

4.1. Određivanje suhe tvari u varaždinskom zelju

Ukupnu suhu tvar čini cjelokupni sadržaj tvari iz sastava proizvoda, koja ne isparava pod definiranim uvjetima. Ovisno o sastavu proizvoda, za određivanje ukupne suhe tvari primjenjuju se tri postupka sušenja: sušenje na 105 °C, sušenje u vakuumu i destilacija. Sušenjem pri 105 °C određuje se ostatak uzorka nakon sušenja do konstantne mase (Voća i sur., 2011).

U istraživanjima kemijskog sastava udio suhe tvari iznosi od 6,1 do 11,10 % (Kovačić, 2006). Po literaturi, sadržaj suhe tvari u varaždinskom zelju iznosi minimalno 8% (Vincek i sur., 2012). Rezultati mjerenja izraženi su u postotcima (%) na slici 10.



Slika 10. Rezultati analize udjela suhe tvari u 10 uzoraka varaždinskog zelja

Iz dobivenih podataka se može vidjeti da se udio suhe tvari u analiziranim uzorcima varaždinskog zelja kreće u rasponu od 6,78 ± 0,23 do 9,74 ± 0,57, pri čemu je najmanji postotak suhe tvari zabilježen kod uzoraka 5, 6 i 7, dok najveći postotak suhe tvari imaju uzorci 3 i 4 (slika 10).

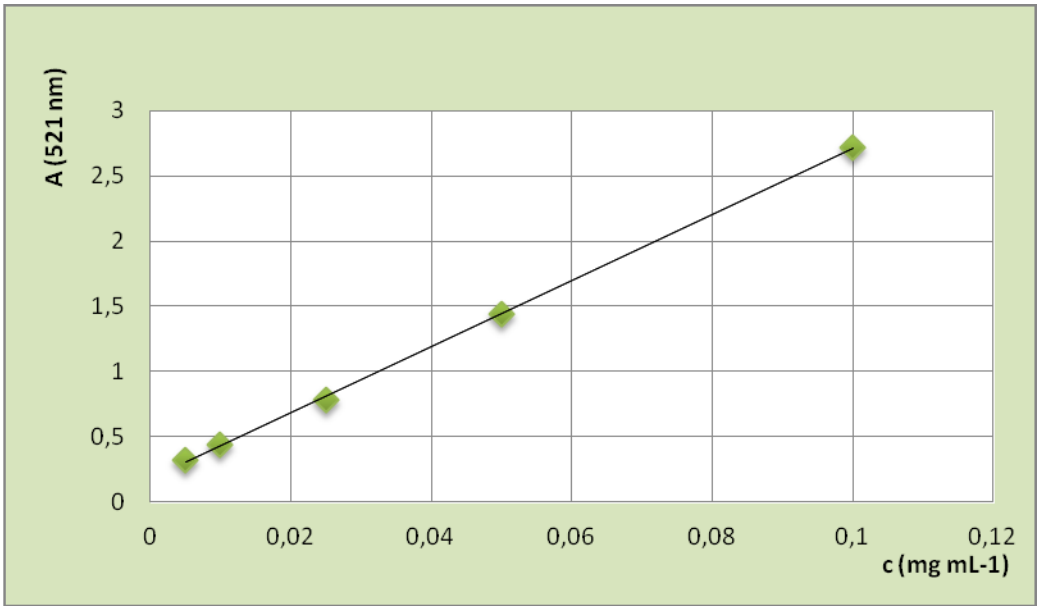
Po literaturi, sadržaj suhe tvari u varaždinskom zelju iznosi minimalno 8% pa možemo zaključiti da su uzorci 1,2,3,4,6,7,8,9,10 u skladu s literaturnim podacima (Vincek i sur., 2012), dok uzorak 5 ne pokazuje veliko odstupanje.

4.2. Određivanje vitamina C u varaždinskom zelju

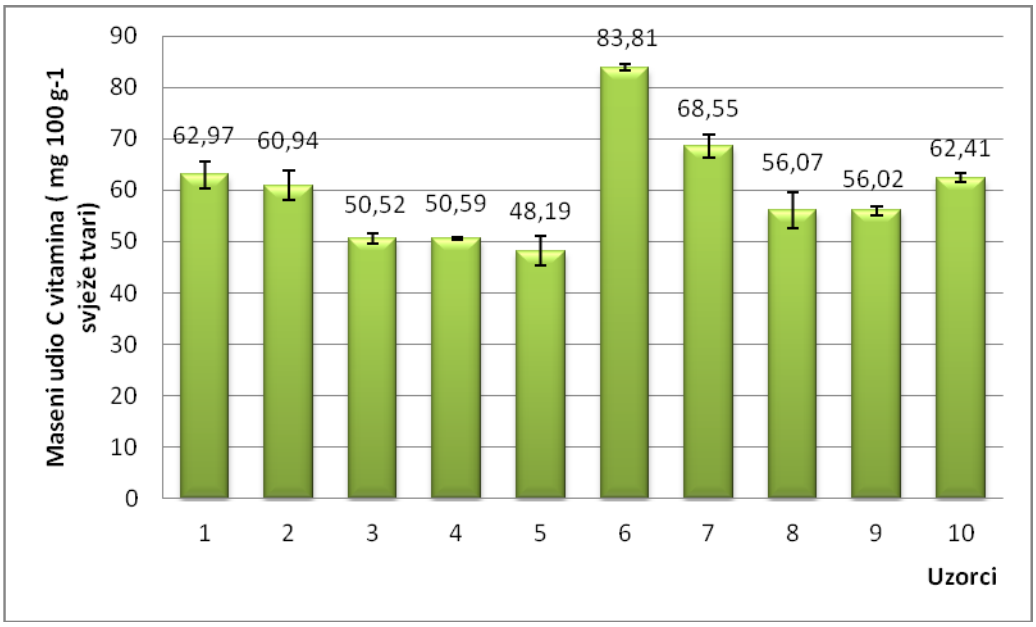
U ovom radu smo koristili spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupne askorbinske kiseline reagirale sa kiselim 2,4-dinitrofenilhidrazinom (DNPH) u 10 uzoraka varaždinskog kupusa. DNPH postupak je jedan od najjednostavnijih, točnih i važećih metoda za određivanje sadržaja ukupne askorbinske kiseline u svježoj hrani, kao što su voće i povrće.

U navedenoj metodi, askorbinska kiselina se oksidira do dehidroaskorbinske kiseline, dodavanjem bromne vode, u prisutnosti octene kiseline. Nakon toga L-dehidroaskorbinska kiselina reagira s 2,4- dinitrofenilhidrazinom (DNPH) i proizvodi osazon, koji tretiran s 85 % sumpornom kiselinom (H_2SO_4) daje crveno obojenje otopine. Nakon hlađenja mjeri se apsorbancija spektrofotometrijski na 521 nm (Kapur i sur., 2012).

Rezultati mjerenja izraženi su u mg po 100 grama svježe tvari uzorka. Standardne otopine vitamina C za baždarni pravac pripravljene su otapanjem askorbinske kiseline tako da se dobije željeno područje koncentracija. Na temelju apsorbancija standardnih otopina, izrađen je baždarni pravac za određivanje koncentracije vitamina C u uzorcima. Baždarni dijagram je prikazan na slici 11, dok su rezultati mjerenja prikazani na slici 12.



Slika 11. Baždarni pravac ovisnosti apsorbancije o masenom udjelu askorbinske kiseline



Slika 12. Rezultati analize udjela vitamina C u 10 uzoraka varaždinskog zelja

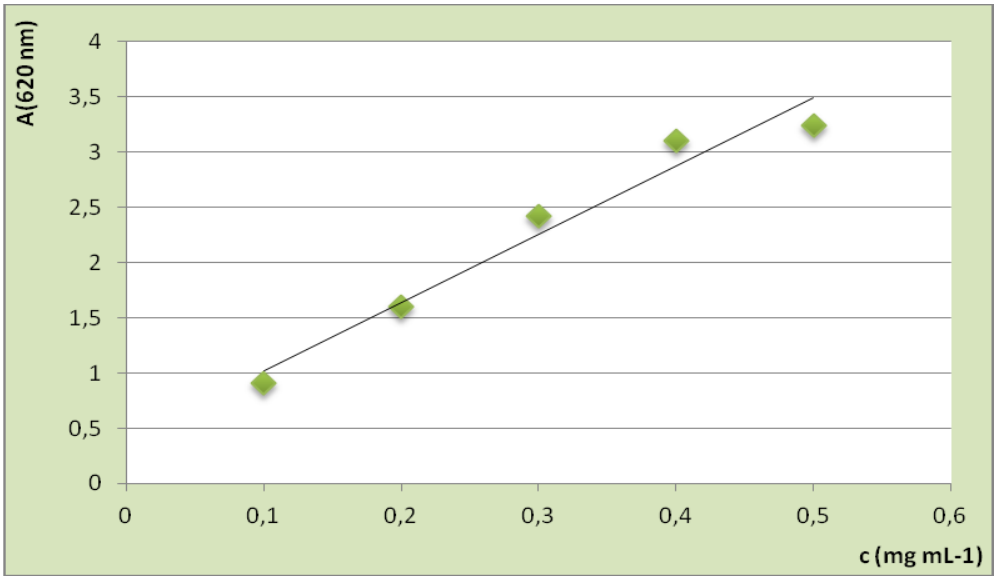
Iz dobivenih podataka se može vidjeti da se sadržaj vitamina C u analiziranim uzorcima varaždinskog zelja kreće u rasponu od 48,19 ± 2,81 do 83,81 ± 0,64 mg 100 g^{-1} svježe tvari, pri čemu je najmanji udio vitamina C zabilježen u uzorcima 3, 4 i 5, a najveći udio vitamina C imaju uzorci 6 i 7 (slika 12).

Kako se udio L-askorbinske kiseline u varaždinskom zelju prema literaturi kreće u rasponu od 13 do 70 mg 100 g^{-1} svježe sirovine (Kovačić, 2006), možemo zaključiti da su svi uzorci zadovoljavajući po udjelu vitamina C, a uzorak 6 odskače iznad zadane vrijednosti.

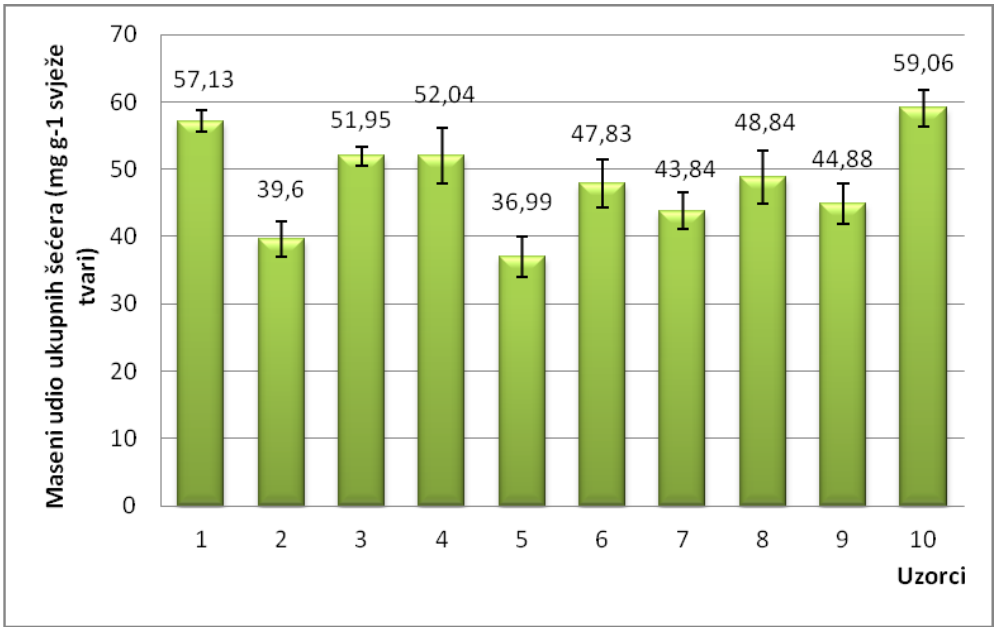
4.3. Određivanje ukupnih ugljikohidrata u varaždinskom zelju

U ovom radu smo koristili spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupnih ugljikohidrata reagiralih sa Anthronovim reagensom u 10 uzoraka varaždinskog kupusa. Metoda po Anthronu je kemijska metoda koja se temelji na reakciji ugljikohidrata iz uzoraka s Anthronovim reagensom kuhanjem u kiseloj sredini. Dodatkom H_2SO_4 dolazi do hidrolize složenih ugljikohidrata sve do glukoze, uslijed čega nastaje kompleks zeleno-plavog obojenja, te se nakon hlađenja mjeri apsorbancija spektrofotometrijski pri 620 nm. Zahvaljujući snažnom oksidacijskom učinku H_2SO_4, na ovaj način se mogu obuhvatiti reducirajući i nereducirajući šećeri (Koprivnjak, 2014).

Rezultati mjerenja izraženi su u g po gramu suhe tvari uzorka. Standardne otopine glukoze za baždarni pravac pripravljene su otapanjem glukoza monohidrata tako da se dobije željeno područje koncentracija. Na temelju apsorbancija standardnih otopina, izrađen je baždarni pravac za određivanje udjela ukupnih topljivih ugljikohidrata u uzorcima, izraženih kao ekvivalent glukoze. Baždarni dijagram prikazan je na slici 13, dok su rezultati mjerenja prikazani na slici 14.



Slika 13. Baždarni pravac ovisnost apsorbancije o masenom udjelu glukoze



Slika 14. Rezultati analize ukupnih ugljikohidrata u 10 uzoraka varaždinskog zelja

Iz dobivenih podataka može se vidjeti da se udio ugljikohidrata kreće se u rasponu od do 36,99±3,01 do 59,06±2,80 mg g^{-1} svježe tvari pri čemu je najmanji udio zabilježen kod uzoraka 2 i 5, a najveće koncentracije imaju uzorci 1 i 10 (slika 14).

S obzirom na podatak da varaždinsko zelje ima minimalan udio šećera 40 mg g^{-1} svježe tvari, možemo zaključiti su dobiveni maseni udjeli u skladu s literaturnim podacima, izuzev uzoraka 2 i 5 čiji udio šećera je neznatno manji od zahtijevanog.

Jedna od važnih karakteristika kupusa je da sadržava visoki udio ugljikohidrata. Od šećera prisutnih u kupusu, fruktoza, glukoza i saharoza čine većinu i čine od 20 do 40% ukupne mase kupusa na osnovi suhe mase. Ipak, faktori koji utječu na koncentraciju šećera u kupusu, nedovoljno su poznati. Smatra se da datum sadnje utječe na koncentracije fruktoze, glukoze i saharoze u kupusu, te da je veći udio ukupnih šećera u kupusu uzgojenog u jesen. Veća učestalost navodnjavanja povećava koncentraciju ukupnih reducirajućih šećera u sortama kupusa, te učinak navodnjavanja ovisi o godišnjem dobu rasta (Radovich i sur., 2005).

Šećeri se u pročišćenom ekstraktu ili tekućem uzorku mogu odrediti fizikalnim, kemijskim, kromatografskim, enzimskim i imunološkim metodama. Kod kromatografskih metoda moguće je razdvojiti smjesu ugljikohidrata te provesti identifikaciju i kvantificirati prisutne spojeve (Koprivnjak, 2014). U ovom radu primijenjena metoda se pokazala relativno uspješnom, no preporuča se korištenje drugih, dodatnih metoda kao što je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) radi preciznijeg određivanja udjela pojedinih ugljikohidrata.

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu provedena je analiza udjela suhe tvari, vitamina C i ukupnih ugljikohidrata u deset uzoraka varaždinskog zelja. Na temelju dobivenih rezultata analize može se zaključiti:

1. Udio suhe tvari u analiziranim uzorcima varaždinskog zelja se kreće u rasponu od 6,78 ± 0,23 do 9,74 ± 0,57. Uzorci 1,2,3,4,6,7,8,9,10 su u skladu s literaturnim podacima, dok uzorak 5 pokazuje malo odstupanje.

2. Udio vitamina C u analiziranim uzorcima varaždinskog zelja se kreće u rasponu od 48,19 ± 2,81 do 83,81 ± 0,64 mg 100 g^{-1} svježe tvari. Dobiveni podaci udjela vitamina C u analiziranim uzorcima su u skladu s literaturnim podacima, a uzorak 6 ima najveći udio vitamina C.

3. Udio ugljikohidrata kreće se u rasponu od do 36,99 ± 3,01 do 59,06 ± 2,80 mg g^{-1} svježe tvari. Dobiveni maseni udjeli u skladu su s literaturnim podacima, izuzev uzoraka 2 i 5 čiji udio šećera je neznatno manji od zahtijevanog.

6. LITERATURA

Anonymous (2014) <http://agronomija.rs/2014/kila-kupusa-plasmodiophora-brassicae/>. Pristupljeno 28. svibnja 2016.

Bogović, M., Vincek, D., Ozimec, R. (2011) Povijesni pregled uzgoja Varaždinskog zelja od aktualne zaštite izvornosti. *Agr. glasnik,* **3**, 151-162.

Jahangir, M., Kim, H. K., Choi, Y. H., Verpoorte, R. (2009) Health-Affecting Compounds in Brassicaceae. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2**, 31-43.

Kapur, A., Hasković, A., Čopra-Janićijević, A., Klepo, L., Topčagić, A., Tahirović, I.,Sofić, E. (2012) Spectrophotometric analysis of total ascorbic acid content in various fruits and vegetables. *Bull. Chem. Technol. Bosnia Herzegovina*. 39-42.

Koprivnjak, O. (2014) Kvaliteta, sigurnost i konzerviranje hrane, Sveučilište u Rijeci, Rijeka.

Kovačić D. (2006) Zaštita izvornosti Varaždinskog zelja, Agrarno savjetovanje d.o.o., Zagreb

Lee, C. C., Shallenberger, R., Vittum, M. (1970). Free sugars in fruits and vegetables.

Lee, S. K., Kader, A. A. (2000) Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharv. Biol. Technol.* **20**, 207–220.

Linster, C. L., & Van Schaftingen, E. (2007) Vitamin C. *Febs Journal*. **1**, 1-22.

Müller-Moulé, P., Conklin, P. L., Niyogi, K. K. (2002) Ascorbate deficiency can limit violaxanthin de-epoxidase activity in vivo. *Plant Physiology*. **3**, 970-977.

Nosek, M., Surówka, E., Cebula, S., Libik, A., Goraj, S., Kornas, A., Miszalski, Z. (2011) Distribution pattern of antioxidants in white cabbage heads (Brassica oleracea L. var. capitata f. alba). *Acta Physiol. Plant.* **6**, 2125-2134.

Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y. (2003) Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *J. Amer. Coll. Nutr.* **22**, 18-35.

Park, S., Arasu, M. V., Lee, M. K., Chun, J. H., Seo, J. M., Lee, S. W., Kim, S. J. (2014) Quantification of glucosinolates, anthocyanins, free amino acids, and vitamin C in inbred lines of cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Food Chem.* **145**, 77-85.

Radovich, T. J., Kleinhenz, M. D., Streeter, J. G. (2005) Irrigation timing relative to head development influences yield components, sugar levels, and glucosinolate concentrations in cabbage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **6**, 943-949.

Rokayya, S., Li, C. J., Zhao, Y., Li, Y., Sun, C. H. (2013) Cabbage (Brassica oleracea L. var. capitata) Phytochemicals with Antioxidant and Anti-inflammatory Potential. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **11**, 6657-6662.

Simon, J. A. (1992) Vitamin C and cardiovascular disease: a review. *J. Amer. Coll. Nutr.* **11**, 107-125.

Šamec, D., Pavlović, I., & Salopek-Sondi, B. (2015) White cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata f. alba*): botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochem. Rev.*1-19.

Vincek, D., Ozimec, R., Bogović, M. (2012) Varaždinsko zelje, Mediaks d.o.o., Varaždin

Voća, S., Dobričević, N., Žlabur, J.Š. (2011) Priručnik za vježbe iz modula Prerada voća i povrća, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.