

Antioksidacijska aktivnost polifenola iz borovnice i jagode

Antioxidant activity of polyphenols from blueberry and strawberry

**Lidija Jakobek*, Marijan Šeruga, Ivana Novak,
Martina Medvidović-Kosanović, Ivana Lukačević**

SAŽETAK

Da bi se istražila antioksidacijska aktivnost polifenola borovnice i jagode, ekstrahirane su dvije frakcije polifenola iz ovog voća. Jedna je sadržavala flavonole i fenolne kiseline, a druga antocijanine. Antioksidacijska aktivnost polifenola određena je DPPH testom, a količina polifenola HPLC metodom. Pokazalo se da se u borovnici nalaze visoke količine derivata kafeinske kiseline i kvercetina te antocijanina dok je u jagodi sadržaj polifenola manji. U obje vrste voća je doprinos antocijanina antioksidacijskoj aktivnosti veći nego doprinos flavonola i fenolnih kiselina. Antioksidacijska aktivnost antocijanina borovnice 19 puta je jača u usporedbi s antioksidacijskom aktivnošću flavonola i fenolnih kiselina borovnice. Antocijanini jagode 14 puta su jači antioksidansi nego flavonoli i fenolne kiseline jagode. Rezultati ovog rada pružaju bolji uvid u antioksidacijsko djelovanje borovnice i jagode.

Ključne riječi: flavonoli, fenolne kiseline, antocijanini, antioksidacijska aktivnost, voće

ABSTRACT

In order to investigate antioxidant activity of polyphenols from blueberries and strawberries, two fractions of polyphenols were extracted from these fruits. Antioxidant activity of polyphenols was determined by DPPH test, and the polyphenols content by HPLC method. It was shown that blueberries contained high amount of caffeic acid derivatives, quercetin derivatives and anthocyanins, whereas the amount of polyphenols in strawberries was lower. In both berry species, the contribution of anthocyanins to antioxidant activity was higher than the contribution of flavonols and phenolic acids. Antioxidant activity of blueberry anthocyanins was 19 times higher than antioxidant activity of flavonols and phenolic acids in blueberries. Strawberry anthocyanins were 14 times stronger antioxidants than flavonols and phenolic acids from strawberry. The results of this study provide a better insight into antioxidant activity of blueberries and strawberries.

Key words: flavonols, phenolic acids, anthocyanins, antioxidant activity, fruits

1. UVOD

Voće je, po svom kemijskom sastavu, bogat izvor raznih esencijalnih mikronutrienata kao što su vitamini i minerali. No u zadnje se vrijeme ističe važnost voća kao bogatog izvora spojeva koji nisu esencijalni za ljudsko zdravlje, ali pokazuju biološko djelovanje u ljudskom organizmu. U takve spojeve spadaju polifenolni spojevi (Kaur i Kapoor, 2001) koji su zbog svoje kompleksne kemijske građe podijeljeni u brojne skupine od kojih su najvažnije flavonoidi i fenolne kiseline. Važna karakteristika polifenola je njihovo snažno antioksidacijsko djelovanje koje se iskazuje hvatanjem slobodnih radikala te vezanjem metalnih iona, prekursor pri stvaranju slobodnih radikala (Rice-Evans i sur. 1997). Antioksidativno djelovanje polifenola povezano je s različitim fiziološkim djelovanjima polifenola u ljudskom organizmu. Naime, polifenoli pokazuju antiupalno, antialergijsko te antikancerogeno djelovanje (Rotelli i sur. 2003; Mamani-Matsuda i sur. 2006; Gasiorowski i sur. 1997; Garcia-Closas i sur. 1999) i zbog takvog pozitivnog djelovanja su, u zadnjih nekoliko desetljeća, postali predmet brojnih istraživanja.

Količinom polifenola se, između različitih vrsta voća, posebno ističe tamno obojeno bobičasto i jagodasto voće iz porodica *Ericaceae* (borovnice), *Rosaceae* (kupina, malina, trešnja, višnja, jagoda) te *Caprifoliaceae* (bobice bazge) (Määttä-Riihinen i sur. 2004a; Määttä-Riihinen i sur. 2004b). Najvažnije skupine polifenola prisutne u ovom voću su flavonoli, flavan-3-oli, antocijanini te proantocijanidini. Redovita konzumacija tog voća i njihovih proizvoda povezana je sa znatnim smanjenjem rizika od nastanka različitih bolesti krvožilnog sustava i malignih bolesti (Bermúdez-Soto i sur. 2007; Olsson i sur. 2004; Seeram i sur. 2006; García-Alonso i sur. 2006), što se pripisuje visokom sadržaju polifenolnih spojeva u voću. Poznato je da polifenolni spojevi voća značajno pridonose ukupnom antioksidacijskom kapacitetu voća (Zheng i Wang, 2003). No do sada nije potpuno istraženo koliki je doprinos pojedinih skupina polifenolnih spojeva ili pojedinačnih polifenolnih spojeva u ukupnom antioksidacijskom kapacitetu voća (Zheng i Wang, 2003).

U ovom radu istraživani su doprinosi flavonola, fenolnih kiselina i antocijanina ukupnom antioksidacijskom kapacitetu borovnice i jagode. Ekstrahirane su dvije frakcije polifenola, prva je sadržavala flavonole i fenolne kiseline, a druga antocijanine. Antioksidacijska aktivnost ovih frakcija polifenola ispitana je DPPH testom. Ukupan sadržaj polifenola u pojedinoj frakciji određen je HPLC metodom.

2. MATERIJAL I METODE

Uzorci voća

Borovnice (*Vaccinium myrtillus*) i jagode (*Fragaria anannassa*) ubrane su na području Slavonije 2007. godine u stadiju konzumne zrelosti, zamrznute su na -20°C i čuvane do analize. Uzorci voća su za sve analize pripremani u paralelama.

Kemikalije

Standardi; galna kiselina, 4-hidroksibenzojeva kiselina (H5376), elaginska kiselina (E2250), kafeinska kiselina (C0625), ferulična kiselina (F3500), *p*-kumarinska kiselina (C9008), kvrcetin dihidrat (Q0125) i kemferol (K0133) nabavljeni su u firmi Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, SAD). Standardi su pripremani otapanjem u metanolu u koncentracijskom području 1-80 mg l⁻¹ (*p*-hidroksibenzojeva kiselina, kafeinska kiselina i kemferol); 1-125 mg l⁻¹ (galna kiselina), 1-250 mg l⁻¹ (elaginska kiselina, ferulična kiselina i kvrcetin); 2-240 mg l⁻¹ (*p*-kumarinska kiselina). Standard antocijanina cijanidin-3-*O*-glukozid klorid (kuromanin chloride 0915 S) kupljen je u tvrtki Extrasynthese (Genay, Francuska) i pripremljen je otapanjem u 0,1 % metanolnoj otopini HCl-a. Kalibracijska krivulja pripremljena je u koncentracijskom području od 1-100 mg l⁻¹. DPPH^{*} radikal (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal-D9132) kupljen je u tvrtki Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, SAD).

Ekstrakcija polifenolnih spojeva iz voća

Slobodne i konjugirane forme flavonola i fenolnih kiselina ekstrahirane su iz voća etil acetatom prema postupku opisanom u literaturi (Määttä-Riihinen i sur. 2004a; Määttä-Riihinen i sur. 2004b). Smrznuto voće je homogenizirano u sokovniku i odvagano je 3 g voća u epruvetu. Ekstrakcija je provedena miješanjem uzorka voća s etil acetatom (4 x 5 ml) primjenom vortexa. Združeni ekstrakti etil acetata sadržavali su slobodne i konjugirane fenolne kiseline i flavonole. Jedan dio ekstrakta etil acetata (10 ml) otparen je u rota vaporu do suhog ostatka na 35 °C i otopljen u 2 ml metanola (ekstrakt 1). U ovom ekstraktu određena je antioksidacijska aktivnost slobodnih i konjugiranih fenolnih kiselina i flavonola DPPH testom.

Ekstrakt 1 je, nakon određivanja antioksidacijske aktivnosti, podvrgnut hidrolizi da bi se iz glikozida polifenolnih spojeva oslobodili aglikoni. Ekstrakt 1 zakiseljen je do 0.6 M s konc. HCl i zagrijavan 5 min pomoću kipuće vodene

kupelji (70-80 °C). Ovaj ekstrakt poslužio je za određivanje količine flavonola i fenolnih kiselina u formi aglikona pomoću HPLC metode.

Ostatak voća zaostao nakon ekstrakcije etil acetatom zakiseljen je HCl-om (2M, 1 ml) i ekstrahiran s 5 ml metanola (4 do 8 puta). Združeni ekstrakti sadržavali su antocijanine u formi flavilijeveg kationa. Jedan dio metanolnog ekstrakta (10 ml) isparen je rota vaporem do suhog ostatka na 35 °C te otopljen u 2 ml metanola (ekstrakt 2). Ovaj ekstrakt poslužio je za određivanje antioksidacijske aktivnosti antocijanina DPPH testom. Sadržaj antocijanina određen je HPLC metodom.

Svi ekstrakti pripremani su u paralelama, a prije određivanja količine polifenola HPLC metodom, filtrirani su filterom veličine pora 0,45 µm (syringe filter).

Određivanje polifenola HPLC metodama

Polifenolni spojevi u hidroliziranom ekstraktu 1 te u ekstraktu 2 kvantificirani su HPLC metodama koje su validirane ranije u našem laboratoriju (Jakobek i sur. 2007a; Jakobek i sur. 2007b). Analize su provedene na HPLC analitičkom sustavu (Varian, SAD) koji se sastoji od ProStar 230 pumpe i ProStar 330 PDA detektora. Separacija polifenolnih spojeva izvedena je na OmniSpher C18 koloni (unutrašnjeg promjera 250 x 4.6 mm, promjer čestica 5 µm, Varian, SAD) koja je zaštićena pretkolonom (ChromSep 1 cm x 3 mm, Varian, SAD).

Flavonoli i fenolne kiseline u hidroliziranim ekstraktima 1 razdvojeni su upotrebljavajući 0.1 % fosfornu kiselinu kao otapalo A i 100 % metanol (HPLC čistoće) kao otapalo B. Elucijski uvjeti su bili: 0-30 min od 5% B do 80 % B; 30-33 min 80 % B; 33-35 min od 80 % B do 5 % B, s protokom 0.8 ml min⁻¹.

Za razdvajanje antocijanina iz ekstrakata 2 kao otapalo A upotrijebljena je 0.5 % fosforna kiselina, a kao otapalo B 100 % metanol (HPLC čistoće). Elucijski uvjeti su bili sljedeći: 0-38 min od 3 % B do 65 % B; od 38-45 min, 65 % B; s protokom 1 ml min⁻¹. Temperatura kolone bila je 20 °C, a injektirani su standardi i uzorci ekstrakta volumena 20 µl.

UV-Vis spektri snimani su u području valnih duljina od 190 do 600 nm. Detekcijska valna duljina bila je 280 nm za sve polifenole iz hidroliziranih ekstrakata 1. Antocijanini (ekstrakti 2) su očitavani na 520 nm. Svi standardi polifenola pokazali su linearan odziv u ispitivanom području koncentracija ($r^2=0.9932$ do 0.9999). Granice detekcije određene su prema omjeru signal-šum bazne linije od 3 i iznosile su: 60 µg l⁻¹ za *p*-hidroksibenzojevu kiselinu, 30 µg l⁻¹ za elaginsku kiselinu, 30 µg l⁻¹ za galnu kiselinu, 80 µg l⁻¹ za kafeinsku

kiselinu, $40 \mu\text{g l}^{-1}$ za *p*-kumarinsku kiselinu, $60 \mu\text{g l}^{-1}$ za feruličnu kiselinu, $20 \mu\text{g l}^{-1}$ za kvercetin, $70 \mu\text{g l}^{-1}$ za kemferol, $40 \mu\text{g l}^{-1}$ za cijanidin-3-glukozid.

Identifikacija flavonola i fenolnih kiselina u ekstraktima voća bazirana je na usporedbi retencijskih vremena i apsorpcijskih spektara (190-600 nm) s retencijskim vremenima i spektrima odgovarajućih standarda. Dodatna identifikacija provedena je spikiranjem ekstrakta voća sa standardima polifenolnih spojeva. Identificirani flavonoli i fenolne kiseline kvantificirani su prema kalibracijskim krivuljama odgovarajućih standarda te izraženi u mg kg^{-1} svježeg voća. Antocijanini su kvantificirani prema kalibracijskoj krivulji cijanidin-3-glukozida te izraženi kao količina ukupnih antocijanina u mg ekvivalenta cijanidin-3-glukozida / kg svježeg voća. Rezultati količina polifenola su izraženi kao srednje vrijednosti \pm standardna devijacija (SD).

Antioksidacijska aktivnost

Antioksidacijska aktivnost ekstrakata voća (ekstrakt 1 i 2) koji sadrže različite skupine polifenola mjerena je spektrofotometrijski na UV-Vis spektrofotometru ((UV 2005, Barcelona, Španjolska) pomoću DPPH metode (Brand-Williams i sur. 1995).

Kalibracijska krivulja DPPH otopine pripravljena je razrjeđujući 10 do 400 μl DPPH (1mmol dm^{-3}) s metanolom do volumena 3 ml te mjerenjem apsorpcije na 517 nm. Zatim su pripravljena dva ili tri razrjeđenja ekstrakta 1 i 2. Svaki je sadržavao alikvot ekstrakta, 200 μl metanolne otopine DPPH (1mmol dm^{-3}) te ostatak do 3 ml metanola. ApSORBANCija ovih otopina mjerena je nasuprot slijepe probe (pripravljena upotrebljavajući 200 μl metanola umjesto DPPH otopine) svake minute unutar 5 minuta, a nakon toga svakih 5 minuta do isteka vremenskog razdoblja od 20 min. Prema kalibracijskoj krivulji DPPH otopine $y = 26448x - 0.0076$

$$y = \text{Apsorbancija}$$

$$x = \text{g DPPH/ml}$$

izračunata je količina preostalog DPPH u svakom trenutku reakcije te zatim postotak preostalog DPPH. Stavljene su u odnos postotka preostalog DPPH nakon 20 minuta reakcije s g voća/g DPPH u reakcijskoj smjesi. Prema dobivenoj jednadžbi izračunata je EC_{50} vrijednost tj. g voća koji su potrebni da reduciraju g DPPH radikala za 50 %. Niža EC_{50} vrijednost predstavlja jaču antioksidacijsku aktivnost. Radi lakše interpretacije rezultata, izračunata je ARP vrijednost (antiradical power).

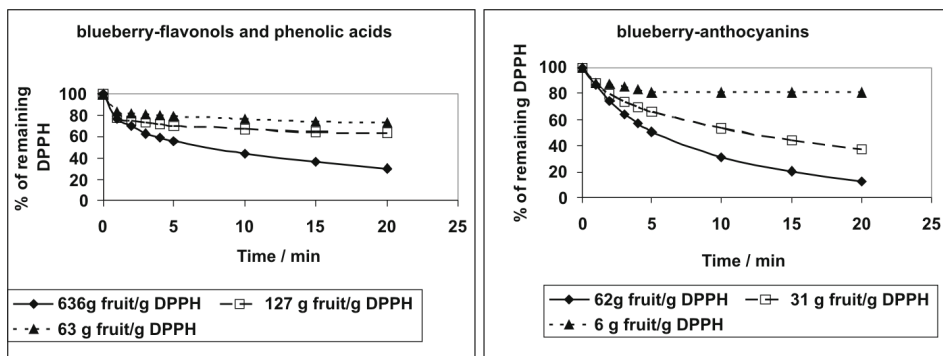
$$\text{ARP} = 1/\text{EC}_{50}$$

Niža ARP vrijednost predstavlja nižu antioksidacijsku aktivnost.

3. REZULTATI I RASPRAVA

Flavonoli i fenolne kiseline (ekstrakt 1) te antocijanini (ekstrakt 2) ekstrahirani su iz borovnice i jagode prema postupku ekstrakcije koji je već ranije opisan u literaturi (Määttä-Riihinen I sur. 2004a; Määttä-Riihinen i sur. 2004b). Taj postupak ne uključuje hidrolizu polifenolnih spojeva te se polifenolni spojevi u dobivenim ekstraktima nalaze u svojoj prirodnoj formi - antocijanini i flavonoli u formi glikozida, fenolne kiseline u formi glikozida ili estera. Zadržavanje fenola u njihovoj prirodnoj formi u kojoj se nalaze u voću bilo je važno zbog određivanja antioksidacijske aktivnosti. Naime, kemijska struktura polifenola ima veliki utjecaj na jačinu antioksidacijske aktivnosti polifenola te ju može povećati ili smanjiti. Glikozidi flavonola i fenolnih kiselina su slabiji antioksidansi od odgovarajućih aglikona (Soobrattee i sur. 2005). Da su prije određivanja antioksidacijske aktivnosti polifenolni spojevi hidrolizirani u svoje aglikone, bile bi izgubljene važne informacije o antioksidacijskoj aktivnosti prirodno prisutnih polifenola u voću.

Antioksidacijska aktivnost flavonola i fenolnih kiselina prisutni su u ekstraktu 1 te antocijanina u ekstraktu 2, određena je DPPH[•] testom. Ova metoda mjeri sposobnost fenola iz voća da djeluju kao hvatači slobodnih DPPH[•] radikala mjerenjem smanjenja apsorbancije na 517 nm nakon dodatka voćnog ekstrakta. Rezultati kinetike reakcije fenola iz borovnice s DPPH[•] radikalima prikazani su na slici 1. Iz prikaza se može vidjeti da su antocijanini iz borovnice jači antioksidansi u usporedbi s flavonolima i fenolnim kiselinama iz borovnice. Nakon 20 minuta reakcije flavonola i fenolnih kiselina iz 63-636 g voća s DPPH[•] radikalima, preostalo je oko 30-80 % DPPH[•] radikala u reakcijskoj otopini. Nakon 20 minuta reakcije antocijanina iz 10 puta manje količine voća (6-62 g voća) preostalo je u reakcijskoj otopini oko 10-80 % DPPH[•] radikala, što ukazuje na činjenicu da antocijanini imaju bolju sposobnost hvatanja DPPH[•] radikala te da je njihov doprinos ukupnoj antioksidacijskoj aktivnosti veći od doprinosa flavonola i fenolnih kiselina. Slično su se ponašali i polifenoli iz jagode (slika 2). Flavonoli i fenolne kiseline iz 525-1575 g voća reagirali su s DPPH[•] radikalima 20 minuta, nakon čega je preostalo oko 40-70 % DPPH[•] radikala u otopini. Suprotno tome, antocijanini iz puno manje količine jagoda (93-187 g) reagirali su u istom vremenskom razdoblju s DPPH[•] radikalima nakon čega je u otopini preostalo oko 20-50 % DPPH[•] radikala. Objavljeni podaci u literaturi pokazali su da postoji značajna linearna ovisnost između količine antocijanina u voću i antioksidacijske aktivnosti voća (Prior i sur. 1998; Howard i sur. 2003; Sellappan i sur. 2002; Jakobek i sur. 2007a; Jakobek i sur.



Slika 1. Kinetika inhibicije DPPH radikala polifenolima iz borovnice

Figure 1. Inhibition kinetics of DPPH radicals by polyphenols from blueberry

2007b; Zheng i Wang, 2003), što navodi na zaključak o značajnom utjecaju antocijanina na antioksidacijsku aktivnost voća. Takvi rezultati slažu se s rezultatima ovog rada.

Rezultati za antioksidacijsku aktivnost prikazani su, također, kao EC_{50} i ARP vrijednost na tablici 1. Niža EC_{50} vrijednost predstavlja veću sposobnost hvatanja slobodnih radikala. Kod ARP vrijednosti je obrnuto, veća ARP vrijednost predstavlja veću antioksidacijsku aktivnost. U obje vrste voća antocijanini su pokazali snažniju antioksidacijsku aktivnost od flavonola i fenolnih kiselina (Tablica 1). Tako su antocijanini borovnice ($EC_{50} = 18$ g voća/g DPPH) 19 puta snažniji antioksidansi nego flavonoli i fenolne kiseline borovnice ($EC_{50} = 357$ g voća/g DPPH), a antocijanini jagode ($EC_{50} = 65$ g voća/g DPPH) 14 puta su snažniji antioksidansi od flavonola i fenolnih kiselina

Tablica 1. Antioksidacijska aktivnost polifenola iz borovnice i jagode

Table 1. Antioxidant activity of polyphenols from blueberry and strawberry

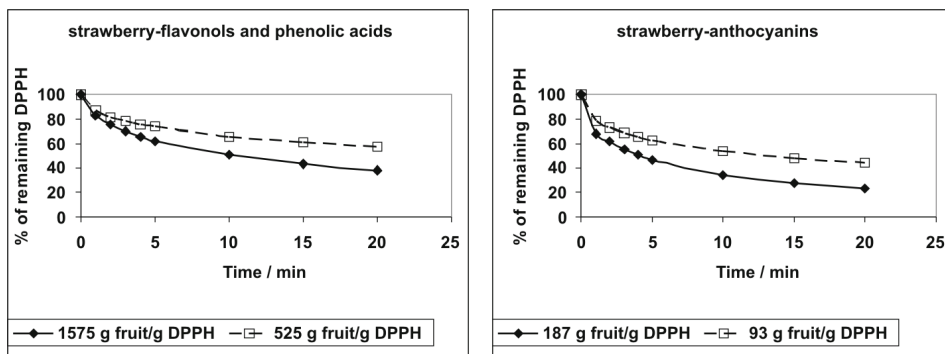
Voće	EC_{50}		ARP			
	Flavonoli i fenolne kiseline (g voća/gDPPH)	Antocijanini (g voća/DPPH)	Flavonoli i fenolne kiseline	Antocijanini	Flavonoli i fenolne kiseline (%)	Antocijanini (%)
Borovnica	357.54	18.73	0.0028	0.053	5.02	94.98
Jagoda	936.3	65.2	0.0011	0.015	6.83	93.17

EC_{50} = g voća koji su potrebni da reduciraju g DPPH radikala za 50 %.

ARP = anti radical power, izračunat kao $1/EC_{50}$

EC_{50} = g of fruit needed to reduce g of DPPH radicals by 50 %.

ARP = anti radical power, expressed as $1/EC_{50}$



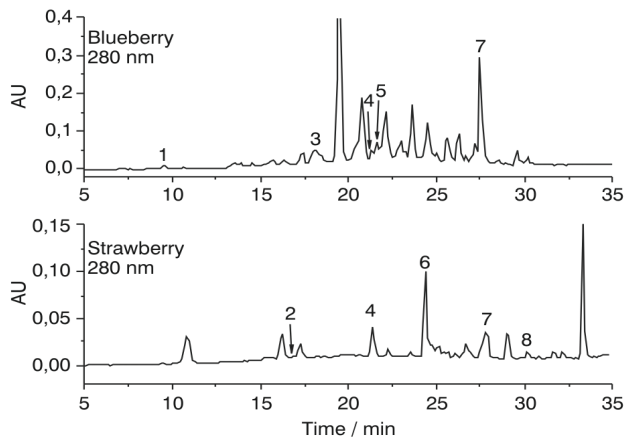
Slika 2. Kinetika inhibicije DPPH radikala polifenolima iz jagode

Figure 2. Inhibition kinetics of DPPH' radicals by polyphenols from strawberry

jagode ($EC_{50} = 936$ g voća/g DPPH). U ukupnoj antioksidacijskoj aktivnosti antocijanini sudjeluju s 95 % u borovnici, te s 93 % u jagodi (Tablica 1), što ukazuje na veliki doprinos antocijanina antioksidacijskoj aktivnosti borovnice i jagode.

Usporedbom ove dvije vrste voća može se vidjeti da fenoli borovnice imaju znatno veću antioksidacijsku aktivnost u usporedbi s fenolima jagode. Flavonoli i fenolne kiseline iz borovnice ($EC_{50} = 357$ g voća/ g DPPH; ARP = 0.0028) pokazali su gotovo 3 puta veću antioksidacijsku aktivnost od flavonola i fenolnih kiselina iz jagode ($EC_{50} = 936$ g voća/ g DPPH; ARP = 0.0011). Slično tome, antocijanini iz borovnice ($EC_{50} = 18$ g voća/ g DPPH; ARP = 0.053) pokazali su gotovo 3.5 puta veću antioksidacijsku aktivnost u usporedbi s antocijaninima izoliranim iz jagode ($EC_{50} = 65$ g voća/ g DPPH; ARP = 0.015). Podaci objavljeni ranije također prikazuju borovnicu kao vrstu voća u kojoj polifenoli imaju vrlo snažnu antioksidacijsku aktivnost, puno snažniju od polifenola jagode (Jakobek i sur. 2007a; Jakobek i sur. 2007b) što se slaže s rezultatima ovog rada.

Količina polifenolnih spojeva u ekstraktima određena je visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom (HPLC). Primjer kromatograma snimljenog na 280 nm s prikazom identificiranih fenolnih kiselina i flavonola, prikazan je na slici 3, a količina polifenola dana je na tablici 2. U borovnici se nalaze znatno veće količine polifenolnih spojeva u usporedbi s jagodom (Tablica 2) što je jedan od razloga veće antioksidacijske aktivnosti borovnice. U borovnici se nalaze veće količine derivata kafeinske kiseline (53 mg kg^{-1}) te iznimno visoke količine derivata kvercetina (423 mg kg^{-1}). Osim toga borovnice su iznimno bogate antocijaninima (8797 mg kg^{-1}). Jagoda se ističe relativno visokom količinom derivata elaginske kiseline (21 mg kg^{-1}). Količine polifenola



Slika 3. HPLC kromatogram sniman na 280 nm. Identifikacija pikova: 1-galna kiselina, 2-*p*-hidroksibenzojeva kiselina, 3-kafeinska kiselina, 4-*p*-kumarinska kiselina, 5-ferulična kiselina, 6-elaginska kiselina, 7-kvercetin, 8-kemferol

Figure 3. HPLC chromatogram detected at 280 nm. Peak identification: 1-gallic acid, 2-*p*-hydroxybenzoic acid, 3-caffeic acid, 4-*p*-coumaric acid, 5-ferulic acid, 6-ellagic acid, 7-querctin, 8-kaempferol

Tablica 2. Količina polifenolnih spojeva u borovnici i jagodi izražena u mg/kg svježeg voća

Table 2. Polyphenolic compounds content in blueberry and strawberry expressed in mg/kg of fresh fruit

	Borovnica	%	Jagoda	%
Flavonoli i fenolne kiseline				
Galna kiselina	tr			
<i>p</i> -hidroksibenzojeva kiselina			tr	
Elaginska kiselina			21.44±0.2	10.4
Kafeinska kiselina	52.77±0.5	0.6		
<i>p</i> -kumarinska kiselina	16.03±0.3	0.2	2.99±0.1	1.4
Ferulična kiselina	34.28±0.5	0.4		
Kvercetin	422.87±1.1	4.5	13.24±0.2	6.5
Kemferol	10.84±0.2	0.1	1.19±0.1	0.6
Antocijanini				
Ukupni antocijanini	8797.8±5.2	94.2	166.4±1.3	81.1

tr-tragovi

u skladu su s literaturnim podacima (Määttä-Riihinen i sur. 2004a; Määttä-Riihinen i sur. 2004b; Hernanz i sur. 2007; Voća i sur. 2008a; Voća i sur. 2008b). I u borovnici i u jagodi, antocijanini zauzimaju veći udio u ukupnoj količini polifenola (94% u borovnici, 81 % u jagodi) (Tablica 2), što je razlog velikog doprinosa antocijanina ukupnom antioksidacijskom kapacitetu borovnice i jagode.

4. ZAKLJUČAK

Upotreba borovnice i jagode u prehrani sve je značajnija, a uzgoj ovog voća sve veći. Dosadašnje spoznaje također ukazuju na pozitivno i zaštitno djelovanje borovnice i jagode na ljudsko zdravlje zbog velike količine prirodnih antioksidativnih komponenata među kojima su i polifenolni spojevi. U ovom radu pokazalo se da borovnica i jagoda sadrže značajne količine antioksidativnih polifenolnih spojeva, posebice antocijanina, ali da je količinom polifenola daleko bogatija borovnica. U obje vrste voća za veći dio antioksidacijskog djelovanja odgovorni su antocijanini. Snažna antioksidacijska aktivnost antocijanina voća rezultat je njihove visoke količine u voću. Rezultati ovog rada pružaju bolji uvid u mehanizam antioksidacijskog djelovanja polifenola iz borovnice i jagode.

5. LITERATURA

- BERMÚDEZ-SOTO, M.J., LARROSA, M., GARCIA-CANTALEJO, J.M., ESPIN, J.C., TOMÁS-BARBERAN, F.A., GARCIA-CONESA, M.T. 2007. Up-regulation of tumor suppressors carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 in human colon cancer Caco-2 cells following repetitive exposure to dietary levels of a polyphenol-rich chokeberry juice. *Journal of Nutritional Biochemistry* 18: 259-271.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30.
- GARCIA-ALONSO, J., ROS, G., VIDAL-GUEVARA, M.L., PERIAGO, M.J. 2006. Acute intake of phenolic-rich juice improves, antioxidant status in healthy subjects. *Nutrition Research* 26: 330-339.

- GARCIA-CLOSAS, R., GONZALEZ, C.A., AGUDO, A., RIBOLI, E. 1999. Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes and Control* 10: 71-75.
- GAŚIOROWSKI, K., SZYBA, K., BROKOS, B., KOLACZYŃSKA, B., JANKOWIAK-WŁODARCZYK, M., OSZMIĄŃSKI J. 1997. Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits. *Cancer Letters* 119: 37-46.
- HERNANZ, D., RECAMALES, A.F., MELÉNDEZ-MARTINEZ, A.J., GONZÁLEZ-MIRET, M.L., HEREDIA, F.J. 2007. Assessment of the differences in the phenolic composition of five strawberry cultivars (*Fragaria ananassa* Duch.) grown in two different soilless systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 1846-1852.
- HOWARD, L.R., CLARK, J.R., BROWNMILLER, C. 2003. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 1238-1247.
- JAKOBEK, L., ŠERUGA, M., NOVAK, I., MEDVIDOVIĆ-KOSANOVIĆ, M. 2007a. Flavonols, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruits. *Deutsche-Lebensmittel-Rundschau* 8: 359-378.
- JAKOBEK, L., ŠERUGA, M., NOVAK, I., MEDVIDOVIĆ-KOSANOVIĆ, M. 2007b. Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Deutsche-Lebensmittel-Rundschau* 2: 58-64.
- KAUR, C., KAPOOR, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology* 36: 703-725.
- MÄÄTTÄ-RIIHINEN, K.R., KAMAL-ELDIN, A., TÖRRÖNEN, A.R. 2004a. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6178-6187.
- MÄÄTTÄ-RIIHINEN, K.R., KAMAL-ELDIN, A., MATTILA, P.H., GONZÁLEZ-PARAMÁS, A.M., TÖRRÖNEN, A.R. 2004b. Distribution and content of phenolic compounds in eighteen scandinavian berry species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4477-4486.

- MAMANI-MATSUDA, M., KAUSS, T., AL-KHARRAT, A., RAMBERT, J., FAWAZ, F., THIOLAT, D., MOYNET, D., COVES, S., MALVY, D., MOSSALAYI, M.D. 2006. Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decrease macrophage inflammatory mediators. *Biochemical Pharmacology* 72: 1304-1310.
- OLSSON, M.E., GUSTAVSSON, KE., ANDERSSON, S., NILSSON, A., & DUAN, RD. 2004. Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7264-7271.
- PRIOR, R.L., CAO, G., MARTIN, A., SOFIC, E., MCEWEN, J., O'BRIEN, C., LISCHNER, N., EHLENFELDT, M., KALT, W., KREWER, G., MAINLAND, C.M. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and antocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2686-2693.
- RICE-EVANS, C., MILLER, N.J., PAGANGA, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science* 2: 152-159.
- ROTELLI, A.E., GUARDIA, T., JUÁREZ, A.O., DE LA ROCHA N.E., PELZER, L.E. 2003. Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacological Research* 48: 601-606.
- SEERAM, N.P., ADAMS, L.S., ZHANG, Y., LEE, R., SAND, D., SCHEULLER, H.S., HEBER, D. 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 9329-9339.
- SELLAPPAN, S., AKOH, C.C., KREWER, G 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2432-2438.
- SOBRATTEE, M.A., NEERGHEEN, V.S., LUXIMON-RAMMA, A., ARUOMA, O.I. BAHORUN, T. 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutation Research* 579: 200-213.
- VOĆA, S., DOBRIČEVIĆ, N., DRUŽIĆ, J., DURALIJA, B., SKENDROVIĆ BABOJELIĆ, M., DERMİŠEK, D., & ČMELIK, Z. 2008a. The change of fruit quality parameters in day-neutral strawberries cv. Diamante grown out of season. *Internationa Journal of Food Science and Nutrition*, in press.

VOĆA, S., DOBRIČEVIĆ, N., DRAGOVIĆ-UZELAC, V., DURALIJA, B., DRUŽIĆ, J., ČMELIK, Z., SKENDROVIĆ BABOJELIĆ, M. 2008b. Fruit Quality of New Early Ripening Strawberry Cultivars in Croatia. Food Technology and Biotechnology, in press.

ZHENG, W., WANG, S.Y. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 502-509.

Adrese autora – Author's addresses:

Corresponding author:

Dr. sc. Lidija Jakobek

Faculty of Food Technology

Department of Applied Chemistry and Ecology

Kuhačeva 18

HR-31000 Osijek, Croatia

E-mail: ljakobek@ptfos.hr

Tel:+385 31 224 300

Prof. dr. sc. Marijan Šeruga

Dipl. ing. Ivana Novak

Mr. sc. Martina Medvidović-Kosanović

Faculty of Food Technology

Department of Applied Chemistry and Ecology

Kuhačeva 18,

HR-31000 Osijek, Croatia

