



NTNU - Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Institutt for bioteknologi og matvitenskap

BACHELOROPPGAVE 2023

15 studiepoeng

EN EVALUERING AV EKSTRAKSJONSMETODER FOR VITAMIN C I ULIKE
BLADGRØNNSAKER OG SALTURT

utført av

Rikke Gjølmesli Thomassen
Fanny Hajdu-Andersson

Dette arbeidet er gjennomført som ledd i bachelorutdanningen i matvitenskap, teknologi og bærekraft ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap, NTNU. Bruk av oppgavens innhold skjer på eget ansvar.

Forord

Denne bacheloroppgaven ble utført ved Institutt for Bioteknologi og Matvitenskap, NTNU, Trondheim, våren 2023. Oppgaven teller 15 studiepoeng og er en del av det avsluttende arbeidet ved studieprogrammet Matvitenskap, teknologi og bærekraft. Det praktiske arbeidet ble utført ved analytisk laboratorium og prosesslaboratorium på Kalvskinnet, Trondheim. Oppgaven er finansiert av NTNU og er et bidrag til LunarPlant prosjektet.

Vi ønsker å gi en stor takk til våre veiledere Lisbeth Mehli og Gunn Merethe Bjørge Thomassen for både praktisk og teoretisk veiledning. De har begge vært engasjert og bidratt med god kompetanse og motivasjon. I tillegg ønsker vi å uttrykke stor takknemlighet overfor John-Kristian Jameson som har vært til stor hjelp med det praktiske arbeidet på analytisk laboratorium.

Trondheim 22. mai 2023

Rikke Thomassen

Fanny HA

Rikke G. Thomassen

Fanny Hajdu-Andersson

Sammendrag

Hovedmålet med denne oppgaven var å bestemme den mest gunstige ekstraksjonsmetoden for vitamin C i ulike plantematerialer. Dette ble gjort ved å utføre og deretter vurdere utvalgte ekstraksjonsmetoder.

Det ble tatt utgangspunkt i to ekstraksjonsmetoder, metode A og metode B, med noen tilpasninger. Basert på hvilken forbehandlingsmetode som ble benyttet på plantematerialet, ble metodene inndelt i fire ekstraksjonsmetoder: metode A med med frysetørket plantemateriale (AF), metode A med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen (AN), metode B med frysetørket plantemateriale (BF) og metode B med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen (BN). Ekstraksjon ble utført på tre forskjellige plantematerialer: salat, grønnkål og salturt. Alle ekstrakter ble injisert i et HPLC-instrument for detektering og kvantifisering av vitamin C. Den endelige vurderingen av ekstraksjonsmetodene ble basert på kvantifisert innhold av vitamin C, i tillegg til en evaluering av hvor krevende utførelsen av metodene var.

Ved ekstraksjon fra salat ble det kvantifisert høyest innhold av vitamin C ved utførelse av metode AN, men for grønnkål og salturt ble det kvantifisert høyest vitamin C innhold med metode AF. Både metode AF og AN ga signifikant høyere innhold av vitamin C enn metodene BF og BN. Resultatene viste at uavhengig av forbehandlingsmetode, ble det kvantifisert et høyere vitamin C innhold i salat, grønnkål og salturt, ved utførelse av metode A, enn ved utførelse av metode B. Ved evaluering av utførelsen av de fire ekstraksjonsmetodene ble metode AN vurdert som minst krevende. Det ble derfor konkludert med at metode AF og AN, avhengig av type plantemateriale, er de mest gunstige metodene dersom høyest utbytte vektlegges, og at metode AN var den mest gunstigste metoden dersom utførelsen vektlegges. Ved vektlegging av både utførelse og kvantifisering av vitamin C innhold, er metode A generelt mer gunstig enn metode B.

Abstract

The main goal of this task was to determine the most favorable extraction method with respect to vitamin C in various plant materials. This was determined by performing and evaluating a selection of extraction methods.

Two extraction methods were performed, method A and method B, with some adjustments. Based on the pretreatment of the plant material, these methods were divided into four extraction methods: method A with freeze-dried plant material (AF), method A with plant material treated with liquid nitrogen (AN), method B with freeze-dried plant material (BF) and method B with plant material treated with liquid nitrogen (BN). The extractions were performed on three different plant materials: lettuce, kale and saltwort. All the extracts were injected into an HPLC instrument for detection and quantification of vitamin C. The final assessment of the extraction methods was based on the quantified content of vitamin C, as well as an evaluation of how demanding the execution of the methods were.

When extracting from lettuce, the highest content of vitamin C was quantised using method AN, however for kale and saltwort, the highest vitamin C content was quantified using method AF. Both methods, AF and AN, gave significantly higher content of vitamin C compared to methods BF and BN. The results showed that irrespective of the pre-treatment method, a higher vitamin C content was quantified in lettuce, kale and saltwort when performing method A, compared to method B. When evaluating the performance of the four extraction methods, method AN was considered to be least demanding. Based on this, it was concluded that methods AF and AN, depending on the type of plant material analyzed, are the most favourable methods if the highest yield is emphasized, and that method AN is the most favourable method if execution is emphasized. When emphasizing both the execution and quantification of vitamin C content, method A is generally more beneficial than method B.

1. Innledning	1
2. Teori	2
2.1 Ernæring påvirker helsen	2
2.1.1 Råd om frukt og grønnsaker i kostholdet	2
2.1.2 Effekter av vitamin C i kostholdet	2
2.2 Opptak av vitamin C i kroppen	3
2.3 Funksjonen til vitamin C i kroppen	4
2.4 Anvendelse av vitamin C innen industri	5
2.5 Bladgrønnsaker og salturt	6
2.5.1 <i>Lactuca sativa</i> (salat)	6
2.5.2 <i>Brassica oleracea</i> (grønncål)	7
2.5.3 <i>Salicornia europaea</i> (salturt)	7
2.6 Hydroponisk dyrking	7
2.7 Prinsippet bak ekstraksjon	9
2.7.1 Prøvepreparering	10
2.7.2 Frysetørring	10
2.7.3 Faststoff-væske ekstraksjon	10
2.8 Deteksjon av vitamin C	11
2.8.1 Høyeffektiv væskerkromatografi	11
3. Materiale og metode	13
3.1 Plantemateriale	14
3.2 Behandling av plantemateriale	15
3.2.1 Frysetørring	15
3.2.2 Flytende nitrogen	16
3.3 Ekstraksjonsmetoder for analyse av C vitamin	16
3.3.1 Metode A	17
3.3.2 Metode B	19
3.4 Deteksjon av vitamin C	22
3.5 Identifisering og kvantifisering av vitamin C	23
3.6 Statistiske metoder	24
3.7 Evaluering av utførelse	24
4. Resultat	26
4.1 Kvantifisering av vitamin C i salat, grønncål og salturt	26
4.1.1 Total mengde vitamin C (TAA) i salat	26
4.1.2 Total mengde vitamin C (TAA) i grønncål	27
4.1.3 Total mengde vitamin C (TAA) i salturt	27
4.1.4 Kvantifisert AA og DHAA	28
4.2 Evaluering av utførelse av ekstraksjonsmetodene	29
5. Vurdering	31
5.1 Kvantifisert vitamin C i salat, grønncål og salturt	31
5.1.1 Kvantifisert TAA	31

5.1.2 Kvantifisert AA og DHAA	33
5.2 Utførelse av ekstraksjonsmetodene	34
6. Konklusjon	36
7. Videreføring av arbeid	37
8. Referanser	38

1. Innledning

Vitamin C, også kalt askorbinsyre, er et essensielt vitamin. Et kosthold med tilstrekkelig innhold av vitamin C er viktig ettersom at for lavt inntak av vitaminet kan føre til sykdom, mens tilstrekkelig inntak kan gi gunstige helseeffekter (Lee, 2019, s. 3). Flere kilder oppgir ulike verdier for innhold av vitamin C i matvarer. Variasjonen av vitamin C innhold kan være påvirket av flere faktorer, blant annet av ulike dyrkingsforhold og lagringsbetingelser, men også av metoden benyttet til å ekstrahere vitamin C fra matvaren. På bakgrunn av dette, er det av interesse å sammenligne ekstraksjonsmetoder for å videre kunne bestemme hvilke ekstraksjonsmetoder som er mest gunstig i henhold til ekstraksjon av vitamin C.

Innhentet informasjon om ekstraksjonsmetodene utført i denne oppgaven skal benyttes videre i prosjektet LunarPlant. Dette er et prosjekt, i samarbeid mellom CiRiS, NTNU, SINTEF og VTT, som forsker på bruken av hydroponisk dyrking av planter på månebase ved hjelp av menneskelig avfall som næringskilde (NTNU Samfunnsforskning, u.å.). Målet er å utvikle teknologi og kunnskap om lukkede livsstøttesystemer for langvarige romreiser, samt bærekraftig matproduksjon og resirkulering av ressurser. Derfor er det aktuelt å ha kunnskap om ekstraksjonsmetoder av næringsstoffer som vitamin C for å sikre tilstrekkelig ernæring i en eventuell fremtid utenfor jorden. I prosjektet er det først og fremst salat (lettuce) som er i fokus, men andre planter som eksempelvis grønnkål og spinat skal også dyrkes og analyseres. Bruk av menneskelig avfall er høyst aktuelt dersom mennesket etablerer en permanent månebase, ettersom at det er en ressurs hvor både næringsstoffer og vann kan gjenbrukes (NTNU Samfunnsforskning, u.å.).

Hovedmålet med denne oppgaven er å bestemme den mest gunstige ekstraksjonsmetoden for vitamin C i ulike plantematerialer. For å vurdere ekstraksjonsmetoder av vitamin C, blir det tatt utgangspunkt i to metoder og to ulike forbehandlingsmetoder. Ekstraksjonene utføres på salat, grønnkål og salturt. Endelig evaluering av ekstraksjonsmetodene baseres på kvantifisert vitamin C innhold og erfaringer med hensyn til utførelse av metodene.

2. Teori

2.1 Ernæring påvirker helsen

Ernæring er viktig av flere grunner, men det er særlig viktig som følge av påvirkningen det har på helsen. Riktig ernæring skal forsyne kroppen med de nødvendige næringsstoffene, som karbohydrater, fett, proteiner, vitaminer og mineraler, og er avgjørende for riktig vekst, utvikling og funksjon i kroppen. Både god psykisk og fysisk helse fremmes av riktig ernæring (Folkehelseinstituttet, 2023, pkt 2). I tillegg kan riktig ernæring forebygge en rekke sykdommer. Eksempelvis kan risikoen for utvikling av hjerte- og karsykdommer, kreft og diabetes type 2 reduseres som følge av riktig ernæring (Folkehelseinstituttet, 2018, s. 2). Ernæring påvirker ikke bare helsen positivt, feilernæring anses som en av de viktigste risikofaktorene i forhold til tidlig død og sykdom (WHO & FAO, 2003, s. 1). Det er noe uenighet rundt hva som anses å være riktig kosthold. Likevel er det en god del effekter mellom helse og ernæring som er godt dokumentert, slik at myndigheter kan gi råd og anbefalinger med hensyn til kosthold.

2.1.1 Råd om frukt og grønnsaker i kostholdet

Frukt og grønnsaker anses som en viktig del av et gunstig kosthold, både globalt og i Norge. Verdens helseorganisasjon anbefaler fem porsjoner med frukt og grønnsaker hver dag, og Helsedirektoratet anbefaler fem porsjoner med frukt, grønnsaker og bær hver dag (WHO, 2020; Helsedirektoratet, 2016, punkt 3). Normalt har frukt og grønnsaker lav energitetthet og høyt innhold av fiber, i tillegg til at det inneholder flere vitaminer og mineraler (Helsedirektoratet, 2011, s. 46). Frukt består av flere elementer som påvirker helsen, og inntak av frukt og grønnsaker anbefales grunnet påvist positiv effekt på helsen. Eksempelvis kan inntak av frukt og grønnsaker redusere risiko for utvikling av ulike kreftformer, hjerte- og karsykdommer, diabetes type 2, hjerneslag, metabolsk syndrom, høyt blodtrykk, overvekt og fedme (Helsedirektoratet, 2011, s. 53-54).

2.1.2 Effekter av vitamin C i kostholdet

Som nevnt ovenfor består frukt og grønnsaker av flere elementer som kan påvirke helsen, hvor vitamin C er en av disse. Frukt og grønnsaker har et naturlig høyt innhold av vitamin C og anses derfor som gode kilder til vitaminer. Mennesket har en mutasjon i enzymet som

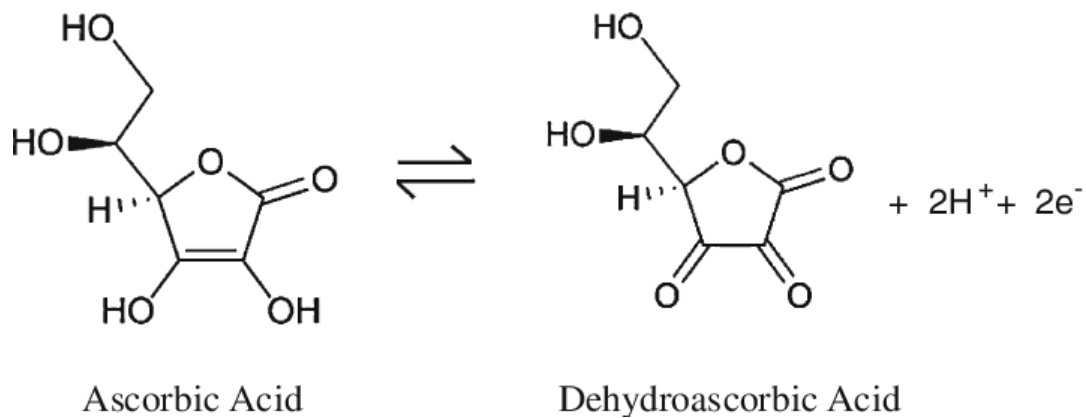
katalyserer det siste trinnet i produksjon av vitamin C, og kan derfor ikke syntetisere dette selv (Grosso et al., 2013). De fleste andre pattedyr kan derimot syntetisere vitamin C fra glukose i leveren (Wilson, 2002). På bakgrunn av dette anses derfor vitaminet som et essensielt vitamin for mennesket, og må derfor tilføres regelmessig gjennom kosten. I Norge får vi ca. 80% av vitamin C inntaket fra frukt og grønt (Nordic Council of Ministers, 2014, s. 465). Inntak av vitamin C er viktig da for lavt inntak kan føre til sykdom, mens tilstrekkelig inntak kan gi gunstige helseeffekter. Eksempelvis er mangel på vitamin C knyttet til sykdommen skjorbuk, som er en livstruende tilstand (Lee, 2019, s. 3). Det er blitt identifisert flere risikofaktorer knyttet til mangel på vitamin C, deriblant dårlig kosthold, alkoholisme, alderdom, dårlige økonomiske forhold og psykisk sykdom m.m. (Grosso et al., 2013). Vitamin C er vannløselig og skilles derfor ut med urinen, noe som betyr at vitaminet må tilføres jevnlig (NHI, 2022). Den anbefalte mengden for inntak av vitamin C per dag er 75 mg. For inntak av vitamin C er det ikke satt noen øvre grense, men det er satt en nedre grense på 10 mg per dag (Nordic Council of Ministers, 2014, s. 465).

2.2 Opptak av vitamin C i kroppen

For å forstå hvorfor vitamin C påvirker helsen er det nyttig med en beskrivelse av hvordan vitaminet tas opp og hvordan det fungerer i kroppen. Når mennesker spiser mat som inneholder vitamin C, vil vitamin C frigis som følge av at maten brytes ned av fordøyelsessystemet. Når vitaminet frigis fra maten, vil den den ioniserte formen av vitamin C, askorbat-ion (L-askorbinsyre), absorberes av enterocytter i menneskets tynntarm. Absorpsjonen skjer via transportører (proteiner) som befinner seg i membranen til enterocytterne. Etter at vitamin C er transportert inn i enterocytterne, blir vitaminet konvertert til den reduserte formen, vanlig askorbinsyre (AA), som er den foretrukne formen i kroppen. Vitaminet kan så passere gjennom veggene i tynntarmen og over i blodbanen, hvor det transporteres til forskjellige deler av kroppen, der det videre vil delta i viktige biologiske prosesser (Wilson, 2002).

Vitamin C reduseres i en totrinns reaksjon ved å enten donere ett eller to elektroner. Ved å donere ett elektron omdannes vitaminet til et L-askorbat radikal og videre til dehydroaskorbinsyre (DHAA) ved å donere to elektroner. DHAA er den oksiderte formen av vitamin C (Lee, 2019, s. 4-5). Denne formen for vitamin C finnes naturlig i mat, men dannes også i kroppen når AA oksideres i mage- og tarmkanalen (Malo & Wilson, 2000). For

illustrasjon av strukturformelen til AA og DHAA se Figur 1. Oksidasjon av AA til DHAA er en reversibel reaksjon, som vil si at DHAA kan reduseres tilbake til AA. Det finnes flere mekanismer for dette, inkludert reduksjon ved hjelp av NADPH-avhengige reduktaser (enzymer) (Wilson, 2002).



Figur 1: Strukturformel av askorbinsyre (AA) og den reduserte formen dehydroaskorbinsyre (DHAA) (Thomas et al., 2013).

2.3 Funksjonen til vitamin C i kroppen

Sammenlignet med andre antioksidanter har vitamin C et lavt potensial for elektronoverføring, noe som gjør den til en litt svakere antioksidant. Vitaminets unike redokspotensialet bidrar også til kjemisk ustabilitet (Lee, 2019, s. 5). Til tross for dette, er vitamin C et essensielt næringsstoff som har flere viktige funksjoner i kroppen. Vitaminet fungerer blant annet som en kofaktor for flere enzymer og er involvert i biosyntese av kollagen, karnitin og neurotransmittere. I tillegg hjelper vitaminet med opptak av jern og en rekke andre prosesser (Nordic Council of Ministers, 2014, s. 466). Videre vil dette delkapittelet gå grundigere inn på noen av de viktigste funksjonene til vitamin C.

Først og fremst virker vitamin C som en antioksidant og beskytter celler mot frie radikaler. Frie radikaler er ustabile molekyler som kan gjøre skade på celler og vev ved å stjele elektroner fra andre molekyler (Buettner & Schafer, 2000; Lee, 2019, s. 4). Vitamin C beskytter celler ved at den donerer et elektron til de frie radikalene, og på denne måten nøytraliserer dem og dermed hindrer oksidativ skade. Vitaminet uskadeliggjør også uønskede radikaler som dannes av andre antioksidanter, ved å konvertere radikalet tilbake til sin opprinnelige form (Lee, 2019, s. 5). I planter deltar vitamin C i glutathion-askorbatsyklusen,

som er en viktig prosess som fjerner hydrogenperoksider (H_2O_2) og andre reaktive oksygenforbindelser fra ulike planteorganeller. Dette er en viktig del av deres antioksidantforsvar (UIO, 2023).

Som nevnt er vitamin C også nødvendig for kollagenproduksjon. Kollagen er et protein som er en viktig byggekloss i bindevevet i kroppen, inkludert i hud, ledd, muskler, sener, hår m.m. (Nofima, 2022). Gjennom spesifikke hydrolyseenzymmer, stimulerer vitaminet produksjon av kollagen ved å donere elektroner til hydroksylering av prolin og lysin i forstadiet til kollagen (prokollagen). Under denne katalytiske syklusen, hjelper også askorbat (vitamin C) med å redusere fireverdig jern (Fe^{4+}) tilbake til toverdig jern (Fe^{2+}), og sørger dermed for å opprettholde normal enzymfunksjon både under og etter prosessen (Grosso et al., 2013).

Vitamin C forbedrer også jernopptaket i kroppen. Jern er et essensielt mineral som er nødvendig for produksjon av røde blodceller. Disse cellene sørger for oksygentilførsel fra lungene og til alle cellene i kroppen. Dersom produksjonen av røde blodceller er for lav, vil dette påvirke både vev og organer, og kan dermed føre til sykdom (Helsenorge, 2020). Vitamin C hjelper kroppen ved å opprettholde ikke-hemjern i en katalytisk og redusert form slik at det lettere kan tas opp i tarmen (Grosso et al., 2013).

2.4 Anvendelse av vitamin C innen industri

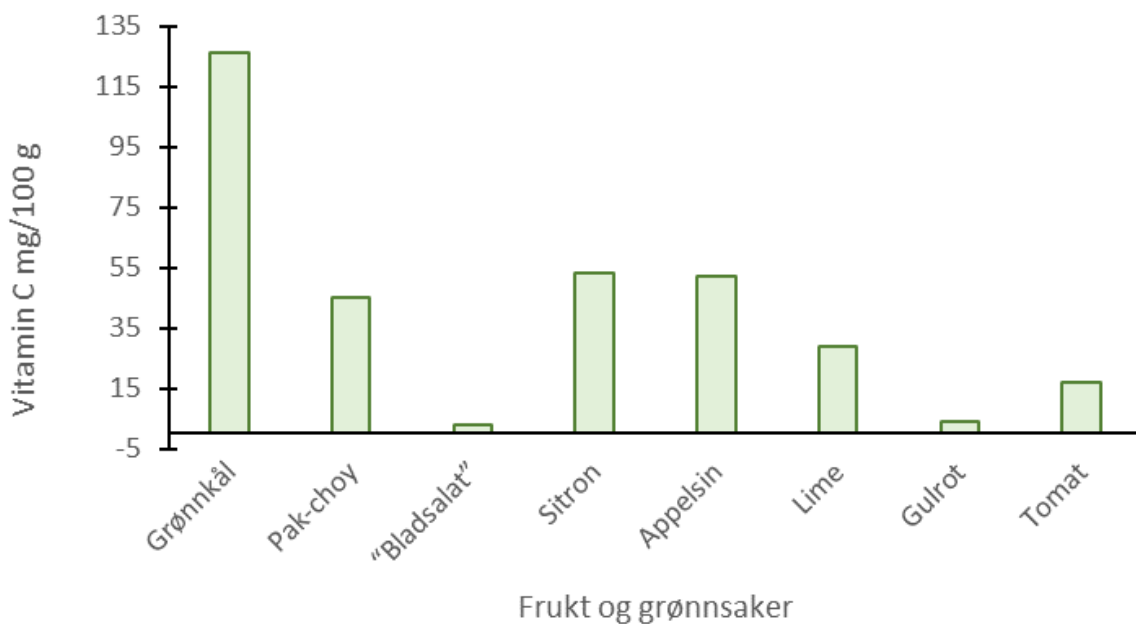
Vitamin C kan også bidra på andre områder, og er eksempelvis mye brukt innen ulike industrier som farmasi, næringsmiddelindustrien, fôrindustrien og kosmetikk. I tillegg til at det er mulig å ekstrahere vitaminet fra naturlige kilder som frukt og grønt, er det også mulig å fremstille det kjemisk. Ifølge Zou et al. (2013), kan kjemisk fremstilling av vitamin C blant annet gjøres ved utførelsen av to ulike metoder. Den første som nevnes er Reichsteinprosessen, som kort forklart innebærer syntetisering av vitamin C fra d-glukose gjennom seks kjemiske- og ett bakterielt fermenteringstrinn. Den andre metoden er en fermenteringsprosess hvor d-glukose konverteres til vitamin C gjennom to kjemiske trinn og to bakterielle fermenteringer (Zou et al., 2013).

I næringsmiddelindustrien benyttes vitamin C hovedsakelig til å forebygge og hemme oksidasjon i matprodukter. Oksidering i matvarer gir ofte tap av sensorisk kvalitet, ettersom at det kan føre til negative endringer i form av dårlig smak og lukt. Ved å tilsette vitamin C og

andre antioksidanter, vil en kunne forlenge holdbarheten til produktet (Aliste & Del Mastro, 2004). I dagens samfunn er det stort fokus på helse, naturlige antioksidanter er derfor av stor interesse for mange forbrukere da de anses å være tryggere å konsumere. Av samme grunn er mange skeptiske til syntetiske antioksidanter og andre tilsetningsstoffer, spesielt hvis de langsiktige effektene ikke er godt dokumentert (Aliste & Del Mastro, 2004).

2.5 Bladgrønnsaker og salturt

Bladgrønnsaker er som nevnt kilder til flere ulike vitaminer og mineraler. Når det gjelder vitamin C trekkes ofte sitrusfrukter frem som gode kilder til vitamin C, men noen bladgrønnsaker er også gode kilder til dette vitaminet. Eksempelvis inneholder grønnkål og pak-choy henholdsvis 126 mg og 45 mg per 100 gram matvare (Mattilsynet, 2022). Til sammenligning inneholder sitron, appelsin og lime henholdsvis 53 mg, 52 mg og 29 mg per 100 gram matvare (Mattilsynet, 2022). Figur 2 illustrerer en oversikt over vitamin C innhold i utvalgte sitrusfrukter og grønnsaker.



Figur 2: Vitamin C innhold i ulike sitrusfrukter og grønnsaker. Tallverdier er hentet fra Matvaretabellen (Mattilsynet, 2022).

2.5.1 *Lactuca sativa* (salat)

Lactuca sativa L., vanligvis omtalt som salat, er en av verdens mest konsumerte grønnsaker (Kim et al., 2016, s. 19). Bladgrønnsaken tilhører slekten *Lactuca* og kategoriseres under

familien *Asteraceae* som er en av de største plantefamiliene. Familien inkluderer mer enn 23000 arter og vokser på alle verdens kontinenter, med unntak av Antarktis (Anderberg et al., 2007, s. 62). Planten har ikke strenge vekstvilkår og kan derfor dyrkes relativt lett. Det finnes mange varianter av denne bladgrønnsaken som varierer både i fasong, farge og smak. Den ernæringsmessige verdien varierer derfor også, men de er generelt rike på vitamin A og K (The Editors of Encyclopaedia Britannica, 1998a).

2.5.2 *Brassica oleracea* (grønncål)

Brassica oleracea, også kjent som grønncål, er en planteart som stammer fra Brassica-slekten, også kalt kålslekta. Den er en del av korsblomstfamilien, en familie som omfatter over 4060 arter (Jørgensen, 2021). Bladgrønnsaken er en hardfør plante og kan derfor dyrkes på høsten og videre inn mot vinteren. Dette er spesielt gunstig, da den kan dyrkes utenom sesongen for de fleste andre ferske grønnsaker (The Editors of Encyclopaedia Britannica, 1998b). Grønncål konsumeres ofte rå, men kan også varmebehandles. Bladgrønnsaken er en kilde til vitamin A, vitamin B6, vitamin B9, vitamin C, vitamin K, jern og kalium (Bama, u.å.a).

2.5.3 *Salicornia europaea* (salturt)

Salicornia europaea, også kjent som salturt, er en plante som tilhører amarantfamilien, en familie med omtrent 2000 arter (Vetlesen, 2023). Salturt er en halofytt, altså en plante som kan vokse på steder med høyt saltinnhold (Loconsole et al., 2019). Halofytter er svært interessante planter ettersom at de kan kultiveres på relativt lite areal med saltinnhold, eksempelvis i sjøvann eller i områder nært havet (Jouyban, 2012, s. 7). Som navnet tilsier inneholder salturt mye salt og kan derfor være en kilde til salt i kosten. Salturt kan tilberedes både rå og kokt i matlaging. I tillegg til at salturt kan bidra til ernæring er det verdt å nevne at kultivering av salturt kan være gunstig som følge av at tilstedeværelse av rhizobakterier i røttene kan bidra til å øke jordens fruktbarhet (Loconsole et al., 2019).

2.6 Hydroponisk dyrking

Hydroponisk dyrking er en dyrkingsmetode som stadig blir mer populær grunnet dens mange fordeler fremfor tradisjonell jordbasert dyrking. Metoden går ut på å kultivere planter uten bruk av jord (se Figur 3). Ved hydroponisk dyrking blir planten tilført en næringsrik væskeløsning og det benyttes et vekstmedium for mekanisk støtte. Det er flere fordeler ved

hydroponisk dyrking sammenlignet med tradisjonell dyrking. En av fordelene er at denne dyrkingsmetoden ikke krever jord, og dermed muliggjør dyrking på små arealer. Dette er kanskje den viktigste fordel ettersom det tillater dyrking tilnærmet hvor som helst, eksempelvis i en kjeller, på taket til et hus eller i verdensrommet. Andre fordeler ved hydroponisk dyrking er at det tillater et optimalt miljø for plantene, både når det gjelder kontroll av næringstilførsel og klima (Khan et al., 2021). I følge studien gjennomført av Majid et al. (2021), kan hydroponisk dyrking generelt sett redusere varigheten av kultiveringssyklusen og dermed gi flere avlinger per år, noe som vil øke utbyttet og lønnsomheten. I tillegg kan hydroponisk dyrking redusere forekomst av ugress og jordbårne sykdommer som følge av elimineringen av jord (Khan et al., 2021).

Når det gjelder bærekraft er det flere faktorer som må vurderes i sammenheng, men hydroponisk dyrking kan gi flere muligheter for mer bærekraftig matproduksjon, blant annet som følge av resirkulering, redusert forurensing og mulighet for lokal matproduksjon (Majid et al., 2021). Sirkulærøkonomi er et økonomisk system som har som mål å minimere avfall og å holde ressursene i bruk så lenge som mulig. Sammenlignet med et “bruk-kast” samfunn, er det ønskelig at produkter skal designes på en slik måte at de kan gjenbrukes, repareres og resirkuleres (Miljødirektoratet, 2022.). Hydroponisk dyrking kan ses i sammenheng med dette konseptet, da det er enkelt å samle opp drenert vann og næringsstoffer slik at den kan gjenbrukes (Khan et al., 2021).



Figur 3: Hydroponisk dyrking i LunarPlant-prosjektet på CIRIS (Simonsen, u.å.).

En av flere motivasjoner for hydroponisk dyrking er en fremtid utenfor jorden, både med hensyn til korte turer i verdensrommet, men også for mer langsiktige romprogram. En av hovedårsakene til at en ønsker hydroponisk dyrking av planter i verdensrommet er at plantene kan bistå som en god kilde til mat med gunstige næringsstoffer. Samtidig vil hydroponisk dyrking kunne bidra til å regulere forholdet mellom CO₂ og oksygen, og dermed forbedre luftkvaliteten (Khan et al., 2021). Som beskrevet tidligere gjør hydroponisk dyrking det mulig å dyrke planter helt uavhengig av jord og store areal, noe som muliggjør dyrking i verdensrommet. Likevel er det andre forhold som må tas hensyn til når det gjelder dyrking i verdensrommet. Å dyrke planter i et kontrollert miljø i rommet kan være noe utfordrende grunnet begrensede ressurser, i tillegg til de ekstreme forholdene som vektløshet, høye nivåer av stråling og temperatursvingninger. Det er derfor viktig at hydroponiske systemer i rommet bidrar med de nødvendige næringsstoffene, vann og lys for plantens vekst, samtidig som det må være kompakt og tåle det harde miljøet. Det er imidlertid verdt å nevne at det er ytterligere begrensninger enn de hydroponiske systemene med hensyn til vekst i verdensrommet. Eksempelvis kan planter i lav jordbane oppleve genotoksisk stress og anatomiske endringer (Karoliussen et al., 2013). Likevel er det ikke utenkelig at plantene kan tilpasse seg de ekstreme miljøene bare i løpet av en generasjon, noe som gjør at hydroponisk dyrking i verdensrommet fortsatt er svært relevant (Karoliussen et al., 2013).

2.7 Prinsippet bak ekstraksjon

Ekstraksjon er definert som å “dra eller trekke ut” (“Ekstrahere”, n.d.). I en kjemisk sammenheng refererer det til en separasjonsprosess som utnytter seg av forskjeller i løselighet. Ved bruk av selektive løsningsmidler, kan aktive komponenter skilles ut og isoleres fra ikke-løselige komponenter. Dette resulterer i et “ekstrakt” som inneholder de ønskede komponentene i en form som egner seg bedre for analyse. Basert på hvilken ekstraksjonsmetode som benyttes, kan ekstrakter fra planter inneholde ulike plantemetabolitter som fenoler, alkaloider, terpenoider og vitaminer. Det finnes mange ulike ekstraksjonsmetoder, men for å finne den som er best egnet for et bestemt formål, er det viktig å gjøre en grundig evaluering. Eksempler på ulike ekstraksjonsmetoder er fastfase ekstraksjoner (SPE- Solid phase extraction), væske-væske ekstraksjoner (LLE- Liquid-liquid extraction) og fastfase-væske ekstraksjon (SLE- solid-liquid extraction) (Berk, 2009, s. 259-261). For å bestemme om en ekstraksjonsmetode passer til et bestemt formål, bør blant annet tidsforbruk, kostnader og omfang av prosedyrer vurderes (Sulaiman et al., 2019).

2.7.1 Prøvepreparering

Før det kan utføres en ekstraksjon må prøvematerialet forbehandles. Ved ekstraksjon fra planter kan prøvematerialet være både ferskt eller tørket (Azwanida, 2015). De fleste planter vil raskt degraderes etter høsting, noe som etterhvert vil kunne påvirke den ernæringsmessige verdien. Dersom ekstraksjonen ikke skal gjennomføres kort tid etter høsting, vil det være fordelaktig å benytte ulike metoder til å preservere prøvematerialet. Ofte benyttes forbehandlingmetoder som frysetørring, frysing eller lufttørring. For å optimalisere ekstraksjonen kan prøvematerialet knuses eller males for å redusere partikkelstørrelsen. Formålet med dette er å øke overflatearealet slik at det blir større kontakt mellom prøvematerialet og ekstraksjonsløsemiddelet. For knusing eller maling benyttes gjerne utstyr som mortere, blendere eller møller (Azwanida, 2015).

2.7.2 Frysetørring

Grunnprinsippet bak frysetørring er sublimasjon, som er en direkte overgang fra fast fase til gass (Shukla, 2011). Betingelser som varme og atmosfærisk trykk (atm) er avgjørende for hvilken fase en væske vil kunne innta. Det lave trykket i kombinasjon med lav temperatur fører til sublimasjon i en frysetørke. Det første og mest kritiske steget i frysetørring er fryseprosessen. Dette steget er viktig ettersom produktet kan skades ved utilstrekkelig frysing, noe som kan ødelegge den overordnede kvaliteten på endeproduktet. Store iskrystaller som følge av sakte innfrysing vil kunne føre til at cellestrukturen i matvaren ødelegges. Dette kan påvirke effekten av selve tørkeprosessen og dermed også kvaliteten på endeproduktet. Ideelt sett kan prøvene nedkjøles med eksempelvis flytende nitrogen, da dette er en rask og effektiv måte å sikre rask nedkjøling og dermed dannelse av små iskrystaller. Neste steg i frysetørkeprosessen er primærtørkefasen. Under denne fasen senkes trykket, samtidig som det tilføres tilstrekkelig med varme slik at ca. 95% av vannet sublimerer. Videre går prosessen inn i den sekundære tørkefasen, hvor målet er å fjerne eventuelle resterende vannmolekyler. En inert gass som eksempelvis nitrogen tilsettes mot slutten av tørkeprosessen slik at vakuemet brytes. Vannmengden i sluttproduktet er svært lav, og ligger vanligvis mellom 1-4% (Shukla, 2011).

2.7.3 Faststoff-væske ekstraksjon

Faststoff-væske-ekstraksjon er en enkel metode hvor en benytter et løsemiddel til ekstraksjon fra fast fase. Denne metoden kan brukes til å isolere og konsentrere komponenter fra faste

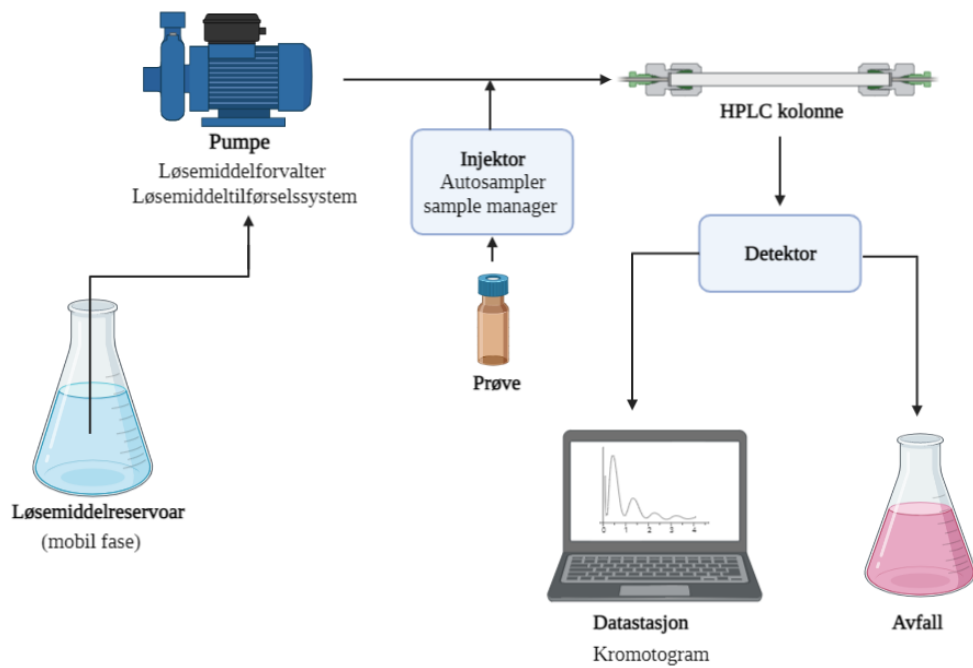
prøver som eksempelvis planter, jord og matvarer. Selve prosessen starter med at løsningsmiddelet trenger seg inn og løser opp de komponentene som skal ekstraheres fra prøven (Berk, 2009, s 260). Til dette formålet benyttes ofte polare løsemidler som metanol, etanol, aceton, kloroform og etylacetat (Jauhar et al., 2018). Videre blir komponentene transportert fra innsiden av de faste partiklene og over i løsningsmiddelet ved hjelp av diffusjon. Deretter kan løsningen med de oppløste stoffene separeres fra den faste fasen ved hjelp av ulike teknikker som sentrifugering og filtrering (Berk, 2009, s. 268).

2.8 Deteksjon av vitamin C

Det er utviklet flere analytiske metoder for å detektere vitamin C i matvarer. Disse inkluderer blant annet titrering, fluorometri, spektrofotometri, høyeffektiv væskechromatografi (HPLC) og enzym-baserte tester m.m. (Devaki & Raveendran, 2017). Noen av disse metodene er mer tidkrevende og kostbare, og kan mangle tilstrekkelig sensitivitet eller selektivitet. Ifølge Mitic et al. (2011), er bruken av HPLC til deteksjon av vitamin C godt egnet da det er en rask, nøyaktig og reproducerbar metode.

2.8.1 Høyeffektiv væskechromatografi

Høyeffektiv væskechromatografi (High-performance Liquid Chromatography - HPLC) er en analyse som benyttes til å separere, identifisere og kvantifisere ulike stoffer i en væske. Analysen består av en mobil væskefase som er polar, i tillegg til en upolar kolonne som er den stasjonære fasen (Lausund, 2018). Figur 4 viser en oversikt over de viktigste elementene ved et HPLC-instrument. Prøvene pumpes gjennom kolonnen ved et høyt trykk og separasjonen skjer som følge av molekylenes ulike polaritet og størrelse. Separasjonen bestemmes også av mobilfasens løselighet, den stasjonære fasens affinitet, temperatur og intermolekulære krefter mellom prøvekomponentene. Hvilken type kolonne som benyttes avgjør separasjonen da den inneholder ulike partikler som påvirker hvor raskt de ulike komponentene går igjennom den. En detektor leser av tiden det tar for de ulike komponentene i prøven å detekteres. Verdien som avleses kalles retensjonstid, og kan brukes til å identifisere samt finne konsentrasjonen av de ulike komponentene ved å sammenligne dem opp mot standarder med kjent konsentrasjon (Lausund, 2018).

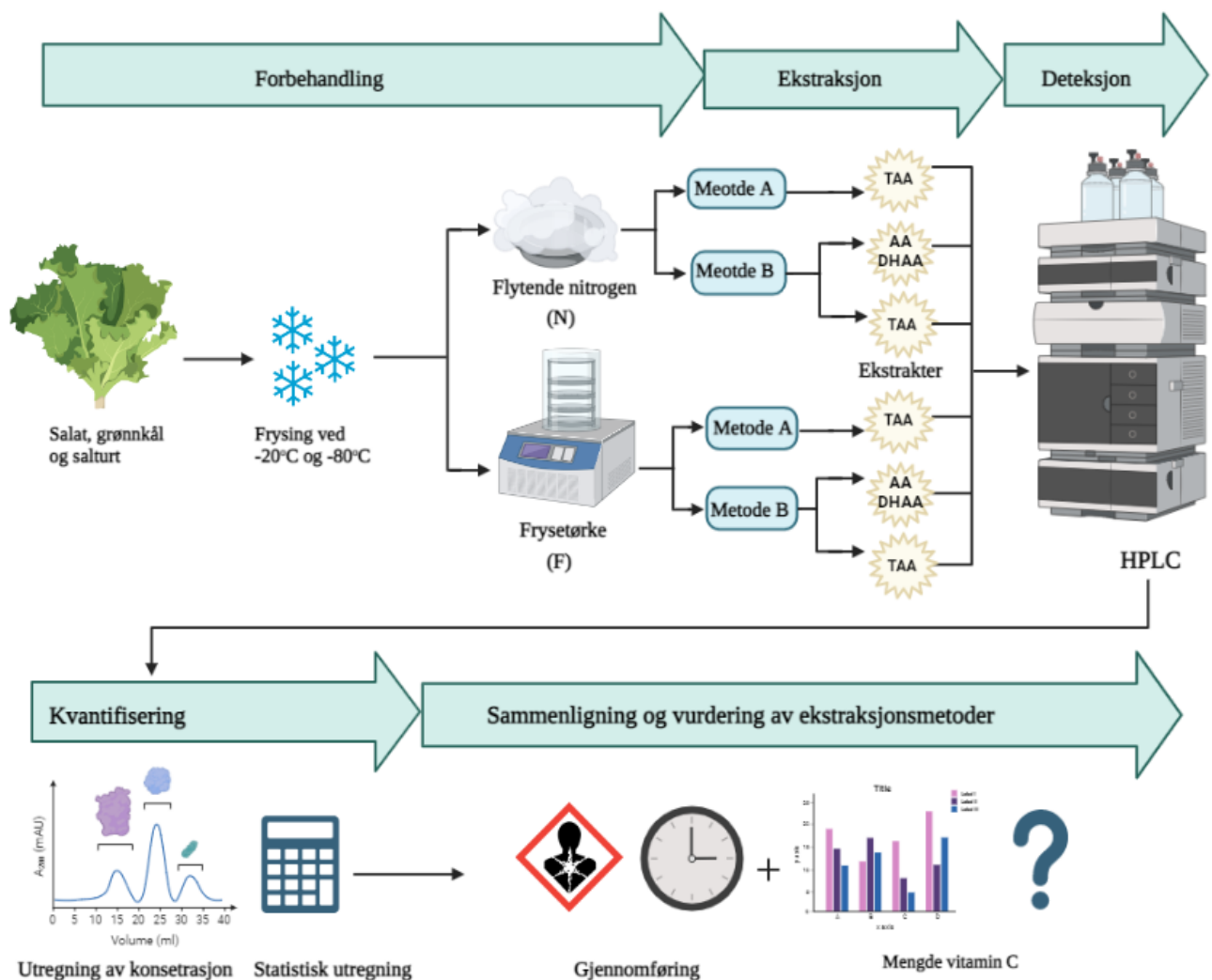


Figur 4: Skjematisk fremstilling av HPLC. Innholdet i figuren er bearbeidet fra skjematisk tegning av HPLC av Lausund (2018).

3. Materiale og metode

To ulike ekstraksjonsmetoder for vitamin C fra salat, grønnkål og salturt ble sammenlignet i denne oppgaven. Den ene ble hentet fra en “in-house” metode ved NTNU Kalvskinnnet (NTNU, uå) (metode A), og den andre fra Medina-Lozano et al. (2020) (metode B). Metodene ble utført med noen tilpasninger. Originalt benytter metode A prøvemateriale behandlet med flytende nitrogen, mens metode B benytter prøvemateriale som først er behandlet med flytende nitrogen, etterfulgt av frysetørrking. I denne oppgaven, som vist i flytskjemaet i Figur 5, ble både metode A og metode B gjennomført med plantemateriale som kun var behandlet med flytende nitrogen og med plantemateriale som kun var frysetørket. Basert på disse metodene ble det utført fire ulike ekstraksjonsmetoder av vitamin C: metode A med frysetørket plantemateriale (metode AF), metode A med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen (metode AN), metode B med frysetørket plantemateriale (metode BF) og metode B med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen (metode BN).

Som beskrevet i delkapittel 2.2 kan vitamin C opptre på flere former, blant annet som askorbinsyre (AA) og dehydroaskorbinsyre (DHAA). Når det gjelder HPLC-instrument var fremgangsmåten for deteksjon av vitamin C basert på en metode etablert ved NTNU Kalvskinnnet, som kun detekterer AA. For å finne det totale innholdet av vitamin C (TAA), måtte derfor DHAA reduseres til AA. Ekstraktene fra metode A inneholder TAA, mens metode B gir to typer ekstrakter hvor det ene inneholder TAA, og det andre inneholder vitamin C som både AA og DHAA. For deteksjon av vitamin C, ble alle ekstraktene injisert i HPLC instrumentet under de samme kromatografiske betingelsene og konsentrasjonen av askorbinsyre ble detektert.



Figur 5: Flytskjema som illustrerer gjennomføring fra behandling av plantemateriale og ekstraksjon frem til kvantitativ analyse av vitamin C med HPLC, etterfulgt av sammenligning og vurdering av ekstraksjonsmetodene.

3.1 Plantemateriale

For prøvemateriale fra salat og grønnkål ville det vært optimalt å benytte plantemateriale fra LunarPlant prosjektet, men ettersom dette ikke er tilgjengelig før våren 2024 ble tilsvarende bladgrønnsaker kjøpt inn fra Rema 1000 i Trondheim for uttesting av ekstraksjonsmetodene. Salaten som ble kjøpt var Crispisalat dyrket og solgt av Viken gartneri på Frosta. Grønnkålen som ble kjøpt var Bama sin Super* Grønnkål. Hvor denne grønnkålen ble dyrket er ikke kjent, men Bama opplyser at deres grønnsaker dyrkes av norske lokale produsenter og i perioder dyrkes grønnsakene i Spania, Italia eller Nederland (Bama, u.å.b). Salturten ble mottatt fra prosjektpartner CIRiS, og ble dyrket på Dragvoll i Trondheim under normale

betingelser som en del av uttesting av optimaliseringen av dyrkingsforhold. Før videre behandling ble materiale lagret på NTNU Kalvskinnet ved -20°C .

3.2 Behandling av plantemateriale

Som vist i Figur 5 ble behandling av plantemateriale, før ekstraksjon og analyse med HPLC, utført på to forskjellige måter. Den ene var ved bruk av frysetørking og det andre var ved bruk av flytende nitrogen. Målet for begge forbehandlingsmetodene var å konservere, samt knuse plantemateriale til et fint pulver for å øke overflatearealet ved ekstraksjon og dermed optimalisere ekstraksjonen. Både frysetørking og behandling med flytende nitrogen ble utført på en plantesort av gangen, for å sikre at materiale av de ulike plantene ikke ble blandet med hverandre.

3.2.1 Frysetørking

Alle typer plantemateriale ble først fryst ved -20°C , deretter ved -80°C , som er et viktig steg før frysetørking (Figur 5). Plassering av plantemateriale i frysetørkeren (Labconoco Freezone 12 - Freeze drier) (Figur 6), samt oppstart av frysetørkeren ble gjort relativt raskt, noe som var essensielt da bladene er tynne og tiner fort. Plantene ble frysetørket mellom 20 og 24 timer. Etter tørkeprosessen ble plantematerialet vakuumpakket (Webomatic) og lagret ved romtemperatur, beskyttet mot lys eksponering frem til gjennomføring av ekstraksjoner. Frysetørket plantemateriale ble knust til et fint pulver ved bruk av stavmikser før ekstraksjon med de ulike metodene (Figur 6).



Figur 6: Frysetørking (venstre) og knusing av plantemateriale ved bruk av stavmikser (høyre). Foto: Rikke Thomassen og Fanny Hajdu-Andersson.

3.2.2 Flytende nitrogen

Flytende nitrogen ble bestilt gjennom normale rutiner ved NTNU og levert på NTNU Akkrinn i en tank. For enklere anvendelse, ble mindre mengder av flytende nitrogen overført til en termos som kunne stå på arbeidsbenken. Sterile 100 mL oppbevaringsbeholdere ble merket med type plantemateriale og plassert i en kasse som var fylt med is, for å forsikre at prøvemateriale ikke tinte for mye før videre lagring. Plantematerialet ble hentet fra -20°C og klippet opp i mindre biter med en saks. Flytende nitrogen ble overført til en morter for å kjøle den ned, før overføring av oppklippet plantemateriale. Videre ble plantemateriale tilsatt mer flytende nitrogen, samtidig som innholdet ble knust med en pistill (Figur 7). Dette ble gjentatt til plantematerialet ble til et fint pulver (Figur 7). Prøvematerialet ble deretter overført til markerte oppbevaringsbeholdere og umiddelbart plassert i en fryser ved -20°C for oppbevaring frem til gjennomføring av ekstraksjonene.



Figur 7: Knusing av plantemateriale med flytende nitrogen (venstre) og knust plantemateriale i oppbevaringsbeholder (høyre). Foto: Rikke Thomassen og Fanny Hajdu-Andersson.

3.3 Ekstraksjonsmetoder for analyse av C vitamin

Som vist i flytskjemaet i Figur 5 ble det utført fire ulike ekstraksjonsmetoder av vitamin C: metode AF, AN, BF og BN. Dette delkapittelet tar for seg utførelsen av metode A og metode B.

3.3.1 Metode A

Metode A er basert på en "in-house" ekstraksjonsmetode som er etablert ved NTNU Kalvskinn for en annen type prøvemateriale. Det ble derfor gjort noen tilpasninger med hensyn til dette prosjektet (forbehandlingsmetoder). Metode A ble utført på salat, grønnkål og salturt, både på materiale som var frysetørket og på materiale som var behandlet med flytende nitrogen.

Kjemikalier, reagenser og utstyr

Kjemikaliene som ble benyttet for å lage ekstraktene i metode A var metafosforsyre (MPA; 1.00546, Merck), oksalsyre dihydrat (33506, Ridel-de Haën), dithiothreitol (DTT; R0862, Thermo Fisher Scientific) og avionisert vann. Disse ble brukt til å lage reagensene metafosforsyre 2% og ekstraksjonsløsemiddelet (metafosforsyre, 5 mM DTT (MPA-DTT)) i henhold til "in-House" metoden (NTNU, u.å.) og er beskrevet i Vedlegg 1. Utstyr som ble benyttet i metode A var sentrifuge (Rotina 420R), 2 mL sprøyter, 0,45 µm filter til sprøyte og 2 mL brune hetteglass.

Tillaging av standarder

En stamløsning med 1 mg/mL konsentrasjon av AA ble laget ved å blande 0,100 g askorbinsyre (20150.231, VWR chemicals) med 90 mL metafosforsyre 1%. Løsningen sto i 10 minutter før det ble etterfylt med avionisert vann til 100 mL i en målekolbe. For å lage metafosforsyre 1%, ble metafosforsyre 2% fortynnet med avionisert vann. Videre ble stamløsningen sammen med metafosforsyre 1% brukt til å lage 4 standarder med ulik konsentrasjon av askorbinsyre (Tabell 1). Hver standard ble laget ved å pipettere et bestemt volum fra stamløsningen over i en 10 mL målekolbe og deretter etterfylle med metafosforsyre 1% (Tabell 1). Konsentrasjonen av AA i standard 1, 2, 3 og 4 var henholdsvis 1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL og 50 µg/mL. Standardene ble deretter filtrert over i 1,5 mL brune hetteglass ved hjelp av sprøyte med påsatt 0,45 µm filter. Videre ble de injisert i HPLC instrumentet.

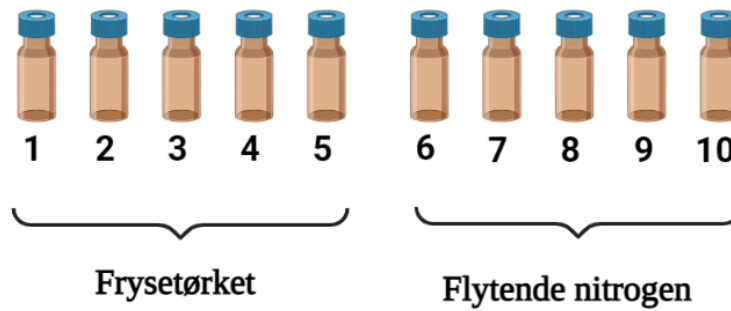
Tabell 1: Askorbinsyrestandarder brukt i metode A. Tabellen viser volum av stamløsning og metafosforsyre 1% som ble brukt til å fremstille fire standarder med forskjellige konsentrasjoner av AA (askorbinsyre).

Standard	[AA] (µg/mL)	Stamløsning* (µL)	Metafosforsyre 1% (µL)
1	1	10	9990
2	5	50	9950
3	10	100	9900
4	50	500	9500

*Konsentrasjonen av askorbinsyre (AA) i stamløsningen er 1mg/mL

Gjennomføring

Det ble laget tre-fem paralleller hvor det ble veid opp 0,5 g av frysetørketplantemateriale og tre-fem paralleller hvor det ble veid opp 1,0 g av plantemateriale som ble behandlet med flytende nitrogen. Oppveid plantemateriale for hver parallell ble overført til hvert sitt sentrifugerør. Hver parallell ble tilsatt 5 mL av ekstraksjonsløsemiddelet (MPA-DTT) og vortexet i 2 minutter. Prøvene sto i 13 minutter før de ble tilsatt 5 mL avionisert vann. Videre ble prøvene sentrifugert ved 4°C og 3000 rpm i 10 minutter. For noen av prøvene med frysetørket plantemateriale var det nødvendig å sentrifugere ved en høyere rpm for å oppnå tilstrekkelig skille mellom væske og plantemateriale i røret. Videre ble prøvene tildekket med folie, for å skjerme dem mot lys, og lagret i fryseren ved -20°C. Da HPLC analysen skulle gjennomføres ble prøvene tint og supernatanten i rørene ble pipettert over i 2 mL sprøyter med påsatt 0,45 µm filter. Omtrent 1,5 mL av væsken ble filtrert over i brune hetteglass. For analyse i HPLC-instrumentet med salat var det fem paralleller med ekstrakt fra frysetørket plantemateriale og fem paralleller med ekstrakt fra plantemateriale behandlet med flytende nitrogen (Figur 8). For HPLC analyse med grønnkål og salturt ble det laget tre paralleller med ekstrakt fra frysetørket plantemateriale og tre paralleller med ekstrakt fra plantemateriale behandlet med flytende nitrogen. I tillegg til prøvene, ble en blankprøve som inneholdt ekstraksjonsløsemidlet og fire standarder injisert for hver HPLC analyse.



Figur 8: Oversikt over innhold i de ulike prøvene ved ekstraksjon fra salat med metode A. Merk: for både salturt og grønnkål ble det laget 3x2 paralleller.

3.3.2 Metode B

Metode B er basert på en ekstraksjonsmetode fra Medina-Lozano et al. (2020), men ble gjennomført med noen tilpasninger (forbehandlingsmetoder). Metode B ble utført på salat, grønnkål og salturt, både på plantemateriale som var frysetørket og på plantemateriale som var behandlet med flytende nitrogen.

Kjemikalier, reagenser og utstyr

Kjemikaliene som ble benyttet for å lage ekstraktene i metode B var eddiksyre (27225-2.5L-M, Merck), ethylendiaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate (EDTA; E5134-500G, Merck), 2-amino-2-(hydroksymetyl)-1,3-propandiol (Tris; 103156X, VWR Chemicals), dithiothreitol (DTT; R0862, Thermo Fisher Scientific), svovelsyre (1.00731.2500, Merck), saltsyre (1.00317.2011, Merck). Disse kjemikaliene ble benyttet i henhold til Medina-Lozano et al. (2020) for å lage ekstraksjonsløsning, reduksjonsbuffer, reduserende løsning, svovelsyre (0,4 M) og saltsyre (2 M), som beskrevet i Vedlegg 2. Utstyr som ble benyttet var horisontal vortexer (vortex-genie 2), ultralyd vannbad (Bandelin sonorex), sentrifuge 4000 g (Rotina 420R), 15 mL polypropylen sentrifugerør, 2 mL engangssprøyter, 0,45 µm filter til sprøyte og 2 mL brune hetteglass.

Tillaging av standarder

Stamløsning med 100 µg/mL konsentrasjon av AA (askorbinsyre) ble laget ved å blande 10 mg askorbinsyre (20150.231, VWR chemicals) med 90 mL mobil fase (avionisert vann justert til pH 2,0 med maursyre (33015, Riedel- de Haën)). Innholdet ble løst opp ved bruk av magnetrører og løsningen ble deretter overført til en målekolbe. Videre ble det tilsatt mer

mobil fase slik at det totale volumet ble 100 mL. Stamløsningen ble brukt til å lage fem standardfortynninger hvor konsentrasjonen av askorbinsyre var henholdsvis 0,5 µg/mL, 2,5 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL og 25 µg/mL som vist i Tabell 2. Standardfortynningene ble filtrert over i hvert sitt 1,5 mL brune hetteglass ved hjelp av engangssprøyte med påsatt 0,45 µm filter. Deretter ble de injisert i HPLC instrumentet.

Tabell 2: Askorbinsyrestandarder brukt i metode B. Tabellen viser angitt volum for stamløsning og mobilfase som ble brukt til å fremstille fem standarder med forskjellige konsentrasjoner av askorbinsyre (AA). Tabellen er hentet fra Medina-Lozano et al., (2020).

Standard	[AA] (µg/mL)	Stamløsning (µL)*	Mobil fase (µL)**
1	0,5	5	995
2	2,5	25	975
3	5	50	950
4	10	100	900
5	25	250	750

*Konsentrasjonen av askorbinsyre (AA) i stamløsningen er 100 µg/mL

**Avionisert vann justert til pH 2,0 med maursyre (33015, Riedel- de Haën).

Gjennomføring

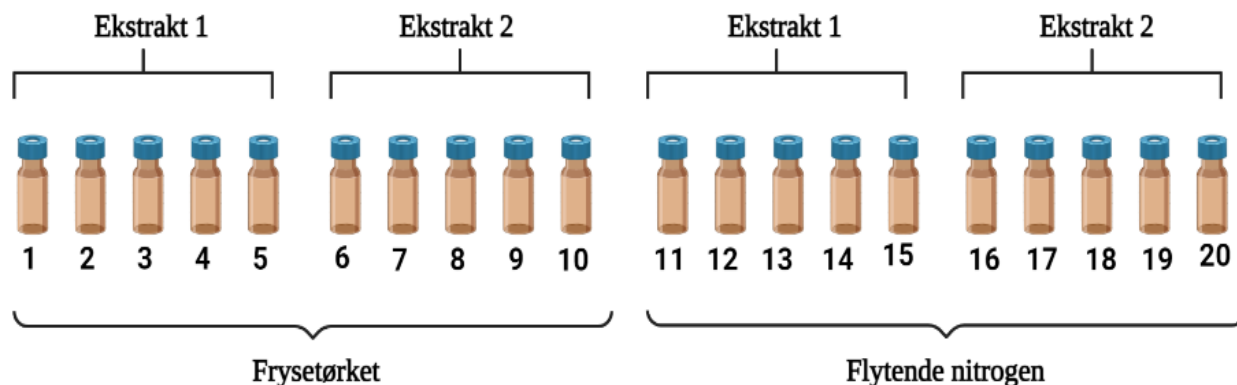
For salat, grønnkål og salturt ble det laget henholdsvis fem, fem og tre paralleller med frysetørket plantemateriale og fem, fem og tre paralleller med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen. Det ble laget færre paralleller av salturt grunnet begrenset tilgang på plantemateriale. For parallellene med frysetørket plantemateriale ble det veid inn 0,05 g plantemateriale og for parallellene med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen ble det veid inn 0,5 g plantemateriale. Oppveid plantemateriale ble så overført til 15 mL polypropylen sentrifugerør. Hver parallell ble tilsatt 5 mL av ekstraksjonsløsemidlet og vortexet i 5 sekunder. Deretter ble prøvene blandet ved hjelp av en horisontal vortexer i 10 minutter ved 2000 rpm. Videre ble prøvene overført til et ultralydbad i 10 minutter ved romtemperatur. Prøvene ble sentrifugert ved 4000 g i 10 minutter ved 4°C. Dette var Ekstrakt 1, som inneholdt vitamin C i den aktive formen (AA) og oksidert form (DHAA). Ekstraktet

ble dekket til med folie for å skjerme mot lys og fryst ved -20°C for å sikre stabilitet frem til deteksjonen skulle gjennomføres.

Ekstrakt 1 ble tint før videre analyse. Ved bruk av engangssprøyter med påsatt $0,45\ \mu\text{m}$ filter ble $200\ \mu\text{L}$ av Ekstrakt 1 (AA) og $200\ \mu\text{L}$ av reduserende løsning filtrert over i $1,5\ \text{mL}$ brune hetteglass. Hetteglassene ble vortexet i 5 sekunder og sto deretter i romtemperatur i 30 minutter før hver av dem ble tilsatt $200\ \mu\text{L}$ av $0,4\ \text{M}$ saltsyre for å stoppe reaksjonen og stabilisere vitamin C. For tilsetning av $0,4\ \text{M}$ saltsyre ble det igjen brukt engangssprøyter med påsatt $0,45\ \mu\text{m}$ filter. Dette var Ekstrakt 2 som inneholdt det totale innholdet av vitamin C (TAA), altså hvor DHA er redusert til AA slik at vitamin C kun forekommer som AA.

Videre ble $200\ \mu\text{L}$ av Ekstrakt 1 (AA) og $800\ \mu\text{L}$ avionisert vann overført til $1,5\ \text{mL}$ brune hetteglass ved bruk av $2\ \text{mL}$ sprøyter med påsatt filtrert. Hetteglassene med Ekstrakt 2 (TAA) ble tilsatt $400\ \mu\text{L}$ avionisert vann ved bruk av $2\ \text{mL}$ sprøyte med påsatt $0,45\ \mu\text{m}$ filter. Alle hetteglassene ble lukket og plassert i HPLC instrumentet.

For HPLC analyse med plantemateriale fra salat ble det tilsammen laget 20 prøver. Som vist i figur 9, inneholdt ti av 20 prøvene plantemateriale som var frysetørket, hvor fem av disse igjen inneholdt Ekstrakt 1 og de fem andre inneholdt Ekstrakt 2. De ti andre prøvene inneholdt plantemateriale som var behandlet med flytende nitrogen, hvor fem av disse inneholdt Ekstrakt 1 og de fem andre inneholdt Ekstrakt 2. Den samme fordelingen gjaldt for analyse med plantemateriale fra grønnkål. For analyse med salturt var det tilsammen 12 prøver. Seks av disse inneholdt frysetørket materiale, hvor tre av disse igjen inneholdt Ekstrakt 1 og de tre andre inneholdt Ekstrakt 2. De seks andre prøvene med salturt inneholdt plantemateriale behandlet med flytende nitrogen, hvor tre av disse inneholdt Ekstrakt 1 og de tre andre inneholdt Ekstrakt 2. I tillegg ble det laget fem standarder som vist i Tabell 2, samt blankprøver der den ene inneholdt ekstraksjonsløsemiddelet og den andre inneholdt den mobile fasen.



Figur 9 viser en oversikt over hva de ulike prøvene i metode B inneholdt. Merk: for salturt ble det laget 3x2x2 paralleller.

3.4 Deteksjon av vitamin C

For deteksjon av vitamin C fra de ulike ekstraktene, ble det benyttet et HPLC-instrument (Agilent 1260 diode array UV-VIS detector). Samme kromatografiske fremgangsmåte ble gjennomført på alle ekstraktene slik at dette parameteret ikke skulle påvirke vurderingen av ekstraksjonsmetodene. Metode og innstillinger for HPLC-instrumentet er hentet fra "in-House" metoden som er etablert ved NTNU Kalvskinnet (NTNU, u.å.).

Kjemikalier og reagenser

Mobil fase (0.2M KH_2PO_4 pH 2.4) ble laget ved å tilsette 30 mL HPLC gradert metanol (83638.320, VWR chemicals), 27.2 g kaliumdihydrogenfosfat (KH_2PO_4 ; 1.04873.1000, Merck) og 900 mL avionisert vann til en 1 L beholder. pH ble justert til 2,4 ved tilsetning av omtrent 10 mL fosforsyre 85% (100573, Merck). Løsningen ble overført til en målekolbe og tilsatt avionisert vann slik at det totale volumet ble 1 L. Den mobile fasen ble filtrert ved bruk av 0,45 μm vakuumfilter før den ble tilført som HPLC-eluent.

HPLC betingelser

Tabell 3 viser en oversikt over den kromatografiske fremgangsmåten for HPLC analysen. Systemet som ble benyttet var Aligent 1260 diode array med Zorbax SB-C18 250x4,6mm id 5 μm kolonne koblet til en UV/vis. Injeksjonsvolumet var på 1 μL med 15 minutters intervall. På grunnlag av at dette var en isokratisk analyse, ble mobil fase kjørt inn på

kolonnen, mens metanol 3% ble benyttet som vaskeløsning når sekvensen var ferdigkjørt. Temperaturen til kolonnen var ved romtemperatur og detektaksjon var ved 254 nm.

Tabell 3: Kromatografisk fremgangsmåte som ble benyttet til å detektere vitamin C i ulike ekstrakter fra salat, grønnkål og salturt.

Komponenter og parametere	Beskrivelse
Instrument	Agilent 1260 diode array UV-VIS detector
Detektor	UV/Vis detektor 254 nm
Programvare	OpenLAB CDS Chemstation edition
Kolonne	Zorbax SB-C18 250x4,6mm id 5µm
Løsning A (mobil fase)	Metanol 3% med 0.2M KH ₂ PO ₄ pH 2.4
Løsning B	Metanol 3%
Temperatur kolonne	Romtemperatur
Injeksjonsvolum	1 µL
Injeksjonsintervall	15 min

3.5 Identifisering og kvantifisering av vitamin C

Etter detektering av vitamin C ved bruk av HPLC-instrumentet, ble kromatogram fra alle prøvene samt standarder hentet ut. Som vist i Tabell 1 og Tabell 2, ble standardene laget med økende konsentrasjon av vitamin C. Retensjonstiden til vitamin C ble bestemt basert på standardene ved å se på hvilke topper som hadde økende areal fra standard til standard, ettersom at arealet avhenger av konsentrasjonen av forbindelsen. Dette ble brukt til å identifisere vitamin C ved å sammenligne retensjonstiden fra standardene med tilsvarende retensjonstid fra prøvene. En standardkurve ble laget ved bruk av Microsoft Excel. Standardkurven ble laget basert på konsentrasjonen av vitamin C og arealet detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike standardene. Videre ble standardkurven brukt til å bestemme konsentrasjonen av vitamin C i prøvene. Konsentrasjonen av vitamin C i prøvene ble bestemt basert på arealet detektert ved retensjonstiden til vitamin C i hver av prøvene og standardkurven. For standardkurve, samt areal og konsentrasjon av vitamin C for hver parallell, se Vedlegg 3.

Våtvekten av det frysetørkede plantematerialet som ble veid inn i parallellene ble beregnet ved å benytte formel 1, hvor vanninnhold er mengde vann per 100 g våtvekt.

$$\text{våtvekt} = \frac{\text{frysetørket plantemateriale (g)} \times 100}{100 - \text{vanninnhold}} \quad (1)$$

For salat ble vanninnhold per 100 g våtvekt bestemt eksperimentelt ved å se på differansen mellom vekten av fersk salat før og etter frysetørring (Vedlegg 4). For grønnkål og salturt er vanninnholdet per 100 g våtvekt hentet fra henholdsvis fra Mattilsynet (2022) og Castagna A, et al. (2022).

Som nevnt ble vitamin C $\mu\text{g/mL}$ bestemt ved hjelp av standardkurve. Vitamin C mg per 100 gram plantemateriale (våtvekt) ble bestemt ved bruk av formel 2. Plantemateriale er våtvekten til det plantemateriale som ble benyttet i ekstraktet. For metode AF og AN var volumet til ekstraksjonsvæsken 10 mL og for metode BF og BN var det 5 mL. For utledning av formel 2 se Vedlegg 5.

$$\text{vitamin C mg/100 g plantemateriale} = \frac{\text{vitamin C } (\mu\text{g/mL})}{\text{plantemateriale (g) / volum ekstraksjonsvæske (mL)}} \times 100 / \frac{1 \text{ (mg)}}{1000 \text{ } (\mu\text{g})} \quad (2)$$

3.6 Statistiske metoder

Det ble benyttet en variansanalyse (ANOVA) for å undersøke om det var signifikante forskjeller mellom de ulike metodene. Ved signifikante forskjeller ble Tukey HSD post hoc test benyttet for å identifisere forskjellene. Dette ble utført i programvaren SPSS. Et signifikansnivå på 5% ble benyttet ($\alpha < 5\%$).

3.7 Evaluering av utførelse

En evaluering av gjennomføring av ekstraksjonsmetodene ble utført for å kunne vurdere disse opp mot hverandre. Selv om dette er en vurdering av ekstraksjonsmetoder, har forbehandlingsmetoder blitt inkludert i vurderingen for å kunne differensiere de ulike metodene AF, AN, BF og BN. Først ble ulike parametere knyttet til forhandlingen evaluert.

Deretter ble parametere knyttet til metode A og metode B evaluert. Til slutt ble evalueringen av forbehandling sammenlagt med evalueringen av metode A og metode B.

Hvert parameter ble tildelt en verdi på en skala fra 1-5, basert på egne erfaringer ved utførelsen av ekstraksjonsmetodene. Skalaen går fra minst krevende til mest krevende, hvor 1 er minst krevende og 5 er mest krevende. Dette vil si at den mest gunstige verdien et parameter kan få er 1 og den minst gunstige verdien er 5. Parametrene som ble evaluert var tid, HMS, utstyr og kostnader. I tillegg var anvendeligheten av plantemateriale et parameter som ble evaluert med hensyn til forbehandlingsmetoder.

Etter evaluering av de ulike parametrene med hensyn til forbehandlingsmetodene ble verdiene for hvert parameter sammenlagt, slik at frysetørking og flytende nitrogen fikk en sum hver. Metode A og metode B fikk også en sum hver ved å legge sammen verdiene for hvert parameter. De fire ekstraksjonsmetodene fikk en sammenlagt verdi ved å legge sammen summen for forbehandlingsmetodene med summen for metode A eller B. Eksempelvis fikk metode AF en verdi ved å legge sammen summen for frysetørking og summen for metode A. Høy sammenlagt verdi indikerer at metoden er krevende og lav sammenlagt verdi indikerer at metoden er mindre krevende.

4. Resultat

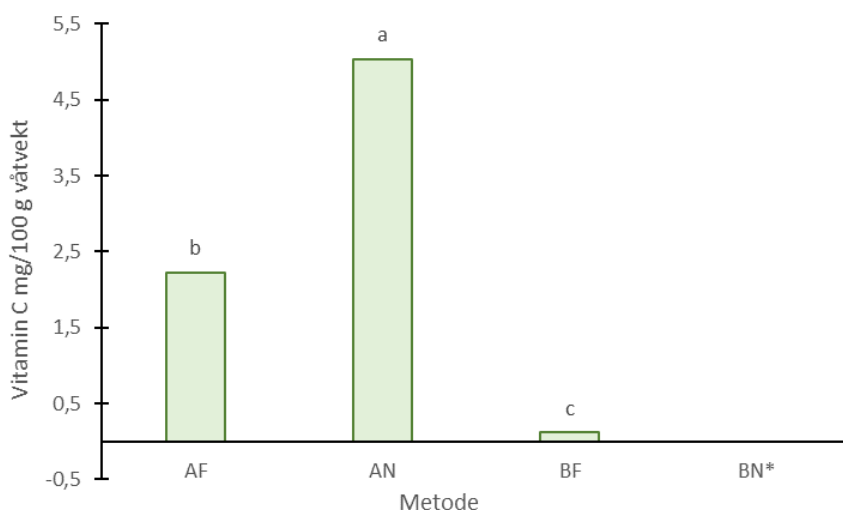
Resultatet i denne oppgaven er delt i to: kvantifisering av vitamin C innhold i ulike plantematerialer og evaluering av ekstraksjonsmetodene med hensyn til utførelse.

4.1 Kvantifisering av vitamin C i salat, grønnkål og salturt

Ekstraksjonsmetodene ga ulike resultater med hensyn til mengden vitamin C i plantematerialet. Se Vedlegg 6 for verdier for konsentrasjon av vitamin C i hver parallell og Vedlegg 7 for gjennomsnittsverdien av parallellene med standardavvik for hver av metodene.

4.1.1 Total mengde vitamin C (TAA) i salat

Metode AN ga høyest utbytte av vitamin C per 100 g salat (Figur 10). For 100 g salat (våtvekt) ga metode AF $2,23 \pm 0,07$ mg vitamin C, metode AN ga $5,04 \pm 0,32$ mg vitamin C, metode BF ga $0,12 \pm 0,01$. Vitamin C ble ikke detektert ved utførelse av metode BN. Med hensyn til kvantifisering av vitamin C i salat ble det funnet signifikante forskjeller ($p < 0,001$) mellom metodene AF, AN og BF. For metode A med frysetørket plantemateriale (AF) ble det kvantifisert et signifikant ($p < 0,001$) høyere innhold av vitamin C enn med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen (AN).

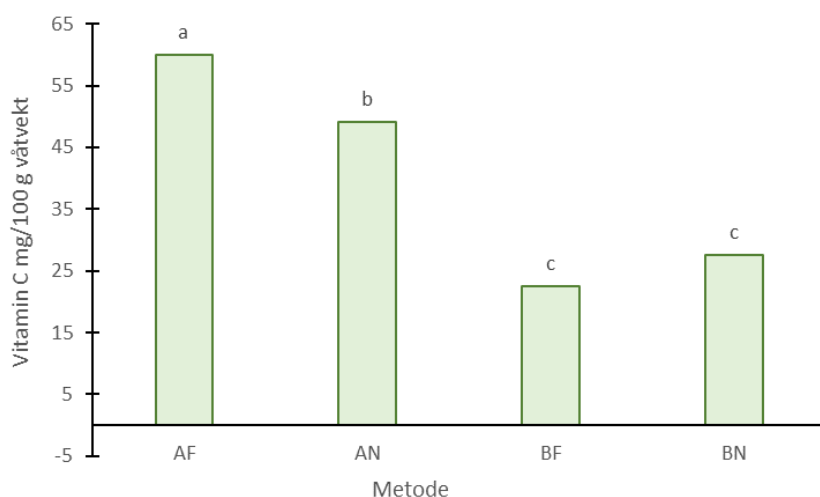


*Ikke detektert

Figur 10: Sammenligning av mengde vitamin C (TAA) per 100 g våtvekt i salat for metodene AF, AN, BF og BN. Bokstavene over søylene (a,b,c) definerer signifikante forskjeller ($p < 0,05$) fra TukeyHSD post Hoc test.

4.1.2 Total mengde vitamin C (TAA) i grønnkål

Ved kvantifisering ble det funnet høyest innhold av vitamin C per 100 g grønnkål ved utførelse av metode AF, etterfulgt av metode AN som ga nest mest (Figur 11). Det ble kvantifisert lavest innhold av vitamin C per 100 g grønnkål ved utførelse av metode BF og BN. Det var signifikante forskjeller ($p < 0,001$) mellom metode AF og de tre andre metodene. Metode AN var signifikant forskjellig ($p < 0,001$) fra metode AF, BF og BN. Det ble ikke påvist signifikant forskjell mellom metode BF og BN. Med hensyn til metode A med grønnkål var det signifikant forskjell ($p < 0,001$) mellom forbehandlingsmetodene. Det var ikke signifikant forskjell mellom forbehandlingsmetodene ved utførelse av metode B på grønnkål.

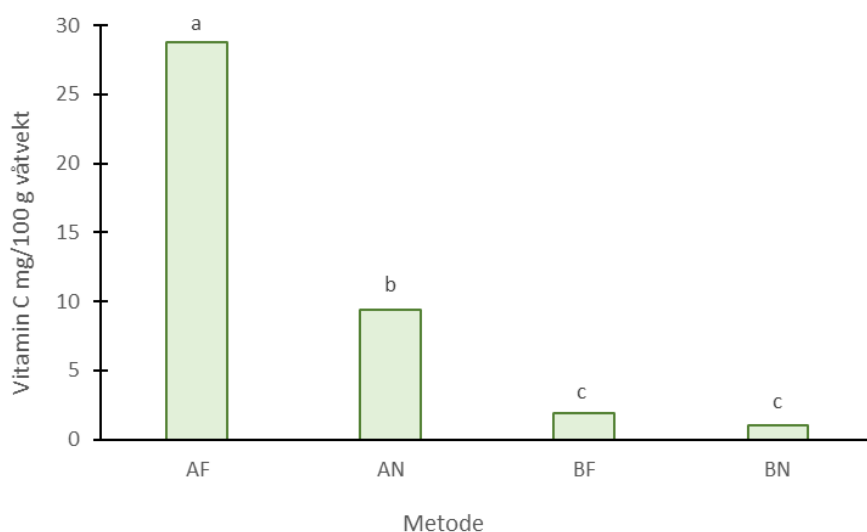


Figur 11: Sammenligning av mengde vitamin C (TAA) per 100 g våtvekt i grønnkål for metodene AF, AN, BF og BN. Bokstavene over søylene (a,b,c) definerer signifikante forskjeller ($p < 0,05$) fra TukeyHSD post Hoc test.

4.1.3 Total mengde vitamin C (TAA) i salturt

Ved kvantifisering ble det funnet mest vitamin C per 100 g salturt ved utførelse av metode AF, og nest mest ved utførelse av metode AN (Figur 12). Det ble kvantifisert minst innhold av vitamin C per 100 g salturt ved utførelse av metode BN og BF. Med hensyn til kvantifisering av vitamin C i salturt ga metode AF signifikant ($p < 0,001$) høyere utbytte av vitamin C sammenlignet med de andre metodene. Videre ga metode AN signifikant ($p < 0,001$) høyere utbytte av vitamin C enn metodene BF og BN. Det var ikke signifikant forskjell mellom metode BF og BN. For salturt var det signifikante forskjeller ($p < 0,001$) mellom

forbehandlingsmetodene med hensyn til metode A, men for metode B var det ikke signifikant forskjell mellom forbehandlingsmetodene.



Figur 12: Sammenligning av mengde vitamin C (TAA) per 100 g våtvekt i salturt for metodene AF, AN, BF og BN. Bokstavene over søylene (a,b,c) definerer signifikante forskjeller ($p < 0,05$) fra TukeyHSD post Hoc test.

4.1.4 Kvantifisert AA og DHAA

Ved ekstraksjon fra salat og salturt med metode B ble det ikke detektert noe AA i ekstraktene som inneholdt vitamin C før DHAA ble redusert til AA. Som følge av dette kan ikke innholdet av DHAA i salat eller salturt bestemmes. For 100 g grønnkål ga metode BF at innholdet av AA var $19,47 \pm 0,93$ mg og innholdet av DHAA var $2,68 \pm 1,75$ og metode BN ga at innholdet av AA var $18,13 \pm 1,98$ mg og at innholdet av DHAA var $9,48 \pm 3,06$ mg (Tabell 4). Se Vedlegg 8 for verdier til alle parallellene for ekstraksjon fra grønnkål utført med metode B.

Tabell 4: Kvantifisert innhold av TAA (totalt vitamin C), AA (askorbinsyre) og DHAA (dehydroaskorbinsyre) per 100 g (våtvekt) grønnkål ved utførelse av metode BF og BN.

	TAA (mg) per 100g plantemateriale	AA (mg) per 100g plantemateriale	DHAA (mg) per 100g plantemateriale
Metode BF	$22,43 \pm 1,23$	$19,74 \pm 0,93$	$2,68 \pm 1,75$
Metode BN	$27,60 \pm 1,13$	$18,13 \pm 1,98$	$9,46 \pm 3,06$

4.2 Evaluering av utførelse av ekstraksjonsmetodene

Verdiene satt ved evaluering av bestemte parametere med hensyn til utførelse viste at det var forskjeller mellom forbehandlingsmetodene, mellom metode A og metode B, samt mellom de fire ulike ekstraksjonsmetodene AF, AN, BF og BN. Som beskrevet i kapittel 2.8 indikerer en høyere verdi at metoden er mer krevende.

Ved evaluering av forbehandlingmetodene, ble frysetørring vurdert som mer krevende enn flytende nitrogen. Frysetørring fikk en sum på 20 og flytende nitrogen fikk en sum på 9 (Tabell 5).

Tabell 5: Verdier satt for hvert parameter med hensyn til gjennomføring av forbehandlingsmetodene. Parametrene ble tildelt en verdi på en skala fra 1-5, hvor 1 er minst krevende og 5 er mest krevende. Sammenlagt verdi for alle parameterne er vist som "sum".

Parameter	Frysetørring	Flytende nitrogen
Tid	5	1
HMS	1	3
Utstyr	5	2
Kostnader	5	1
Anvendelighet	4	2
Sum	20	9

Metode A ble evaluert som mindre krevende enn metode B. Metode B fikk en sum på 17 og metode A fikk en sum på 5 (Tabell 6).

Tabell 6: Verdier satt for hvert parameter med hensyn til gjennomføring av metode A og B. Parametrene ble tildelt en verdi på en skala fra 1-5, hvor 1 er minst krevende og 5 er mest krevende. Sammenlagt verdi for alle parameterne er vist som “sum”.

Parameter	Metode A	Metode B
Tid	2	5
HMS	1	4
Utstyr	1	5
Kostnader	1	3
Sum	5	17

Sammenlagt verdi representerer summen av den aktuelle forbehandlingsmetoden, sammenlagt med summen av ekstraksjonsmetoden som ble benyttet. Resultatet fra evalueringen av gjennomføringen tilsier at metode BF ble vurdert som mest krevende og metode AN som minst krevende. Som vist i Tabell 7 var den samlede verdien til metode BF og metode AN henholdsvis 37 og 14. Metode AF og metode BN hadde tilnærmet lik sammenlagt verdi på henholdsvis 25 og 26.

Tabell 7: Sammenlagt verdi fra evaluering av gjennomføring av hver ekstraksjonsmetode. Høy verdi indikerer at metoden er krevende og lav verdi indikerer at metoden er mindre krevende.

Metode AF	Metode AN	Metode BF	Metode BN
25	14	37	26

5. Vurdering

5.1 Kvantifisert vitamin C i salat, grønnkål og salturt

De forskjellige ekstraksjonsmetodene resulterte i ulikt kvantifisert vitamin C innhold. Metode A ga signifikant høyere vitamin C innhold enn metode B, for både salat, grønnkål og salturt (Figur 10, 11 og 12).

5.1.1 Kvantifisert TAA

For salat ga metode AN høyest utbytte av vitamin C med 5,04 mg per 100 g våtvekt (Figur 10). Det ble kvantifisert tilsvarende 2,4 ganger mer vitamin C for metode AN enn for metode AF med 2,23 mg per 100 g våtvekt. Til sammenligning ble det kvantifisert 42 ganger mer vitamin C med metode AN enn metode BF med 0,12 mg per 100 g. Som nevnt i delkapittel 4.1.1 ble det identifisert signifikante forskjeller mellom metode AN, AF og BF. Det ble ikke detektert vitamin C ved gjennomføringen av metode BN på salat, noe som kan tyde på at metode B ikke var særlig egnet for ekstraksjon av vitamin C fra salat behandlet med flytende nitrogen. Resultatet for de fire ekstraksjonsmetodene som ble utført på Crispisalat samsvarer ikke med andre observasjoner fra Van Treuren et al. (2018) og Tarrago-Trani et al. (2012) som detekterte henholdsvis 8,52 mg per 100 g i *Lactuca sativa* var. *capitata* L. og 7,93 mg per 100 g i *Lactuca sativa* var. *crispa*. På bakgrunn av manglende data for Crispisalat, som er en krysning mellom isberg- og frièesalat, ble varianter av *Lactuca sativa*, to tilnærmet like salater som Crispisalat, brukt til sammenligning. Mengden vitamin C som ble detektert ved begge studiene var relativt like, men betydelig høyere enn resultatene fra denne oppgaven. Med dette tatt i betraktning kan det argumenteres for at ingen av ekstraksjonsmetodene benyttet i denne oppgaven var særlig gode med hensyn til sitt formål, og at det finnes bedre alternativer for ekstraksjonsmetoder for vitamin C i salat. Basert på sammenligning av kvantifisert innhold av vitamin C ved utførelse av de fire ekstraksjonsmetodene i denne oppgaven, inkludert signifikant forskjell ($p < 0,001$) mellom metode AN og de tre andre ekstraksjonsmetodene, tyder resultatene på at metode AN er den mest gunstige av de fire ekstraksjonsmetodene ved ekstraksjon av vitamin C fra salat i henhold til høyest utbytte av vitamin C.

Metode AF ga høyest utbytte av vitamin C ved ekstraksjon fra grønnkål med 59,89 mg per 100 g våtvekt (Figur 11). Ekstraksjon med metode AN fra grønnkål ga nest høyest utbytte av vitamin C med 49,15 mg per 100 g våtvekt. Kvantifisert vitamin C innhold i grønnkål for metode AF og AN er betydelig høyere enn tidligere observert av Becerra-Moreno et al. (2014), som fant en verdi på 23,78 mg per 100g. På grunnlag av signifikante forskjeller ($p < 0,001$) mellom metode AF og de tre andre metodene med hensyn til mengde vitamin C, er først og fremst metode AF og deretter AN, de mest gunstige av de fire ekstraksjonsmetodene ved ekstraksjon av vitamin C fra grønnkål i henhold til høyest utbytte av vitamin C.

Det ble kvantifisert mest vitamin C i salturt ved bruk av metode AF med 28,78 mg per 100 g våtvekt, etterfulgt av metode AN med 9,42 mg per 100 g våtvekt (Figur 12). Metode BN ga minst utbytte av vitamin C med 1,04 mg per 100 g våtvekt. Utbyttet for metode BF og BN var relativt likt, og det ble ikke funnet noen signifikant forskjell mellom disse. Kvantifisert vitamin C innhold i salturt ved utførelse av metode B var relativt likt med tidligere funn gjort av Evlash et al. (2021) med 1,25 mg per 100 g, men er noe lavere enn det som ble observert av Lu et al. (2010) med 5,85 mg per 100 g. Det er imidlertid viktig å nevne at i denne oppgaven ble ekstraksjonene utført på *Salicornia Europaea*, mens funn gjort av Evlash et al. (2021) og Lu et al. (2010) var fra henholdsvis *Salicornia europaea* L. og *Salicornia bigelovii* Torr. Sistnevnte går også under navnet dvergsalturt og hører til samme slekt som *Salicornia europaea* L. (Jaradat et al., 2012). Det vil derfor ikke være helt korrekt sammenligningsgrunnlag, men den tas med i vurderingen grunnet lite tilgjengelig forskning på vitamin C innhold i *Salicornia europaea* L.. Basert på signifikant forskjell ($p < 0,001$) mellom metode AF og de tre andre ekstraksjonsmetodene, i tillegg til sammenligning av ekstraksjonsmetodene utført i denne oppgaven og funn gjort av Evlash et al. (2021) og Lu et al. (2010), kan det tyde på at metode AF er den mest gunstige av de fire ekstraksjonsmetodene med hensyn til høyest utbytte av vitamin C i salturt.

Med hensyn til kvantifisert vitamin C innhold i plantemateriale ga metode AN høyest utbytte ved ekstraksjon fra salat, mens AF ga høyest utbytte både ved ekstraksjon fra grønnkål og ved ekstraksjon fra salturt. En generell sammenligning av på metode A og B, viser at metode A konsekvent gir høyest utbytte av vitamin C i forhold til metode B (Vedlegg 7). Det er altså grunnlag for å påstå at metode A generelt gir høyere kvantifisert vitamin C innhold for alle plantesortene. Ved vurdering av forbehandlingsmetoder, altså frysetøking og behandling med flytende nitrogen, er det ikke vist konsekvente forskjeller sammenlignet med de ulike

plantesortene og i mellom metode A og B (Vedlegg 7). Ved utførelse av metode A på salat ble det kvantifisert høyest vitamin C innhold med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen, men ved utførelse av metode B på salat ble det ikke detektert vitamin C fra plantemateriale behandlet med flytende nitrogen. Det er derfor ikke nok grunnlag for å sammenligne forbehandlingsmetodene. Ved utførelse av metode A på grønnkål ble det kvantifisert høyest vitamin C innhold med plantemateriale som var frysetørket, men ved utførelse av metode B på grønnkål ble det kvantifisert høyest vitamin C innhold med plantemateriale som var behandlet med flytende nitrogen. For salturt ble det kvantifisert høyest vitamin C innhold med plantemateriale som var frysetørket både ved utførelse av metode A og ved utførelse av metode B. Basert på dette er det ikke grunnlag for å si at det generelt ble kvantifisert mer vitamin C ved ekstraksjon fra plantemateriale som enten var frysetørket eller behandlet med flytende nitrogen. Forskjellene mellom forbehandlingsmetodene avhenger altså av plantesort og av metode A og B. Det er verdt å poengtere at for alle metodene hadde gjennomsnittsverdien for vitamin C konsentrasjonen relativt lave standardavvik (Vedlegg 7). Dette tilsier at for hver metode er det liten variasjon mellom parallellene.

5.1.2 Kvantifisert AA og DHAA

Som beskrevet i delkapittel 2.2 kan AA oksideres til DHAA i en reversibel reaksjon hvor vitaminet kan reduseres tilbake til AA igjen. Det vil si at konsentrasjonen av AA og DHAA er avhengig av hverandre, slik at hvis innholdet av den ene formen øker, vil innholdet av den andre formen minke. Som vist i Tabell 4, inneholder grønnkål betydelig mye mer AA enn DHAA, både ved gjennomførelse av metode BN og BF, noe som tyder på at AA utgjør mesteparten av TAA. Dette stemmer med funn fra studien gjennomført på andre bladgrønnsaker av Medina-Lozano et al. (2020). Ved utførelse av metode B på salat og salturt var det ikke mulig å kvantifisere mengde DHAA. Dette skyldes at AA ikke ble detektert i Ekstrakt 1, altså i ekstraktene som inneholdt DHAA før det ble redusert til AA. Konsentrasjonen av AA før all vitamin C ble redusert til AA var altså for lav til å kunne detekteres av HPLC instrumentet. På den ene siden kan det argumenteres for at mengden DHAA i salat og salturt er lik mengden TAA detektert ettersom at AA ikke ble detektert, altså at TAA utgjør det reduserte DHAA. På den andre siden er mengden detektert TAA såpass liten at det ikke er grunnlag for å argumentere for at all TAA er DHAA. Altså høyst

sannsynlig er det AA i både salat og salturt, men at denne mengden var for lav til å detekteres.

Dersom en ønsker å identifisere innholdet av spesifikt AA og DHAA, fremfor TAA, kan det argumenteres for at metode B er mer gunstig enn metode A, ettersom at metode B tar høyde for dette. Likevel kan det være at det er mulig å kvantifisere innholdet av spesifikt AA og DHAA i metode A, dersom det også blir laget ekstrakter uten tilsats av DTT, slik som i metode B.

5.2 Utførelse av ekstraksjonsmetodene

Ved evalueringen av utførelsen ble det identifisert flere forskjeller mellom ekstraksjonsmetodene som resulterte i at noen av metodene ble vurdert som mer krevende enn andre. Som beskrevet i kapittel 2.8, ble det gjort en separat vurdering av både forbehandlingsmetodene (Tabell 5), samt ekstraksjonsmetodene (Tabell 6), hvor resultatene ble slått sammen til en samlet vurdering for metodene AF, AN, BF og BN (Tabell 7). For å kunne vurdere og sammenligne gjennomførelsen av ekstraksjonsmetodene ble det tatt utgangspunkt i parametrene tid, HMS, utstyr, kostnad og anvendelighet. Det er imidlertid viktig å poengtere at valg av metode alene ikke kan baseres på summen av parametrene, da dette er en evaluering basert på egne erfaringer som ikke tar høyde for ulik vektlegging av parametrene.

Det var flere faktorer som førte til at frysetørking ble evaluert som en mer krevende forbehandlingsmetode enn behandling med flytende nitrogen. Sammenlignet med flytende nitrogen er frysetørking svært tidkrevende. Det tar omtrent 24 timer å frysetørke plantemateriale som salat, grønnkål og salturt. Til sammenligning tok det omtrent en time å fryse og knuse samme plantemateriale med flytende nitrogen. Dette parameteret vil selvfølgelig variere med mengden plantemateriale som skal forbehandles. I tillegg til at frysetørking er mer tidkrevende enn flytende nitrogen, krever frysetørking mer avansert og dyrt utstyr i forhold til behandling med flytende nitrogen. Frysetørking ble også vurdert som mer krevende med hensyn til anvendelighet. Dette ettersom at plantemateriale som ble frysetørket var mer krevende å arbeide med ved ekstraksjon på laboratoriet. Eksempelvis var frysetørket salat og salturt svært statisk, noe som gjorde det mer utfordrende å veie opp og overføre plantematerialet uten at noe gikk til spille. Med hensyn til HMS ble behandling med flytende nitrogen vurdert som mer krevende enn frysetørking. Dette begrunnes med at det

krever bestemte forholdsregler, da det er svært kaldt og kan føre til frostskafer. Likevel ble ikke behandling med flytende nitrogen vurdert som *svært* krevende med hensyn til HMS, basert på at det var enkelt å overholde de bestemte forholdsreglene.

Vedrørende evalueringen av gjennomføringen av ekstraksjonsmetodene, var det flere årsaker til at metode B ble vurdert som mer krevende enn metode A. Med hensyn til tid var metode B svært tidkrevende. Metode A ble gjennomført i løpet av en arbeidsdag, ulikt metode B som ble gjennomført i løpet av to arbeidsdager. Det er relevant å påpeke at metode B er mulig å gjennomføre i løpet av en arbeidsdag dersom forarbeid med tillaging av nødvendige kjemikalier er gjort, men gjennomføring av metode B vil likevel ta lengre tid enn gjennomføring av metode A. Metode B krevde tillaging av flere kjemikalier og løsninger, i tillegg til bruk av mer tidkrevende utstyr som horisontal vortexer, ultralyd vannbad og sentrifuge. I metode A ble det kun benyttet sentrifuge. Metode B ble også vurdert som mer krevende enn metode A når det gjelder HMS. Eksempelvis ble det benyttet flere sterke syrer som krevde ytterligere sikkerhetstiltak, og mer av arbeidet måtte derfor utføres under avtrekk i metode B enn i metode A. I tillegg ble det som nevnt benyttet ultralyd vannbad i metode B, et utstyr som kan føre til hørselsskader dersom en ikke tar tilstrekkelig forholdsregler. Med hensyn til utstyr ble metode B igjen vurdert som mer krevende enn metode A. Dette ettersom at det ble benyttet både mer utstyr, samt utstyr som var mer krevende enn det som ble benyttet i metode A. I tillegg ble metode B vurdert som mer kostbar enn metode A på grunnlag av at det ble benyttet flere ulike kjemikalier og mer krevende utstyr i metode B.

Med de gitte parameterene tatt i betraktning, fikk metode AN lavest sammenlagt verdi og ble derfor vurdert som den minst krevende metoden med hensyn til utførelse. Metode BF fikk høyest sammenlagt verdi og er derfor vurdert som den mest krevende metoden. Det er stor forskjell fra den metoden som ble vurdert som minst krevende og metoden som ble vurdert som mest krevende (Tabell 7). Som tidligere nevnt er det viktig å understreke at denne evalueringen ikke vektlegger viktigheten av de ulike parametrene. Eksempelvis vil enkelte vektlegge kostnader, mens andre vil være mer opptatt av tidsforbruk. Det settes altså ulike krav for hva som oppleves som viktigst ved gjennomføring, basert på hvem som gjennomfører ekstraksjonsmetodene.

6. Konklusjon

Det ble kvantifisert høyest vitamin C innhold ved utførelse av metode AN for ekstraksjon fra salat, men for ekstraksjon fra grønnkål og salturt ble det kvantifisert høyest vitamin C innhold ved utførelse av metode AF. Ved sammenligning av metode A og B, kan det derfor konkluderes med at metode A gir høyere vitamin C innhold per 100 g ved ekstraksjon fra salat, grønnkål og salturt enn det metode B gjør. Forskjellene mellom metode A og metode B i henhold til kvantifisert innhold av vitamin C var signifikant. Med hensyn til forbehandlingsmetode er det ikke grunnlag for å konkludere med at den ene forbehandlingsmetoden gir høyere *eller* lavere kvantifisert innhold av vitamin C. Forskjellene ved forbehandlingsmetodene varierte blant plantesortene og med metode A og B. Det var altså ikke observert en konsekvent forskjell hvor enten frysetørket plantemateriale eller plantemateriale behandlet med flytende nitrogen ga høyere kvantifisert vitamin C innhold. Dersom det er ønsket å kvantifisere spesifikt AA og DHAA innhold er metode B mest gunstig ved ekstrahering fra grønnkål ettersom at denne metode tar høyde for dette. Ved evaluering av utførelse ble metode AN vurdert som minst krevende og metode BF ble evaluert som mest krevende. Gitt at det er av interesse å oppnå høyest utbytte av vitamin C vil metode AF og AN, avhengig av plantemateriale, være de mest gunstige ekstraksjonsmetodene. Dersom utførelsen av metodene vektlegges, vil metode AN være den mest gunstige ekstraksjonsmetoden. Hvilken ekstraksjonsmetode som er mest gunstig, avhenger altså av hvilke faktorer som vektlegges. Likevel kan det basert på resultat og vurderinger i denne oppgaven, konkluderes med at metode A er mer gunstig for ekstraksjon av vitamin C i salat, grønnkål og salturt enn metode B.

7. Videreføring av arbeid

Ved eventuell videreføring av arbeidet, kan det være hensiktsmessig å gjenta alle ekstraksjonsmetodene flere ganger på samme plantemateriale for å kunne vurdere stabiliteten og hvorvidt resultatene er reproducerbare. Det kan også være hensiktsmessig å utføre ekstraksjonsmetodene på plantemateriale med kjent innhold av vitamin C. Næringsinnholdet i planter avhenger av dyrkingsforhold, og den ernæringsmessige verdien kan derfor variere betydelig innen samme planteart. På bakgrunn av variasjon, samt mangelen av omfattende data om vitamin C-innholdet i *Salicornia Europaea* og Crispisalat, er det utfordrende å sammenligne vitamin C innhold funnet i denne oppgaven med andre funn. Eventuell utførelse av ekstraksjonsmetodene på plantematerialet med kjent innhold av vitamin C vil derfor kunne bidra til å verifisere eller avkrefte om metodene fungerer optimalt. Avslutningsvis kan det nevnes at dersom oppgavens tidsramme hadde vært større, ville det vært mulig å gjennomføre flere ekstraksjonsmetoder samt utprøving av andre deteksjonsmetoder enn HPLC for å kunne gi et bredere sammenligningsgrunnlag. Abe-Matsumoto et al. (2020) påpeker at den kvantitative vurderingen av vitamin C innholdet ikke utelukkende er avhengig av ekstraksjonsmetoden alene, men også av deteksjonsmetoden som benyttes. Derfor kan det være av interesse å undersøke alternative metoder for dette, som eksempelvis titrering, for å se om det er mulig å oppnå mer nøyaktige resultater ved bestemmelsen av vitamin C-innholdet i ekstraktene. Selv om dette ikke har en direkte innvirkning på effektiviteten til ekstraksjonsmetodene, kan det som nevnt bidra med å gi mer presise resultater. I tillegg kunne det vært interessant å utføre metode A og metode B på plantemateriale som først er behandlet med flytende nitrogen og deretter frysetørket, slik som Medina-Lozano et al. (2020) gjør.

8. Referanser

- Abe-Matsumoto, L. T., Sampaio, G. R., & Bastos, D. H. M. (2020). Is Titration as Accurate as HPLC for Determination of Vitamin C in Supplements? &—Titration versus HPLC for Vitamin C Analysis. *American Journal of Analytical Chemistry*, 11(07), 269–279. <https://doi.org/10.4236/ajac.2020.117021>
- Aliste, A. J., & Del Mastro, N. L. (2004). Ascorbic acid as radiation protector on polysaccharides used in food industry. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 249(1–3), 131–133. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.08.064>
- Anderberg, A. A., Baldwin, B. G., Bayer, R., Breitwieser, J., Jeffrey, C., Dillon, M., Eldenäs, P., Funk, V. A., Garcia-Jacas, N., Hind, D. J. N., Karis, P. O., Lack, H. W., Nesom, G., Nordenstam, B., Oberprieler, C., Panero, J. L., Puttock, C. F., Robinson, H., Stuessy, T.F., . . . Watson, L. E. (2007). *Flowering Plants. Eudicots*. In Springer eBooks (pp. 61–588). https://doi.org/10.1007/978-3-540-31051-8_7
- Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*, 04(03). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Bama.(u.å.a). *Grønnkål*. <https://www.bama.no/ravarer/gronnsaker/kal/gronnkål/>
- Bama. (u.å.b). *Super* Grønnkål* <https://www.bama.no/gronnogfrisk/produkter/supergronnsaker/supergronnkål/>
- Becerra-Moreno, A., Alanís-Garza, P. A., Mora-Nieves, J. L., Mora-Mora, J., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2014). Kale: An excellent source of vitamin C, pro-vitamin A, lutein and glucosinolates. *Cyta-journal of Food*, 12(3), 298–303. <https://doi.org/10.1080/19476337.2013.850743>
- Berk, Z. (2009). *Food Process Engineering and Technology*. Academic press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-373660-4.00011-9>
- Buettner, G. R., & Schafer, F. Q. (2000). Free radicals, oxidants, and antioxidants. *Teratology*, 62(4), 234-234. [https://doi.org/10.1002/1096-9926\(200010\)62:4<234::AID-TERA10>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1096-9926(200010)62:4<234::AID-TERA10>3.0.CO;2-9)
- Castagna, A., Mariottini, G., Gabriele, M., Longo, V., Soud, A., Dauvergne, X., Magné, C., Foggi, G., Conte, G., Santin, M., & Ranieri, A. (2022). Nutritional Composition and Bioactivity of *Salicornia europaea* L. Plants Grown in Monoculture or Intercropped with Tomato Plants in Salt-Affected Soils. *Horticulturae*, 8(9), 828. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8090828>

- Devaki, S. J., & Raveendran, R. L. (2017). Vitamin C: sources, functions, sensing and analysis. In *Vitamin C*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70162>
- Ekstrahere. (u.å). I *Det Norske Akademis ordbok*. Hentet 14 april 2022 fra <https://naob.no/ordbok/ekstrahere>
- Evlash, V., Murlykina, N., Аксьонова, О. Ф., & Hazzavi-Rogozina, L. (2021). Technology of a dietary supplement “SoleVit Mg” based on *Salicornia Europaea L.* for use in food technologies. *BIO Web of Conferences*, 40, 02006. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20214002006>
- Folkehelseinstituttet. (2023, 31. mars). *Kosthold i Norge* <https://www.fhi.no/nettpub/hin/levevaner/kosthold/#om-kosthold-og-helse>
- Folkehelseinstituttet. (2018, 10. august). *Ti store folkehelseutfordringer i Norge. Hva sier analyse av sykdomsbyrde?* <https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/2019/ti-store-folkehelseutfordringer-notat-2019.pdf>
- Grosso, G., Bei, R., Mistretta, A., Marventano, S., Calabrese, G., Masuelli, L., Giganti, M. G., Modesti, A., Galvano, F., & Gazzolo, D. (2013). Effects of Vitamin C on health: a review of evidence. *Frontiers in Bioscience*, 18(3), 1017. <https://doi.org/10.2741/4160>
- Helsedirektoratet. (2016, 24. oktober) *Kostrådene*. <https://www.helsedirektoratet.no/faglige-rad/kostradene-og-naeringsstoffer/kostrad-for-befolkningen#minst-fem-porsjoner-groennsaker-frukt-og-baer-hver-dag-begrunnelse>
- Helsedirektoratet. (2011, januar). *Kostråd for å fremme folkehelsen og forebygge kroniske sykdommer Metodologi og vitenskapelig kunnskapsgrunnlag Nasjonalt råd for ernæring 2011* https://www.helsedirektoratet.no/rapporter/kostrad-for-a-fremme-folkehelsen-og-forebygge-kroniske-sykdommer-metodologi-og-vitenskapelig-kunnskapsgrunnlag/Kostr%C3%A5d%20for%20%C3%A5%20fremme%20folkehelsen%20og%20forebygge%20kroniske%20sykdommer%20%E2%80%93%20metodologi%20og%20vitenskapelig%20kunnskapsgrunnlag.pdf/_attachment/inline/2a6293e0-169e-41bd-a872-f3952dbb22c2:0d09926111d614e6059e804b7f9b21c17bd0c1cd/Kostr%C3%A5d%20for%20%C3%A5%20fremme%20folkehelsen%20og%20forebygge%20kroniske%20sykdommer%20%E2%80%93%20metodologi%20og%20vitenskapelig%20kunnskapsgrunnlag.pdf
- Helsenorge. (28. januar, 2020). *Jernmangelanemi*. <https://www.helsenorge.no/sykdom/blod-og-lymfe/jernmangelanemi/>
- Jaradat, A. A., Bucking, H., Merah, O., & Sahrawat, K. L. (2012). The Dwarf Saltwort (*Salicornia bigelovii* Torr.): Evaluation of Breeding Populations. *ISRN Agronomy*, 2012, 1–10. <https://doi.org/10.5402/2012/151537>
- Jauhar, S., Nor-Khaizura, M. A. R., Ibadullah, W. Z. W., & Ismail-Fitry, M. R. (2018).

- Review on different extraction methods of polyphenol compounds from pomegranate (*Punica granatum*). In *Proceedings of the 5th International Conference on Applied Sciences and Engineering (ICASEA, 2018)*.
- Jouyban, Z. (2012). The effects of salt stress on plant growth. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences: TJAS*, 2(1), 7-10
<https://tarjomefa.com/wp-content/uploads/2017/10/TarjomeFa-F220-English.pdf>
- Jørgensen, H.M. (2021, 16. desember). Korsblomstfamilien. I *Store Norske Leksikon*.
<https://snl.no/korsblomstfamilien>
- Karoliussen, I., Brinckmann, E., & Kittang, A.I. (2013). Will plants grow on Moon or Mars?. *Current Biotechnology*, 2(3), 235-243.
<https://doi.org/10.2174/22115501113029990019>
- Khan, S. A., Purohit, A., & Vadsaria, N. (2021). Hydroponics: current and future state of the art in farming. *Journal of Plant Nutrition*, 44(10), 1515–1538.
<https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1860217>
- Kim, M. H., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., & Waterland, N. L. (2016, juni). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa L.*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 19–34.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>
- Lausund., S. (2018). *HPLC*. NTNU.
<https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/HPLC>
- Lee, W. J. (2019). Vitamin C in Human Health and Disease. In *Springer eBooks*. Springer Nature.
<https://doi.org/10.1007/978-94-024-1713-5>
- Loconsole, D., Cristiano, G., Lucia, B. (2019). Glassworts: From Wild Salt Marsh Species to Sustainable Edible Crops, *Agriculture*, 9(1)
<https://doi.org/10.3390/agriculture9010014>
- Lu, D., Zhang, M., Wang, S., Cai, J., Zhou, X., Zhu, C. (2010, april). Nutritional characterization and changes in quality of *Salicornia bigelovii* Torr. during storage. *LWT - Food science and Technology*, 43(3), 519-525
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.09.021>
- Majid, M., Khan, J. A., Shah, Q. S. I., Masoodi, K. Z., Afroza, B., & Parvaze, S. (2021). Evaluation of hydroponic systems for the cultivation of Lettuce (*Lactuca sativa L.*, var. *Longifolia*) and comparison with protected soil-based cultivation. *Agricultural Water Management*, 245, 106572. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106572>
- Malo, C., & Wilson, J. X. (2000). Glucose modulates vitamin C transport in adult human small intestinal brush border membrane vesicles. *Journal of Nutrition*, 130(1), 63–69.
<https://doi.org/10.1093/jn/130.1.63>

- Mattilsynet. (2022, 22. november). *Matvaretabellen*.
<https://www.matvaretabellen.no/>
- Medina-Lozano, I., Bertolín, J. R., Zufiaurre, R., & Díaz, A. (2020). Improved UPLC-UV Method for the Quantification of Vitamin C in Lettuce Varieties (*Lactuca sativa* L.) and Crop Wild Relatives (*Lactuca* spp.). *Journal of Visualized Experiments*, 160. <https://doi.org/10.3791/61440>
- Miljødirektoratet. (2022, 22. november). *Sirkulær økonomi*
<https://www.miljodirektoratet.no/ansvarsomrader/avfall/sirkular-okonomi/>
- Mitic, S. S., Kostić, D. A., Okic, D. N., & Mitić, M. N. (2011). Rapid and Reliable HPLC Method for the Determination of Vitamin C in Pharmaceutical Samples. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10(1). <https://doi.org/10.4314/tjpr.v10i1.66549>
- Nofima.(27. april, 2022). *Verdt å vite om kollagen*.
<https://nofima.no/fakta/verdt-a-vite-om-kollagen/>
- Norsk helseinformatikk: NHI. (2022, 5. desember). *Vitaminer*
<https://nhi.no/kosthold/ernaring/vitaminer-hva-er-det/>
- Nordic Council of Ministers. (2014). *Nordic Nutrition Recommendations 2012*. (Nord 2014:002).
<http://norden.diva-portal.org/smash/get/diva2:704251/FULLTEXT01.pdf>
- NTNU. (u.å.). *HPLC method to determine vitamin C*
- NTNU Samfunnsforskning. (2022). *LunarPlant*
<https://samforsk.no/prosjekter/lunarplant>
- Shukla, S. (2011). Freeze drying process: A review. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 2(12), 3061.
- Simonsen, G. (u.å.). *Lettuce grown on cellulose substrates* [Foto]. NTNU Samforsk. Lastet ned 3.05.2023 fra:
https://samforsk.no/uploads/images/Lettuce-grown-on-cellulose-substrates_3.jpg
- Sulaiman, N. S., Rovina, K., & Joseph, V. M. (2019b). Classification, extraction and current analytical approaches for detection of pesticides in various food products. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 14(3), 209–221.
<https://doi.org/10.1007/s00003-019-01242-4>
- Tarrago-Trani, M. T., Phillips, K. W., & Cotty, M. (2012). Matrix-specific method validation for quantitative analysis of vitamin C in diverse foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1–2), 12–25. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.03.004>
- The Editors of Encyclopaedia Britannica. (1998a, 20. juli). Lettuce | Description, Varieties, & Facts. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/plant/lettuce>
- The Editors of Encyclopaedia Britannica. (1998b, 20. juli). Kale | Description, Nutrition, &

Facts. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/plant/kale>

Thomas, J. M. B., Yen, J. H., & Sharpless, K. E. (2013). Characterization of NIST food-matrix standard reference materials for their vitamin C content. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(13), 4539–4548. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6891-4>

Universitetet i Oslo: UIO. (2023, 4. mai). *Glutation-askorbat syklus*. <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/g/glutation-askorbat-syklus.html>

Van Treuren, R., Van Eekelen, H. D. L. M., Wehrens, R., & De Vos, R. C. H. (2018). Metabolite variation in the lettuce gene pool: towards healthier crop varieties and food. *Metabolomics*, 14(11). <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1443-8>

Vetlesen, K. (2023, 24. januar) Salturt. I *Store Norske Leksikon*. <https://snl.no/salturt>

World Health Organization: WHO, Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAO. (2003). *Diet nutrition and the prevention of chronic diseases* (916) <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/50588/retrieve>

World Health Organization: WHO. (2020, 29. april). *Healthy diet*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>

Wilson, J. (2002). The physiological role of dehydroascorbic acid. *FEBS Letters*, 527(1–3), 5–9. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(02\)03167-8](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)03167-8)

Zou, W., Liu, L., & Chen, J. (2013). Structure, mechanism and regulation of an artificial microbial ecosystem for vitamin C production. *Critical Reviews in Microbiology*, 39(3), 247–255. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2012.706250>

Vedlegg 1: Tillaging av kjemikalier benyttet metode A (side 1 av 1)

Tillaging av metafosforsyre 2%

Bland metafosforsyre (1.00546, Merck), oksalsyre dihydrat (33506, Ridel-de Haën) og avionisert vann. Holdbar i omtrent 5 dager i kjøleskap.

- 20 g metafosforsyre
- 1 g oksalsyre dihydrate
- 1 L avionisert vann

Tillaging av ekstraksjons løsemiddelet (metafosforsyre, 5 mM DTT (MPA-DTT))

For 20 prøver trengs 100 mL. Bland 100 ml metafosforsyre 2% med 0,077 g dithiothreitol (DTT; R0862, Thermo Fisher Scientific). pH skal være omkring 2,2. Bør lages dagen det benyttes ettersom at DTT er ustabil.

Vedlegg 2: Tillaging av kjemikalier benyttet i metode B (side 1 av 1)

Tillaging av ekstraksjonsløsemiddel

For å lage 1 L av ekstraksjonsløsemiddel ble 30g MPA (1.00546, Merck), 0,372g EDTA-dehydert (EDTA; E5134-500G, Merck), 80 ml eddiksyre (27225-2.5L-M, Merck) og 500ml ionisert vann tilsatt i en kolbe. Denne ble forseglet med petrifilm og satt på en magnetrører til innholdet ble løst opp. Deretter ble innholdet overført til en målekolbe og fylt med ionisert vann slik at det totale volumet ble nøyaktig 1L.

Tillaging av reduksjonsbuffer (0,5 M Tris pH 9,0)

For å lage 150 mL reduksjonsbuffer ble 6,055g 2-amino-2-(hydroksymetyl)-1,3-propandiol (Tris; 103156X, VWR Chemicals) og 90mL avionisert vann tilsatt en kolbe. Kolben ble forseglet med plastfilm og satt på en magnetrører. Når pulveret var løst opp ble det tilsatt ionisert vann slik at det totale volumet ble 150 mL.

Tillaging av reduserende løsning

For å lage 50 mL av reduserende løsning ble 0,629g dithiothreitol (DTT; R0862, Thermo Fisher Scientific) blandet med 90 ml reduksjonsbuffer (0,5 M Tris pH 9,0). Løsningen er svært ustabil og ble derfor dekket til med aluminiumsfolie og umiddelbart plassert i et kjøleskap.

Tillaging av svovelsyre (0,4 M H₂SO₄)

For å lage 100ml av løsningen ble 2,22mL H₂SO₄ (1.00731.2500, Merck) tilsatt en målekolbe med 80mL avionisert vann. Kolben ble så fylt opp med avionisert vann til det totale volumet ble 100ml.

Tillaging av saltsyre (2 M HCl)

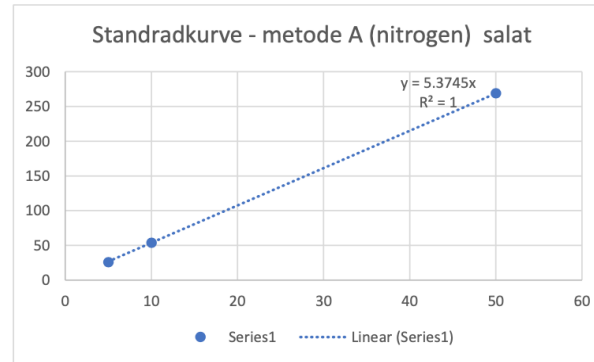
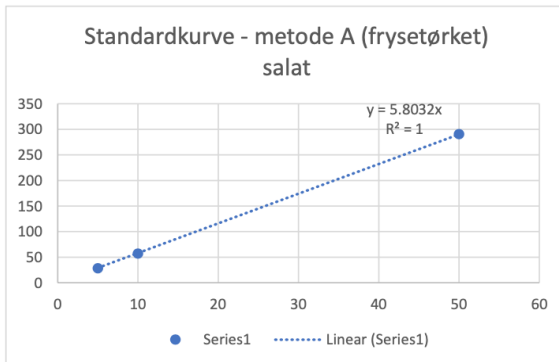
For å lage 100ml av løsningen ble 6,13 mL saltsyre (1.00317.2011, Merck) tilsatt en målekolbe med 80mL avionisert vann. Kolben ble så fylt opp med avionisert vann til det totale volumet ble 100ml.

Vedlegg 3: Standardkurve, i tillegg til areal og konsentrasjon av vitamin C i hver av parallellene (side 1 av 6)

I Figur 1 er det vist en oversikt over arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i standardene og i de ulike parallellene ved gjennomføring av metode A på salat, både med frysetørket plantemateriale og med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen.

Nitrogen		
Standard	Konsetrasjon mg/ml	Areal
1	1	Ikke detektert
2	5	28,153
3	10	56,951
4	50	290,463

Frysetørket		
Standard	Konsetrasjon mg/ml	Areal
1	1	Ikke detektert
2	5	25,805
3	10	53,685
4	50	268,844



Nitrogen		
Prøve	Areal	TAA konsentrasjon (ug mL-1)
1	27,321	4,708
2	28,498	4,911
3	31,269	5,388
4	31,65	5,454
5	32,321	5,570

Frysetørket		
Prøve	Areal	TAA konsentrasjon (ug mL-1)
1	134,665	25,056
2	129,815	24,154
3	122,192	22,736
4	128,333	23,878
5	124,606	23,185

Gjennomsnitt		
Areal	30,2118	
Konsentrasjon	5,206	

Gjennomsnitt		
Areal	127,9222	
Konsentrasjon	23,802	

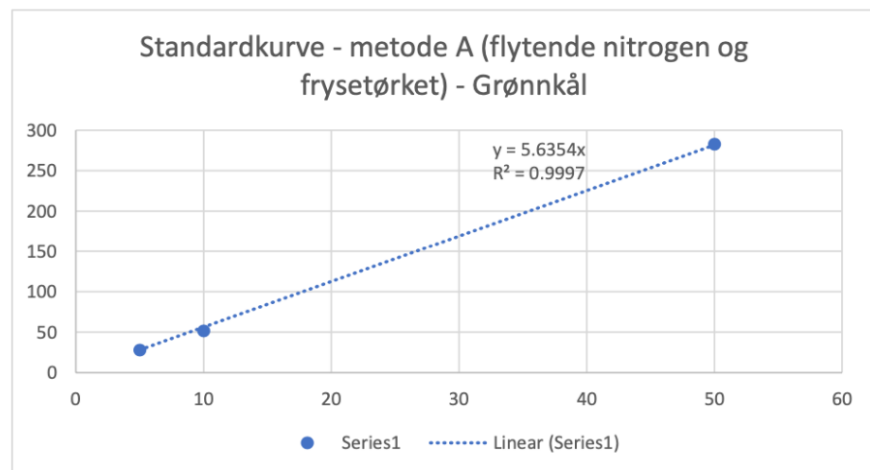
Figur 1: Viser standardkurven basert på konsentrasjonen av vitamin C og arealet detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike standardene samt arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike parallellene. Figuren viser også konsentrasjon av vitamin C (TAA) i ekstraktene fra salat. Konsentrasjonen ble beregnet ved å dividere det detekterte arealet for parallellen med stigningstallet til standardkurven (y).

Vedlegg 3: Standardkurve, i tillegg til areal og konsentrasjon av vitamin C i hver av parallellene (side 2 av 6)

I Figur 2 er det vist en oversikt over arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i standardene og i de ulike parallellene for metode A med grønnkål, både med frysetørket plantemateriale og med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen. Som følge av at parallellene med frysetørket plantemateriale ble kjørt i HPLC-instrumentet samtidig som parallellene med plantemateriale som ble behandlet med flytende nitrogen, kan en benytte felles standarder og en felles standardkurve for beregninger av konsentrasjonen av vitamin C i ekstraktet.

Felles standarder: Frysetørket og flytende nitrogen

Standard	Konsetrasjon mg/ml	Areal
1	1	Ikke detektert
2	5	28,039
3	10	51,631
4	50	282,727



Frysetørket grønnkål		
Prøve	Areal	TAA konsetrasjon (ug mL-1)
1	1692,277	300,294
2	1704,009	302,376
3	1704,598	302,480

Gjennomsnitt

Areal	1700,295
Konsetrasjon	301,717

Grønnkål behandlet med flytende nitrogen

Prøve	Areal	TAA konsetrasjon (ug mL-1)
1	288,900	51,265
2	278,627	49,442
3	266,870	47,356

Gjennomsnitt

Areal	278,132
Konsetrasjon	49,354

Figur 2: Viser standardkurven basert på konsentrasjonen av vitamin C og arealet detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike standardene samt arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike parallellene. Figuren viser også konsentrasjon av vitamin C (TAA) i ekstraktene fra grønnkål, som ble beregnet ved å dividere det detekterte arealet for parallellen med stigningstallet til standardkurven (y).

Vedlegg 3: Standardkurve, i tillegg til areal og konsentrasjon av vitamin C i hver av parallellene (side 3 av 6)

I Figur 3 er det vist oversikt over arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i standardene og i de ulike parallellene for metode A med salturt, både med frysetørket plantemateriale og med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen. Som følge av at parallellene med frysetørket plantemateriale ble kjørt i HPLC-instrumentet samtidig som parallellene med plantemateriale som ble behandlet med flytende nitrogen, kan en benytte felles standarder og en felles standardkurve for beregninger av konsentrasjonen av vitamin C i ekstraktet

Felles: Frysetørket og flytende nitrogen

Standard	Konsetrasjon mg/ml	Areal
1	1	Ikke detektert
2	5	28,039
3	10	51,631
4	50	282,727

Frysetørket salturt

Prøve	Areal	TAA konsetrasjon (ug mL-1)
1	427,508	75,861
2	448,033	79,503
3	466,810	82,835

Gjennomsnitt

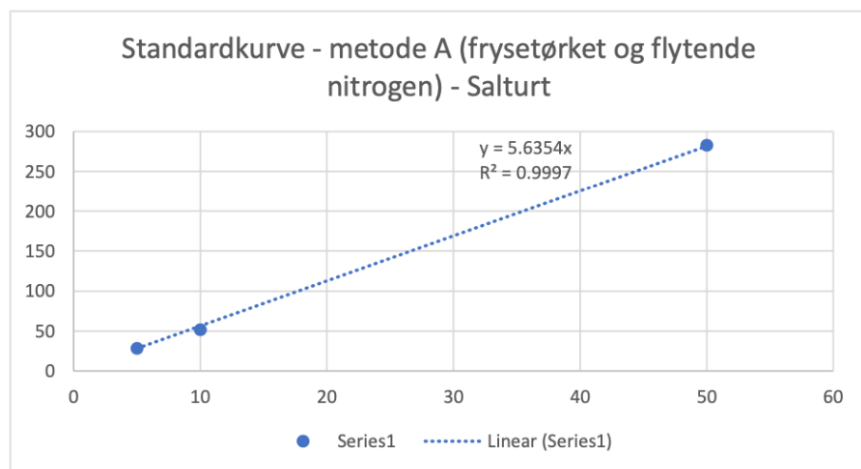
Areal	447,450
Konsetrasjon	79,400

Salturt behandlet med flytende nitrogen

Prøve	Areal	TAA konsetrasjon (ug mL-1)
1	52,303	9,281
2	54,398	9,653
3	53,136	9,429

Gjennomsnitt

Areal	53,279
Konsetrasjon	9,454

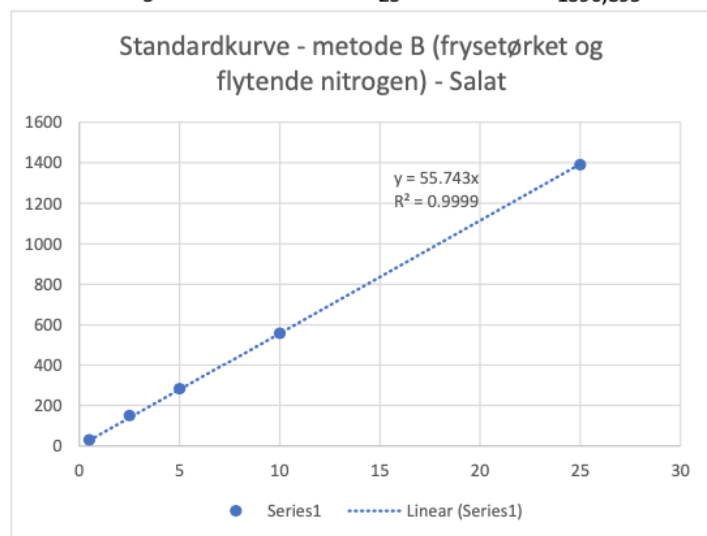


Figur 3: Viser standardkurven basert på konsentrasjonen av askorbinsyre og arealet detektert ved retensjonstiden til askorbinsyre i de ulike standardene samt arealet som ble detektert ved retensjonstiden til askorbinsyre i de ulike parallellene. Figuren viser også konsentrasjon av vitamin C (TAA) i ekstraktene fra salturt. Konsentrasjonen ble beregnet ved å dividere det detekterte arealet for parallellen med stigningstallet til standardkurven (y).

Vedlegg 3: Standardkurve, i tillegg til areal og konsentrasjon av vitamin C i hver av parallellene (side 4 av 6)

I Figur 4 er det vist en oversikt over arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i standardene i tillegg til i de ulike parallellene for metode B med salat, både med frysetørket plantemateriale og med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen. Som følge av at parallellene med frysetørket plantemateriale ble kjørt i HPLC-instrumentet samtidig som parallellene med plantemateriale som ble behandlet med flytende nitrogen, kan en benytte felles standarder og en felles standardkurve for beregninger av konsentrasjonen av vitamin C i ekstraktet.

Standard	Konsetrasjon (ug mL-1)	Areal
1	0,5	30,184
2	2,5	150,294
3	5	283,285
4	10	558,975
5	25	1390,895



Frysetørket - AA		
Prøve	Areal	Vitamin C konsetrasjon (ug mL-1)
1	Ikke detektert	-
2	Ikke detektert	-
3	Ikke detektert	-
4	Ikke detektert	-
5	Ikke detektert	-

Frysetørket - TAA		
Prøve	Areal	Vitamin C konsetrasjon (ug mL-1)
1	13,807	0,248
2	14,221	0,255
3	14,718	0,264
4	12,968	0,233
5	15,342	0,275

Gjennomsnitt (TAA)
Areal: 14,21
Konsentrasjon: 0,255

Nitrogen - AA		
Prøve	Areal	Vitamin C konsetrasjon (ug mL-1)
1	Ikke detektert	-
2	Ikke detektert	-
3	Ikke detektert	-
4	Ikke detektert	-
5	Ikke detektert	-

Nitrogen - TAA		
Prøve	Areal	Vitamin C konsetrasjon (ug mL-1)
1	Ikke detektert	-
2	Ikke detektert	-
3	Ikke detektert	-
4	Ikke detektert	-
5	Ikke detektert	-

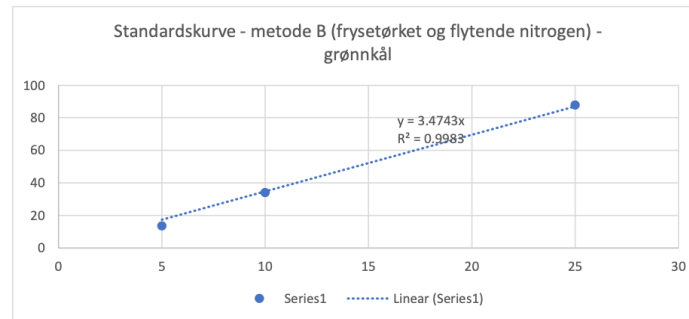
Gjennomsnitt (TAA)
Areal: -
Konsentrasjon: -

Figur 4: Viser standardkurven basert på konsentrasjonen av vitamin C og arealet detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike standardene samt arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike parallellene. Figuren viser også total vitamin C (TAA) og askorbinsyre (AA) konsentrasjon i ekstraktene fra salat. Konsentrasjonen ble beregnet ved å dividere det detekterte arealet for parallellen med stigningstallet til standardkurven (y).

Vedlegg 3: Standardkurve, i tillegg til areal og konsentrasjon av vitamin C i hver av parallellene (side 5 av 6)

I Figur 5 er det vist en oversikt over arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i standardene i tillegg til i de ulike parallellene for metode B med grønnkål, både med frysetørket plantemateriale og med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen. Som følge av at parallellene med frysetørket plantemateriale ble kjørt i HPLC-instrumentet samtidig som parallellene med plantemateriale som ble behandlet med flytende nitrogen, kan en benytte felles standarder og en felles standardkurve for beregninger av konsentrasjonen av vitamin C i ekstraktet.

Standard	Konsentrasjon (ug mL-1)	Areal
0	2,5	Ikke detektert
1	0,5	Ikke detektert
2	2,5	Ikke detektert
3	5	13,651
4	10	34,138
5	25	87,845



Frysetørket grønnkål - AA		
Prøve	Areal	vitamin C konsentrasjon (ug mL-1)
1	71,818	20,671
2	70,495	20,290
3	71,761	20,655
4	63,451	18,263
5	64,811	18,654
Gjennomsnitt	68,4672	19,707

Grønnkål behandlet med flytende nitrogen - AA		
Prøve	Areal	vitamin C konsentrasjon (ug mL-1)
1	63,32	18,225
2	74,254	21,372
3	65,898	18,967
4	59,784	17,207
5	54,067	15,562
Gjennomsnitt	63,4646	18,267

Frysetørket grønnkål - TAA		
Prøve	Areal	vitamin C konsentrasjon (ug mL-1)
1	73,497	21,154
2	76,585	22,043
3	50,228	14,457
4	83,66	24,080
5	81,414	23,433
Gjennomsnitt	78,789	22,678

Grønnkål behandlet med flytende nitrogen - TAA		
Prøve	Areal	vitamin C konsentrasjon (ug mL-1)
1	92,921	26,745
2	92,160	26,526
3	94,633	27,238
4	99,153	28,539
5	104,447	30,063
Gjennomsnitt	96,663	27,822

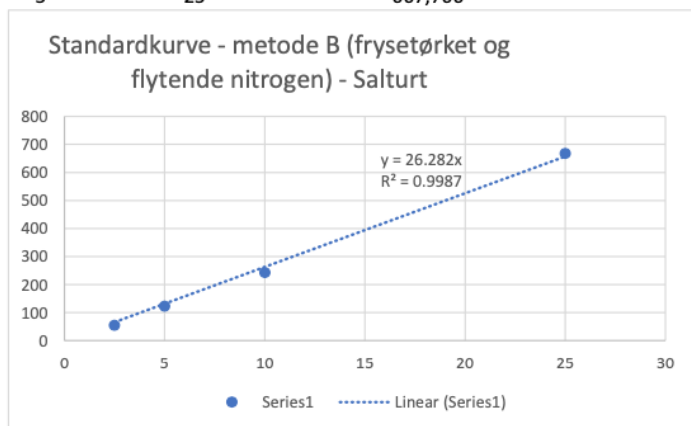
(sett bort fra parallell 3)

Figur 5: Viser standardkurven basert på konsentrasjonen av vitamin C og arealet detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike standardene samt arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i de ulike parallellene. Figuren viser også total vitamin C (TAA) og askorbinsyre (AA) konsentrasjon i ekstraktene fra grønnkål. Konsentrasjonen ble beregnet ved å dividere det detekterte arealet for parallellen med stigningstallet til standardkurven (y). Parallell 3 med frysetørket grønnkål ble sett bort fra grunnet søl ved opparbeiding.

Vedlegg 3: Standardkurve, i tillegg til areal og konsentrasjon av vitamin C i hver av parallellene (side 6 av 6)

I Figur 6 er det vist en oversikt over arealet som ble detektert ved retensjonstiden til vitamin C i standardene i tillegg til i de ulike parallellene for metode B med salturt, både med frysetørket plantemateriale og med plantemateriale behandlet med flytende nitrogen. Som følge av at parallellene med frysetørket plantemateriale ble kjørt i HPLC-instrumentet samtidig som parallellene med plantemateriale som ble behandlet med flytende nitrogen, kan en benytte felles standarder og en felles standardkurve for beregninger av konsentrasjonen av vitamin C i ekstraktet.

Standard	Konsetrasjon (ug mL-1)	Areal
1	0,5	Ikke detektert
2	2,5	54,983
3	5	122,825
4	10	243,004
5	25	667,766



Frysetørket salturt - AA

Prøve	Areal	vitamin C konsentrasjon (ug mL-1)
1	Ikke detektert	-
2	Ikke detektert	-
3	Ikke detektert	-

Salturt behandlet med flytende nitrogen - AA

Prøve	Areal	vitamin C konsentrasjon (ug mL-1)
1	Ikke detektert	-
2	Ikke detektert	-
3	Ikke detektert	-

Frysetørket salturt - TAA

Prøve	Areal	vitamin C konsentrasjon (ug mL-1)
1	26,851	1,022
2	29,034	1,105
3	28,371	1,079

Salturt behandlet med flytende nitrogen - AA

Prøve	Areal	vitamin C konsentrasjon (ug mL-1)
1	29,422	1,119
2	24,995	0,951
3	27,929	1,063

Gjennomsnitt - TAA

Areal: 28,085
Konsentrasjon: 1,069

Gjennomsnitt - TAA

Areal: 27,449
Konsentrasjon: 1,044

Figur 6: Viser standardkurven basert på konsentrasjonen av askorbinsyre og arealet detektert ved retensjonstiden til askorbinsyre i de ulike standardene samt arealet som ble detektert ved retensjonstiden til askorbinsyre i de ulike parallellene. Figuren viser også total vitamin C (TAA) og askorbinsyre (AA) konsentrasjon i ekstraktene fra salturt. Konsentrasjonen ble beregnet ved å dividere det detekterte arealet for parallellen med stigningstallet til standardkurven (y).

Vedlegg 4: Vanninnhold i salat (side 1 av 1)

Våtvekten er vekten til salaten før frysetørrking og tørrvekten er vekten til salaten etter frysetørrking.

Vanninnhold i salat ble bestemt ved bruk av formel 1:

$$\text{vanninnhold} = \text{våtvekt} - \text{tørrvekt} \quad (1)$$

Vanninnhold i % av våtvekt ble beregnet ved bruk av formel 2:

$$\% \text{ vanninnhold av våtvekt} = \frac{\text{vanninnhold}}{\text{tørrvekt}} \quad (2)$$

Frysetørrking ble gjennomført 3 ganger. Tabell 1 viser vekten for salaten før (våtvekt) og etter frysetørrking (tørrvekt) samt vanninnholdet før frysetørrking i salaten både i g og %.

Tabell 1: våtvekt, tørrvekt, vanninnhold i våtvekt og % vanninnhold av våtvekt for salat ved gjennomføring av frysetørrking 3 ganger.

	Våtvekt (g)	Tørrvekt (g)	Vanninnhold i våtvekt (g)	vanninnhold i våtvekt (%)
1. runde	90,8	4,4	86,4	95,15
2. runde	94,7	4,5	90,2	95,25
3. runde	95,2	4,1	91,1	95,60
Gjennomsnitt	93,6	4,3	89,2	95,33

Vedlegg 5: utledning av formel 2 (side 1 av 1)

For å finne vitamin C mg/100 g plantemateriale ble først antall g plantemateriale per mL ekstrakt beregnet ved bruk av formel 1. I formel 1, 2, 3 og 4 er plantemateriale våtvekten til det plantemateriale som ble benyttet i ekstraktet. For metode AF og AN var volumet til ekstraksjonsvæsken 10 mL og for metode BF og BN var volumet til ekstraksjonsvæsken 5 mL.

$$\frac{\text{plantemateriale (g)}}{\text{volum ekstraksjonsvæske (mL)}} \quad (1)$$

Videre ble vitamin C $\mu\text{g/g}$ plantemateriale i ekstraktet beregnet ved bruk av formel 2.

$$\frac{\text{vitamin C } (\mu\text{g/mL})}{\text{plantemateriale (g) / volum ekstraksjonsvæske (mL)}} \quad (2)$$

Deretter ble formel 3 benyttet til å beregne vitamin C $\mu\text{g}/100$ g plantemateriale i ekstraktet. Det multipliseres altså med 100 for å gå fra vitamin C per gram til vitamin C per 100 g plantemateriale.

$$\frac{\text{vitamin C } (\mu\text{g/mL})}{\text{plantemateriale (g) / volum ekstraksjonsvæske (mL)}} \times 100 \quad (3)$$

Tilsutt ble vitamin C mg/100 g plantemateriale beregnet ved bruk av formel 4.

$$\frac{\text{vitamin C } (\mu\text{g/mL})}{\text{plantemateriale (g) / volum ekstraksjonsvæske (mL)}} \times 100 / \frac{1 \text{ (mg)}}{1000 \text{ } (\mu\text{g})} \quad (4)$$

Vedlegg 6: verdier for konsentrasjon av vitamin C for alle paralleller (side 1 av 3)

I Figur 1 er det en oversikt over mengden grønnkål som ble veid inn for hver parallell. Figur 1 viser også en oversikt over verdier for konsentrasjonen av vitamin C innholdet i de ulike parallellene med ekstrakt fra salat.

SALAT (TAA)										
Frysetørket salat metode A						Nitrogen salat metode A				
Parallell	Frysetørket materiale (g)	Våttvekt (g)	Kons vit C (TAA) ug/mL ekstrakt	Kons vit C ug/100g våttvekt	Kons vit C mg/100g våttvekt	Parallell	Nitrogen materiale (g)	Kons vit C (TAA) ug/mL ekstrakt	Kons vit C ug/100g våttvekt	Kons vit C mg/100g våttvekt
Parallell 1	0,5012	10,6638	25,056	2349,65	2,35	Parallell 1	1,0068	4,708	4676,12	4,68
Parallell 2	0,5022	10,6851	24,154	2260,50	2,26	Parallell 2	1,0598	4,911	4633,81	4,63
Parallell 3	0,5008	10,6553	22,736	2133,72	2,13	Parallell 3	1,0379	5,388	5191,48	5,19
Parallell 4	0,5014	10,6681	23,878	2238,29	2,24	Parallell 4	1,0252	5,454	5319,83	5,32
Parallell 5	0,5016	10,6723	23,185	2172,41	2,17	Parallell 5	1,0341	5,570	5386,33	5,39
Gjennomsnitt	0,5014	10,6689	23,802	2230,96	2,23	Gjennomsnitt	1,0328	5,206	5041,51	5,04
Standardavvik					0,07	Standardavvik				0,32

Frysetørket salat metode B						Nitrogen salat metode B				
Parallell	Frysetørket materiale (g)	Våttvekt (g)	Kons vit C (TAA) ug/mL ekstrakt	Kons vit C ug/100g våttvekt	Kons vit C mg/100g våttvekt	Parallell	Nitrogen materiale (g)	Kons vit C (TAA) ug/mL ekstrakt	Kons vit C ug/100g våttvekt	Kons vit C mg/100g våttvekt
Parallell 1	0,0501	1,0660	0,248	116,33	0,12	Parallell 1	0,5033	Ikke detektert	-	-
Parallell 2	0,0504	1,0723	0,255	118,90	0,12	Parallell 2	0,5030	Ikke detektert	-	-
Parallell 3	0,0511	1,0872	0,264	121,41	0,12	Parallell 3	0,5009	Ikke detektert	-	-
Parallell 4	0,0509	1,0830	0,233	107,57	0,11	Parallell 4	0,5034	Ikke detektert	-	-
Parallell 5	0,0508	1,0809	0,275	127,21	0,13	Parallell 5	0,5025	Ikke detektert	-	-
Gjennomsnitt	0,0507	1,0779	0,255	118,28	0,12	Gjennomsnitt	0,5026			
Standardavvik					0,01					

Figur 1: Viser verdier for konsentrasjonen av det totale vitamin C (TAA) innholdet i parallellene med ekstrakt fra salat. I tillegg viser figuren en oversikt over mengden salat som ble veid inn for hver parallell. Figuren viser også våttvekten av frysetørket salat for de aktuelle parallellene.

Vedlegg 6: verdier for konsentrasjon av vitamin C for alle paralleller (side 2 av 3)

I Figur 2 er det en oversikt over mengden grønnkål som ble veid inn for hver parallell. Figur 2 viser også en oversikt over verdier for konsentrasjonen av vitamin C innholdet i de ulike parallellene med ekstrakt fra grønnkål.

GRØNNKÅL (TAA)						Nitrogen grønnkål metode A				
Frysetrøket grønnkål metode A						Nitrogen grønnkål metode A				
Parallell	Frysetrøket materiale (g)	Våtvekt (g)	Kons vit C (TAA) ug/mL ekstrakt	Kons vit C ug/100g våtvekt	Kons vit C mg/100g våtvekt	Parallell	Nitrogen materiale (g)	Kons vit C ug/mL ekstrakt	Kons vit C (TAA) ug/100g våtvekt	Kons vit C mg/100g våtvekt
Parallell 1	0,5034	5,0340	300,294	59653,16	59,65	Parallell 1	1,0045	51,265	51035,34	51,04
Parallell 2	0,5026	5,0260	302,376	60162,36	60,16	Parallell 2	1,0038	49,442	49254,83	49,25
Parallell 3	0,5053	5,0530	302,48	59861,47	59,86	Parallell 3	1,0039	47,356	47172,03	47,17
Gjennomsnitt	0,5038	5,0377	301,717	59892,33	59,89	Gjennomsnitt	1,0041	49,354	49154,07	49,15
Standardavvik					0,21	Standardavvik				1,58

Frysetrøket grønnkål metode B						Nitrogen grønnkål metode B				
Parallell	Frysetrøket materiale (g)	Våtvekt (g)	Kons vit C (TAA) ug/mL ekstrakt	Kons vit C ug/100g våtvekt	Kons vit C mg/100g våtvekt	Parallell	Nitrogen materiale (g)	Kons vit C ug/mL ekstrakt	Kons vit C (TAA) ug/100g våtvekt	Kons vit C mg/100g våtvekt
Parallell 1	0,0509	0,5090	21,154	20779,96	20,78	Parallell 1	0,4998	26,754	26764,71	26,76
Parallell 2	0,0507	0,5070	22,043	21738,66	21,74	Parallell 2	0,5042	26,526	26305,04	26,31
Parallell 4	0,0504	0,5040	24,08	23888,89	23,89	Parallell 3	0,5011	27,238	27178,21	27,18
Parallell 5	0,0503	0,5030	23,433	23293,24	23,29	Parallell 4	0,5049	28,539	28262,03	28,26
Gjennomsnitt	0,050575	0,5058	22,678	22419,67	22,43	Parallell 5	0,5105	30,063	29444,66	29,44
Standardavvik					1,23	Gjennomsnitt	0,5041	27,824	27590,93	27,59
						Standardavvik				1,13

Figur 2: Viser verdier for konsentrasjonen av det totale vitamin C (TAA) innholdet i parallellene med ekstrakt fra grønnkål. I tillegg viser figuren en oversikt over mengden grønnkål som ble veid inn for hver parallell. Figuren viser også våtvekten av frysetørket grønnkål for de aktuelle parallellene.

Vedlegg 6: verdier for konsentrasjon av vitamin C for alle paralleller (side 3 av 3)

I Figur 3 er det en oversikt over mengden salturt som ble veid inn for hver parallell. Figur 3 viser også en oversikt over verdier for konsentrasjonen av vitamin C innholdet i de ulike parallellene med ekstrakt fra salturt.

SALTURT (TAA)						Nitrogen salturt metode A				
Frysetrøket salturt metode A						Nitrogen salturt metode B				
Parallell	Frysetrøket materiale (g)	Våtvekt (g)	Kons vit C (TAA) ug/mL ekstrakt	Kons vit C ug/100g våtvekt	Kons vit C mg/100g våtvekt	Parallell	Nitrogen materiale (g)	Kons vit C ug/mL ekstrakt	Kons vit C (TAA) ug/100g våtvekt	Kons vit C mg/100g våtvekt
Parallell 1	0,5019	2,7516	75,861	27569,33	27,57	Parallell 1	1,0056	9,281	9229,32	9,23
Parallell 2	0,5038	2,7621	79,503	28783,94	28,78	Parallell 2	1,0049	9,653	9605,93	9,61
Parallell 3	0,5032	2,7588	82,835	30026,04	30,03	Parallell 3	1,0012	9,429	9417,70	9,42
Gjennomsnitt	0,5030	2,7575	79,400	28793,10	28,79	Gjennomsnitt	1,0039	9,454	9417,65	9,42
Standardavvik					1,00	Standardavvik				0,15
Frysetrøket salturt metode B						Nitrogen salturt metode A				
Parallell	Frysetrøket materiale (g)	Våtvekt (g)	Kons vit C (TAA) ug/mL ekstrakt	Kons vit C ug/100g våtvekt	Kons vit C mg/100g våtvekt	Parallell	Nitrogen materiale (g)	Kons vit C ug/mL ekstrakt	Kons vit C (TAA) ug/100g våtvekt	Kons vit C mg/100g våtvekt
Parallell 1	0,0503	0,27577	1,022	1853,01	1,85	Parallell 1	0,5052	1,119	1107,48	1,11
Parallell 2	0,0505	0,27686	1,105	1995,56	2,00	Parallell 2	0,5023	0,951	946,65	0,95
Parallell 3	0,0503	0,27577	1,079	1956,36	1,96	Parallell 3	0,5047	1,063	1053,10	1,05
Gjennomsnitt	0,0504	0,27613	1,069	1935,06	1,93	Gjennomsnitt	0,5041	1,044	1035,74	1,04
Standardavvik					0,06	Standardavvik				0,07

Figur 3: Viser verdier for konsentrasjonen av det totale vitamin C (TAA) innholdet i parallellene med ekstrakt fra salturt. I tillegg viser figuren en oversikt over mengden salturt som ble veid inn for hver parallell. Figuren viser også våtvekten av frysetørket salturt for de aktuelle parallellene.

Vedlegg 7: Gjennomsnittsverdier av parallellene (side 1 av 1)

Gjennomsnittsverdier for parallellene, samt standardavvik for hver av de fire ekstraksjonsmetodene er vist i Tabell 1.

Tabell 1. Kvantifisert vitamin C (TAA) innhold per 100 g våtvekt for fire ulike ekstraksjonsmetoder i salat, grønnkål og salturt.

	Vitamin C (mg) per 100 g våtvekt (TAA)		
	Salat	Grønnkål	Salturt
Metode AF	2,23 ± 0,07 ^b	59,89 ± 0,21 ^a	28,78 ± 1,00 ^a
Metode AN	5,04 ± 0,32 ^a	49,15 ± 1,58 ^b	9,42 ± 0,15 ^b
Metode BF	0,12 ± 0,01 ^c	22,43 ± 1,23 ^c	1,93 ± 0,06 ^c
Metode BN	ID*	27,60 ± 1,13 ^c	1,04 ± 0,07 ^c

*ID: Ikke detektert

Opphøyde bokstaver (a,b,c) definerer signifikante forskjeller ($p < 0,05$), mellom ekstraksjonsmetodene med hensyn til kvantifisert vitamin C innhold fra TukeyHSD post Hoc test.

Vedlegg 8: Paralleller TAA, AA og DHAA for grønnkål (side 1 av 2)

I Figur 1 er det en oversikt over mengden grønnkål som ble veid inn for hver parallell ved utførelse av metode B med frysetørket grønnkål. I tillegg viser figur 1 en oversikt over verdier for konsentrasjonen av totalt vitamin C (TAA), askorbinsyre (AA) og dehydroaskorbinsyre (DHAA) i de ulike parallellene med ekstrakt fra frysetørket grønnkål.

GRØNNKÅL (TAA, AA og DHAA)							
Frysetørket grønnkål metode B							
Parallell	Frysetørket materiale (g)	Våtvekt (g)	Areal	Kons AA ug/mL ekstrakt	Kons AA mg/100g våtvekt	Kons TAA mg/100g våtvekt	Kons DHAA mg/100g våtvekt
Parallell 1	0,0509	0,5090	71,818	20,671	20,31	20,78	0,47
Parallell 2	0,0507	0,5070	70,495	20,290	20,01	21,74	1,73
Parallell 4	0,0504	0,5040	71,761	20,655	20,49	23,89	3,40
Parallell 5	0,0503	0,5030	63,451	18,263	18,15	23,29	5,14
Gjennomsnitt	0,050575	0,5058	64,811	18,654	19,74	22,43	2,68
Standardavvik					0,93	1,23	1,75

Figur 1: Viser verdier for konsentrasjonen av det totale vitamin C (TAA), askorbinsyre (AA) og dehydroaskorbinsyre (DHAA) innholdet i parallellene med ekstrakt fra frysetørket grønnkål. I tillegg viser figuren en oversikt over mengden frysetørket grønnkål, samt den tilsvarende våtvekten, som ble veid inn for hver parallell.

Vedlegg 8: Paralleller TAA, AA og DHAA for grønnkål (side 2 av 2)

I Figur 2 er det en oversikt over mengden grønnkål som ble veid inn for hver parallell ved utførelse av metode B med grønnkål behandlet med flytende nitrogen. I tillegg viser figur 3 en oversikt over verdier for konsentrasjonen av totalt vitamin C (TAA), askorbinsyre (AA) og dehydroaskorbinsyre (DHAA) i de ulike parallellene med ekstrakt fra grønnkål behandlet med flytende nitrogen.

Nitrogen grønnkål metode B							
Parallell	Nitrogen materiale (g)	Areal	Kons AA ug/mL ekstrakt	Kons AA mg/100g våtvekt	Kons TAA mg/100g våtvekt	Kons DHAA mg/100g våtvekt	
Parallell 1	0,4998	63,32	18,225	18,23	26,76	8,53	
Parallell 2	0,5042	74,254	21,372	21,19	26,31	5,12	
Parallell 3	0,5011	65,898	18,967	18,93	27,18	8,25	
Parallell 4	0,5049	59,784	17,207	17,04	28,26	11,22	
Parallell 5	0,5105	54,067	15,562	15,24	29,44	14,20	
Gjennomsnitt	0,5041			18,13	27,59	9,46	
Standardavvik				1,98	1,13	3,06	

Figur 2: Viser verdier for konsentrasjonen av det totale vitamin C (TAA), askorbinsyre (AA) og dehydroaskorbinsyre (DHAA) innholdet i parallellene med ekstrakt fra grønnkål behandlet med flytende nitrogen. I tillegg viser figuren en oversikt over mengden grønnkål som ble veid inn for hver parallell.