Antioksidacijska aktivnost polifenolnih spojeva u sokovima

Forgić (ud. Kovač), Kristina

Undergraduate thesis / Završni rad

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:273539

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek







Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Kristina Kovač

Antioksidacijska aktivnost polifenolnih spojeva u sokovima

Završni rad

Menotor:

Izv. prof. dr. sc Spomenka Kovač

Neposredni voditelj: mr. sc. Valentina Bušić

Osijek, 2012. godina

Sažetak

Flavonoidi u posljednje vrijeme privlače puno pozornosti zbog svoje antioksidacijske i antiradikalske aktivnosti. Zbog toga su zanimljivi u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Zadatak ovog rada je opisati i objasniti polifenolne spojeve i njihovu antioksidacijsku aktivnost u sokovima. Djelotvornost polifenolnih spojeva, kao hvatača slobodnih radikala, uvjetovan je rasporedom slobodnih hidroksilnih skupina na flavonoidnoj jezgri. Određen je sadržaj polifenolnih spojeva i njihova antioksidacijska aktivnost u voću, njihovim džemovima i svježim i uskladištenim voćnim sokovima. Dokazano je i sinergističko djelovanje vitamina C i polifenola.

Abstract

Flavonoids recently attracted much attention due to their antioxidant and antiradical activity. Because they are interesting in the food and pharmaceutical industries. The task of this paper is to describe and explain polyphenolic compounds and their antioxidant activity in the juices. Effectiveness of polyphenolic compounds, free radical scavengers, is determined by the schedule of free hydroxyl groups on flavonoids core. The contents of polyphenolic compounds and their antioxidant activity in fruits, their jams and fresh fruit juices and stored. It's proved a synergistic action of vitamin C and polyphenolic compound

Ključne riječi: polifenoli, antioksidansi, antioksidacijska aktivnost, voćni sokovi, voćni džemovi.

Key words: polyphenols, antioxidants, antioxidant activity, fruit juices, fruit jams.

Sadržaj:

1. Uvod

2. Teorijska osnova

2.1. Podijela flavonoida

2.1.1. Flavonoli

2.1.2. Flavanoni

2.1.3. Antocijani

2.1.4. Flavan-3-oli

2.2. Strukturna svojstva

2.2.1. Antioksidansi

2.2.2. Čimbenici koji utječu na djelotvornost antioksidanasa

3. Rezultati

3.1. Polifenolni spojevi u voćnim sokovima

3.1.1. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

3.2. Sadržaj polifenola i vitamina C u svježim sokovima

3.2.1. Antoksidacijska aktivnost svježeg soka

3.3. Antioksidacijska aktivnost skladištenog soka

3.4. Maillardove reakcije

3.5. Polifenoli u voću i njihovim džemovima

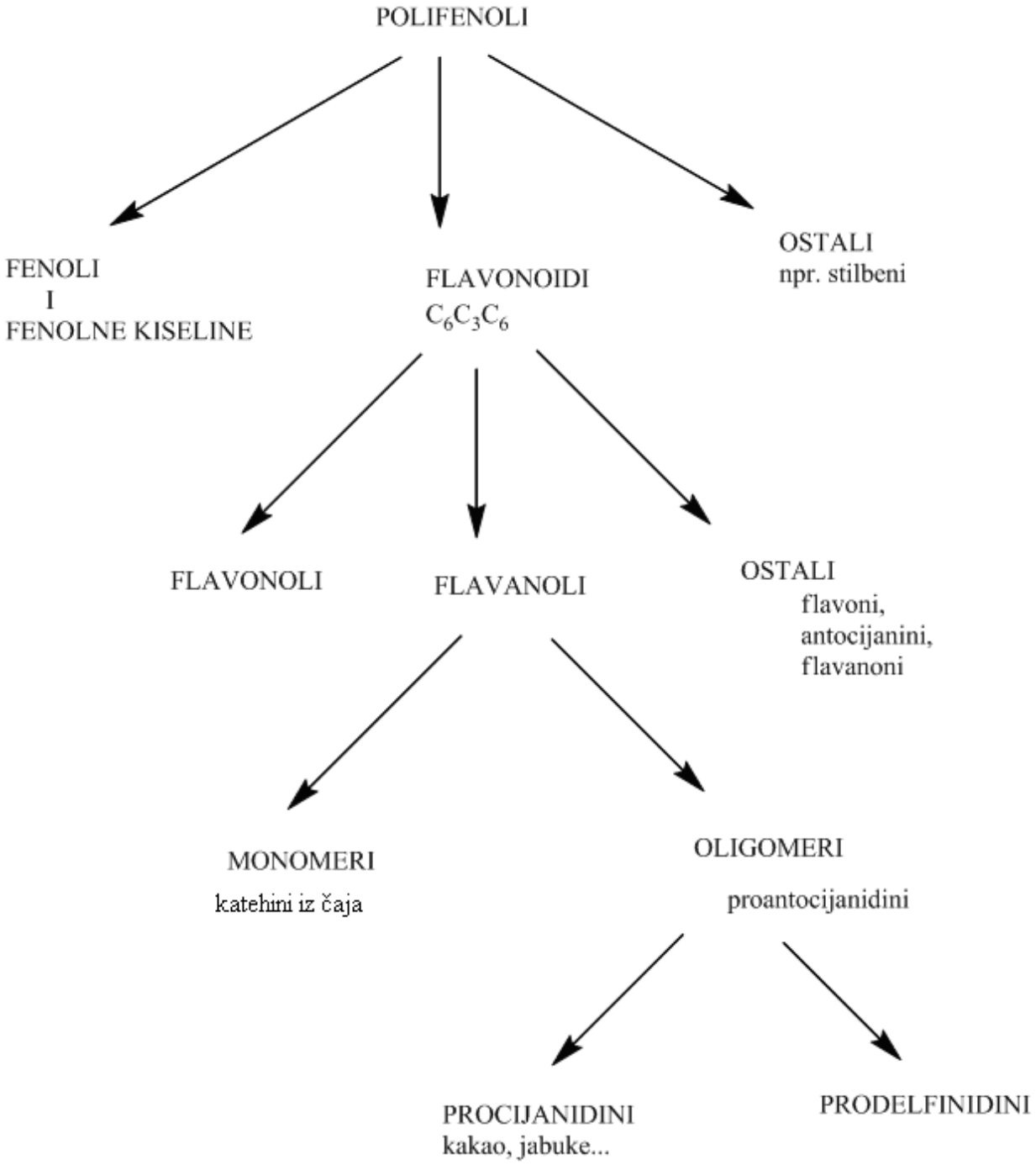
4. Zaključak

5. Literatura

1. Uvod

Fenolni spojevi u prirodi su prisutni u gotovo svim biljkama i namirnicama biljnog podrijetla. U širem smislu nazivaju se polifenolima, a uključuju spojeve različite kemijske strukture, od jednostavnih hidroksicimetnih kiselina, antocijanina (biljni pigmenti), do složenijih flavonoida i tanina. Na slici 1. prikazana je osnovna podijela polifenola. Flavonoidi su skupina polifenolnih spojeva koji se nalaze u mnogim biljkama, koncentrirani u sjemenkama, kori drveća, koži ili kori voća, cvijeću, lišću. Njima se pripisuju mnoga terapijska djelovanja, kao što su antibakterijsko, antiupalno, antikancerogeno, antiviralno, antialergijsko, a sami utječu i na boju i okus hrane. Zaštitna uloga flavonoida u biološkim sustavima pripisuje se njihovoj sposobnosti „hvatanja“ slobodnih radikala, kelatnog vezanja iona prijelaznih metala, aktiviranja antioksidacijskih enzima i inhibiranja oksidaza.

Zadatak ovog rada je proučiti polifenolne spojeve i njihovu antioksidacijsku aktivnost u voću i njihovim sokovima. U uvodu je prikazana osnovna podjela polifenola, dok su u teorijskom dijelu opisani flavonoidi, njihova struktura i zastupljenost u voću. Prikazani su i mehanizmi djelovanja antioksidanasa.



Slika 1. Osnovna podijela polifenola

Berend i Grabarić, 2008

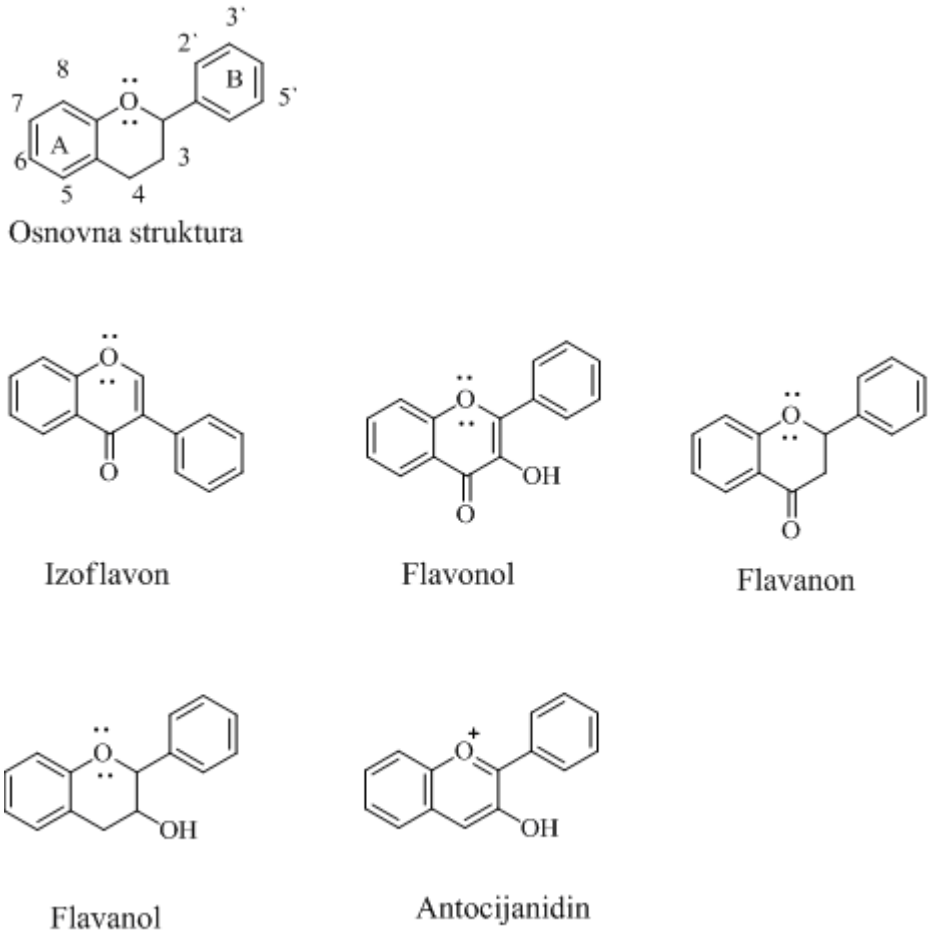
2. Teorijska osnova

2.1. Podjela flavonoida

Osnovni skelet flavonoida čini struktura građena od C_6-C_3-C_6, 1-fenil-3-(2-hidroksifenil)propan-1-ola. Postoji nekoliko skupina flavonoida ovisno o stupnju nezasićenost i oksidacije prstena B (slika 2). Poznat je velik broj flavonoida, koji do sada prelazi 5000. Gubitkom vode iz 1-fenil-3-(2-hidroksifenil)propan-1-ola i zatvaranjem prstena rezultira flavan od kojeg se izvodi određen broj osnovnih struktura: flavanoni, flavan-3-oli, flavoni, flavon-3-oli, antocijanidini i izoflavoni. Svi oni mogu biti hidroksilirani, metoksilirani ili glikozilirani s monosaharidima ili oligosaharidima, a mogu sadržavati i acilne skupine na različitim položajima osnovne flavoniodne strukture ili glikozidnog dijela.

Procjenjuje se da se oko 2% svih produkta fotosinteze biljaka prevede u flavonoide ili njima bliske spojeve. Broj polarnih u vodi topljivih flavonoida je znatan, ali ima i dosta lipofilnih spojeva kao što su flavoni.

Funkcija flavonoida u metabolizmu može biti povezana sa primarnim metabolizmom. Neki flavonoidi imaju izravan utjecaj na rast biljke, a neki štite ugrožene stanice od štetnog UV zračenja.



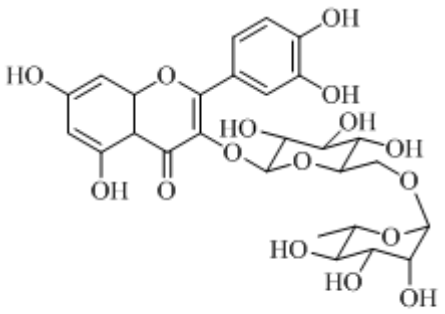
Slika 2. Strukture različitih vrsta flavonoida

2.1.1. Flavonoli

Flavonoli se uglavnom nalaze u višim biljkama, gdje se nalaze najčešće kao *O*-glikozidi[1] u listovima i vanjskim djelovima biljke. Identificirano je oko 200 aglikona flavonola u biljkama, iako su samo četiri od njih: kvercetin, kemferol, miricetin i izomiricetin zajednički voću. Glikozilacija je preferirana na hidroksilnoj skupini u položaju 3, a dominantan oblik u voću je 3-*O*-monoglikozid. Jedini diglikozid promatran u voću je 3-rutinozid kvercetina i

[1] Glikozidi su konjugirani spojevi sastavljeni od šećerne komponente-glikona i nešećerne komponente-aglikona

kemferola. Flavonoli koji su zastupljeni u voću familije *Rosaceae*, na primjer, jagodi, borovnici, malini, su kvercetin i kemferol i njihovi glikozidi. Glikozidi flavonola iz familije *Rosaceae* su međusobno slični, ali su različiti od glikozida flavonola koštuničavog voća, ne primjer breskve, kruške i šljive. Glavni glikozid kruške je rutin (slika 3.), a breskve 3-glukozid i 3-galaktozid kvercetina i kemferola (Robards and Antolovich, *1997*).



Slika 3. Struktura rutina

2.1.2. Flavanoni

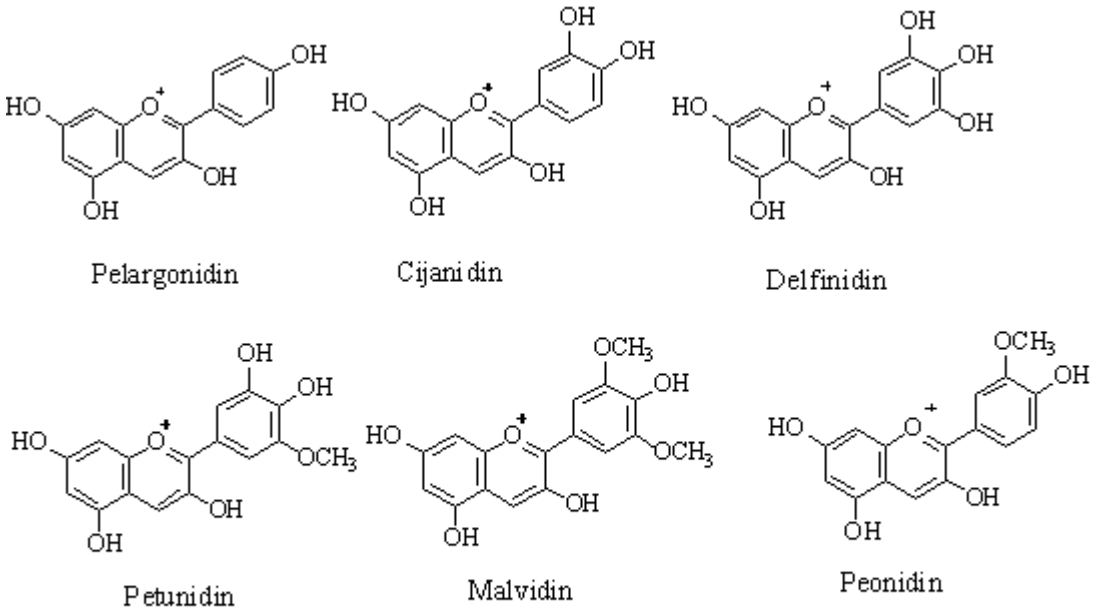
U carstvu bilja flavanoni zauzimaju male količine u usporedbi s ostalim flavonoidima, iako su flavanoni predominantni u limunu. Zajednička su im četiri aglikona: naringenin, eriodiktol, izosakuranetin, hesperetin. U limunu se flavanoni nalaze uglavnom u obliku glikozida, dok su u drugim biljkama flavanoni rijetko u takvom obliku.

2.1.3. Antocijanini

Antocijanini su biljni pigmenti koji daju crvenu, ljubičastu i plavu boju voća. Antocijanidinski pigmenti daju boju hrani poput džemova i sokova, međutim slabo se upotrebljavaju u industriji hrane zbog njihove osjetljivosti na promjenu pH i svjetlosti, te otežanog prečišćavanja. Na niskim pH vrijednostima prisutni su u obliku stabilnih, u vodenim otopinama crveno obojenih, flavilijevih kationa.

U voću se uglavnom nalaze u obliku glikozida koji nastaje vezivanjem flavonoidne komponente, antocijanidina i šećerne komponente, najčešće glukoze. Vezivanjem za šećernu komponentu povećava se stabilnost antocijanidina i njegova topljivost u vodi.

Osnovna podjela antocijanidina u šest skupina izvršena je na osnovu slobodnih i metiliranih OH skupina na prstenu B: cijanidin, delfinidin, malvidin, petunidin, peonidin i pelagronidin. Strukture antocijanidina nalaze se na slici 4.



Slika 4. Različite strukture antocijanidina

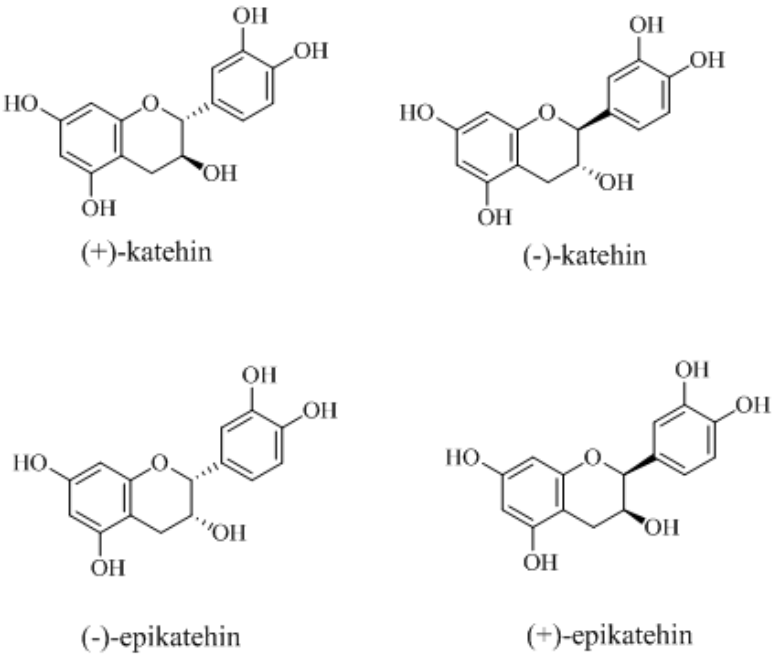
2.1.4. Flavan-3-oli

Flavan-3-oli su gradivne jedinice kondenziranih tanina. U zavisnosti od broja OH skupina u prstenu B i položaja supstituenata na C-2 i C-3 atomu razlikuju se tri serije flavan-3-ola (*Kovač i sur., 1991.)*. Tri serije su: a) afzelenska

b) katehinska

c) galokatehinska

Od navedenih serija, najznačajnija je katehinska jer je ona najrasprostranjenija u biljnom svijetu.



Slika 5. Strukture flavan-3-ola

2.2. Strukturna svojstva

Flavonoidi mogu djelovati na nekoliko načina. Flavonoid kao antioksidans mora zadovoljiti dva uvjeta:

1. Kada je prisutan u maloj koncentraciji u odnosu na tvar podložnu oksidaciji, mora bitno usporiti ili spriječiti reakciju oksidacije.

2. Nastali radikal mora biti rezonancijski stabiliziran kako ne bi poticao lančanu reakciju.

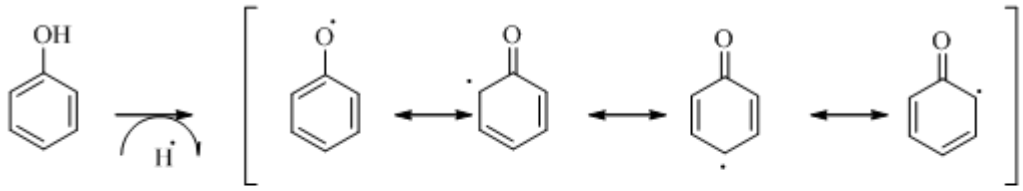
Radikali se stabiliziraju delokalizacijom elektrona, stvaranjem intramolekularnih vodikovih veza ili reakcijom dimerizacije s nekim lipidnim radikalom.

Važne strukturne značajke flavonoida u hvatanju slobodnih radikala su:

1. kateholna struktura u B prstenu koja daje stabilnost radikalu i omogućuje delokalizaciju elektrona,

2. dvostruka veza između C-2 i C-3 položaja u konjugaciji s keto skupinom na položaju četiri što omogućuje delokalizaciju elektrona u prstenu B,
3. hidroksilne skupine na položajima 3- i 5- koje osiguravaju vodikovu vezu s keto skupinom

Antioksidacijsko svojstvo flavonoida temelji se na njihovoj sposobnosti doniranja vodikovih atoma i uklanjanju slobodnih radikala uz formiranje manje reaktivnog fenoksilnog radikala. Povećana stabilnost fenoksilnog radikala pripisuje se delokalizaciji elektrona i postojanju više rezonantnih oblika (slika 6). Antioksidacijska aktivnost se danas najčešće mjeri TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) vrijednošću. TEAC vrijednost definirana je kao koncentracija otopine u mmol/dm^3, u vodi topljivog analoga vitamina E, troloxa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilne kiseline), ekvivalentne antioksidacijske aktivnosti kao i 1 mmol/dm^3 ispitivanog flavonoida.



Slika 6. Rezonancijska stabilizacija fenoksil radikala

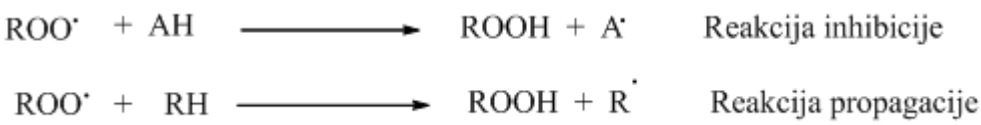
2.2.1. Antioksidansi

Najšire prihvaćena definicija antioksidansa je ona koju je dao Halliwell (1990): „tvari koje prisutne u malim koncentracijama u odnosu na supstrat koji se oksidira, značajno usporavaju ili sprječavaju oksidaciju tog supstrata“.

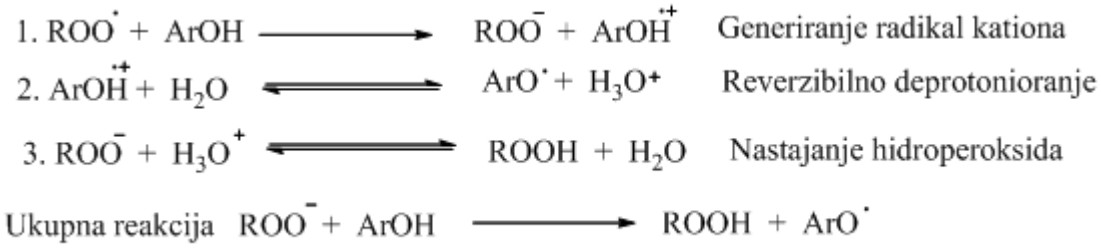
Oni mogu ispoljavati svoju aktivnost različitim mehanizmima, zahvaljujući njihovoj sposobnosti da djeluju kao „hvatači“ slobodnih radikala, odnosno kao donori elektrona ili H atoma hidroksilnim ili peroksilnim radikalima. *Shi i sur*. (2001) klasificirali su antioksidanse prema nivou i načinu djelovanja u ljudskom organizmu na: preventivne antioksidanse, „hvatače“ i „reparacione“ antioksidanse. Preventivni sprječavaju nastanak slobodnih radikala i iniciranje lančane reakcije peroksidacije. Antioksidansi „hvatači“ posjeduju sposobnost hvatanja slobodnih radikala i inhibiraju inicijaciju te prekidaju propagaciju lančanih reakcija lipidne oksidacije. „Reparacioni“ antioksidansi djeluju posebnim mehanizmima, obnavljajući oštećene biomolekule koje nastaju u uvjetima oksidativnog stresa.

2.2.2. Mehanizmi djelovanja antioksidansa:

1. prijenos vodikovih atoma (HAT)



2. prijenos elektrona (SET)



3. stvaranje kelata s metalnim ionima

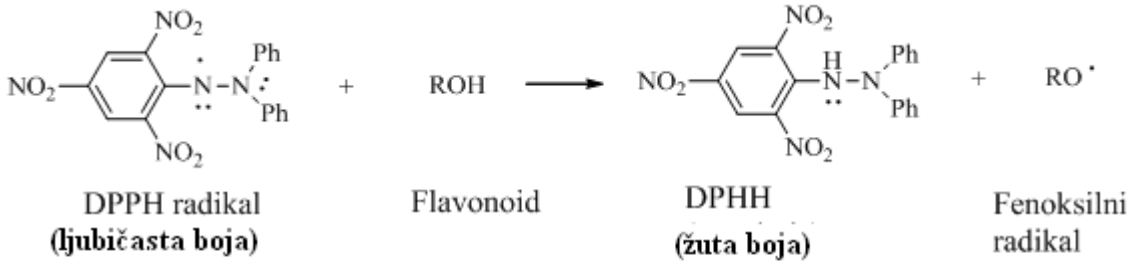
Folin Ciocalteu test- test se temelji na prijenosu elektrona, gdje oksidans (Folin-Ciocalteu (FC) reagens) veže elekron iz antoksidansa (polifenola) uzrokujući promjene FC reagensa čime stupanj promjene boje reagensa postaje proporcionalan koncentraciji anioksidansa.

Brand Wiliamsov test se temelji na redukciji DPPH¨radikala (slika 7.) u reakciji s antioksidansom (AH) ili alkilnim radikalom (R·) prema formuli:

DPPH• + AH→ DPPH-H + A•

DPPH• + R• → DPPH-R

DPPH• je tamno ljubičaste boje, apsorbira pri valnoj duljini od 515 nm, ali tijekom redukcije ljubičasta boja prelazi u žutu i apsorbancija se smanjuje. Promjena apsorbancije proporcionalna je antioksidacijskoj aktivnosti antioksidansa.



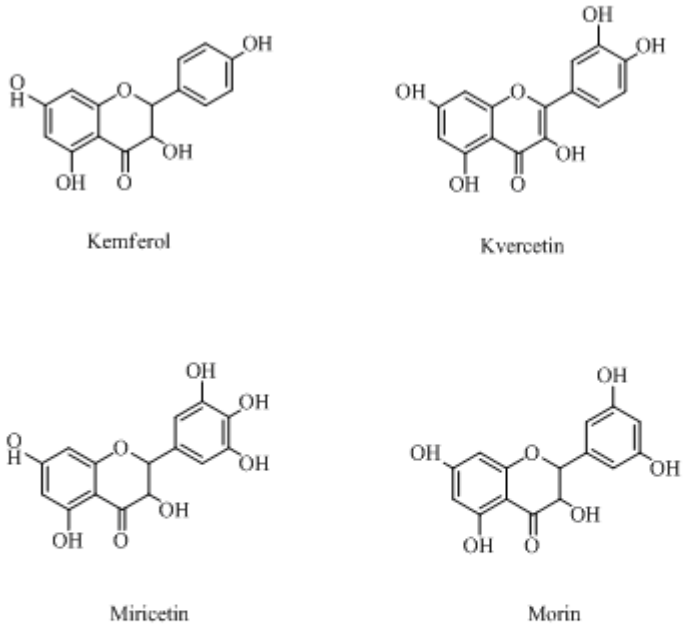
Slika 7. Redukcija DPPH radikala

Slobodni radikali su atomi, ioni, molekule koji imaju jedan ili više nesparenih elektrona u svojoj strukturi. Oni mogu biti neutralni, ali i pozitivno ili negativno nabijeni. Nespareni elektron se može nalaziti na bilo kojem atomu, pa se radikali dijele na slobodne radikale (reaktivne radikalske vrste) kisika, dušika, klora itd. Postoji podjela na radikalske i neradikalske (oksidacijska sredstva koja lako prelaze u radikale) vrste. Najvažniji reaktivni slobodni radikali kisika su: superoksid anion radikal, peroksilni radikal, karbonatni radikal, alkoksilni radikal, hidroksilni radikal.

2.2.3. Čimbenici koji utječu na djelotvornost antioksidanasa

Pretpostavlja se da na antioksidacijsku aktivnost polifenolnih spojeva znatno utječe raspored i broj prisutnih hidroksilnih skupina. Na antioksidacijsku aktivnost najviše utječu hidroksilne skupine prstena B. Doniranjem vodikovih atoma i elektrona hidroksilnim i peroksilnim radikalima, hidroksilne skupine ih stabiliziraju, a ujedno nastaje rezonancijski stabiliziran flavonoidni radikal. Na slici 8. je prikazana važnost susjedstva dviju hidroksilnih skupina na prstenu B za antioksidacijsku aktivnost. Kvercetin sa hidroksilnim skupinama u *ortho* položaju ima najvišu TEAC vrijednost, dok kemferol sa jednom hidroksilnom skupinom u B prstenu ima najmanju TEAC vrijednost, te on nije djelotvoran donor vodika. Kod

miricetina je prisutna treća hidroksilna skupina u prstenu B, međutim njeno prisustvo ne povećava antioksidacijsku aktivnost. Za stabilnost radikala važni su prisustvo nezasićenosti prstena C i mogućnost delokalizacije elektrona.



Slika 8. Utjecaj broja i položaja hidroksilnih skupina u prstenu B na antioksidacijsku aktivnost

3. Rezultati

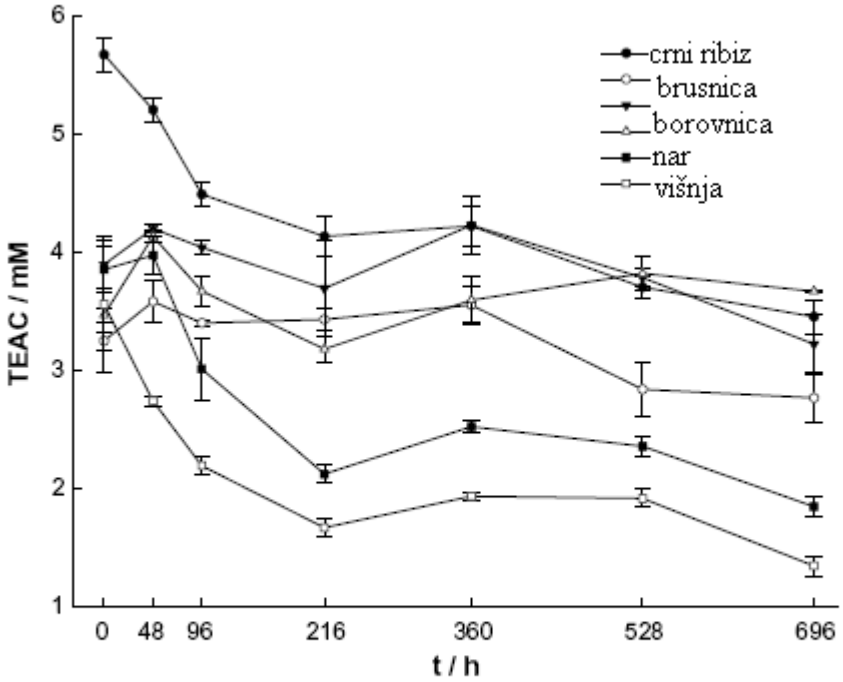
3.1. Polifenolni spojevi u voćnim sokovima

Piljac-Žegarac i sur., 2009 identificirali su sadržaj polifenolnih spojeva u šest vrsta voćnih sokova (crni ribiz- *Ribes nigrum,* brusnica - *Vaccinium vitis idaea,* borovnica - *Vaccinum myrtillus,* nar- *Punica granatum* i višnja- *Prunus cerasus*). Sadržaj voća u testiranim sokovima je bio oko 12-42 %.

Sposobnost hvatanja slobodnih radikala odredili su spektrofotometrijski pomoću DPPH slobodnog radikala, mjerenjem apsorbancije pri valnoj duljini od 515 nm tijekom 60 minuta. Rezultati su izraženi kao mmol/L ekvivalenta troloxa, analoga vitamina E.

Sposobnost hvatanja DPPH radikala u sokovima prikazana je na slici 9. Početni kapacitet hvatanja slobodnih radikala iznosio je od 3.25 mM Troloxa (za brusnuicu) do 6.58 mM Troloxa (za crni ribiz).

Nakon prvih 48 h u hladnjaku, 4/6 analiziranih sokova (brusnica, borovnica, nar i jagoda) pokazali su porast TEAC vrijednosti. Porast je bio značajan samo za sok od nara. Porast antikosidacijske aktivnosti objašnjava se na osnovu velike tendencije polifenola da se podvrgnu reakciji polimerizacije, gdje nastali oligomeri posjeduju veće površine sposobne za delokalizaciju naboja. Kada stupanj polimerizacije dostigne kritičnu vrijednost, porast složenosti molekula i steričke smetnje smanjuju dostupnost hidroksilnih skupina DPPH radikalima, što uzrokuje pad antiradikalne aktivnosti.



Slika 9. TEAC vrijednosti 6 vrsta sokova mjerene DPPH meodom

3.1.1. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

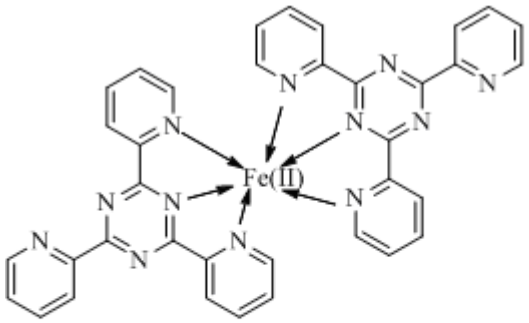
Apsorbancija uzorka mjeri se spektroforometrijski DPPH metodom pri valnoj duljini od 515 nm tijekom određenog perioda do ustaljelja koncentracije DPPH radikala. Antioksidacijska se aktivnost izražava kao postotak pada apsorbanicije nakon minute, što odgovara postotku vezanog DPPH radikala. Postotak vezanog DPPH radikala računa se prema formuli:

$\%DPPH_{sc} = (A_{kont.\,abs} - A_{\,uzorak}) \times 100/A_{kont}$,

gdje je A_{kont} kontrolna apsorbancija, a A_{uzorak} apsorbancija uzorka.

Ferric reducing antioxidant power, (FRAP) test je baziran na redukciji Fe^{3+} iona u 2,4,6-tripiridil-S-triazin (TPTZ) kompleksu u Fe^{2+} ione u TPTZ-kompleksu u prisutnosti antioksidansa. 50 μL uzorka doda se u 950 μL FRAP reagensa te nakon 4 minute mjeri se

apsorbancija pri valnoj duljini od 593 nm. Standardna krivulja pripremi se korištenjem različitih koncentracija $FeSO_4$. Rezultati se izražavaju u mM $FeSO_4$.



FRAP: $\{Fe(II)(TPTZ)_2\}^{2+}$

Željezov tripiridiltriazinijev kation

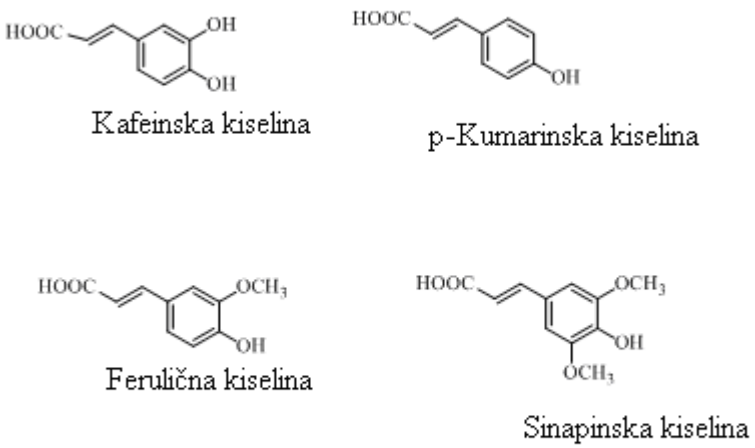
3.2. Sadržaj polifenola i vitamina C u svježim sokovima

Klimezak i sur., 2007 identificirali su HPLC metodom četiri hidroksicimetne kiseline u voćnim sokovima: kafeinsku, *p*-kumarinsku, feruličnu i sinapinsku kiselinu (slika 10). Količine kiselina bile su različite ovisno o metodi pripreme uzorka. Količine ukupnih fenolnih kiselina u svježem soku nakon SPE tehnike[2] i bez čišćenja uzorka kretale su se od 2,6 i 3,7 do 8,9 do 10,00 mg/L. U svim analiziranim sokovima najdominantnija je bila kafeinska kiselina. Njena koncentacija bila je znatno viša u uzorcima koji su analizirani direktnim ubrizgavanjem, pokrivala je oko 82-94 % ukupne količine fenolnih kiselina, dok su uzorci nakon SPE tehnike sačinjavali svega 45-50%.

Dobro je poznato da hidroksicimetne kiseline u limunovom soku postoje uglavnom u obliku estera i mogu biti oslobođene alkalnom hidrolizom. Glavni spoj frakcije ukupnih fenolnih kiselina bila je ferulična kiselina, a zatim *p*-kumarinska, sinapinska i kafeinska kiselina. Koncentracija ukupne kafeinske kiseline bila je četiri puta niža nego koncentracija slobodne kafeinske kiseline analizirane direktnim ubrizgavanjem.

[2] SPE tehnika-ekstrakcija na čvrstoj fazi. Kao čvrsta faza uglavnom se koristi silikagel

Glavni flavonoid u limunovom soku je glikozid flavonona. U analiziranom soku od naranče je koncentracija flavonona bila viša nego koncentracija hidroksicimetnih kiselina.



Slika 10. Hidroksicimetne kiseline

3.2.1. Antioksidacijska aktivnost svježeg soka

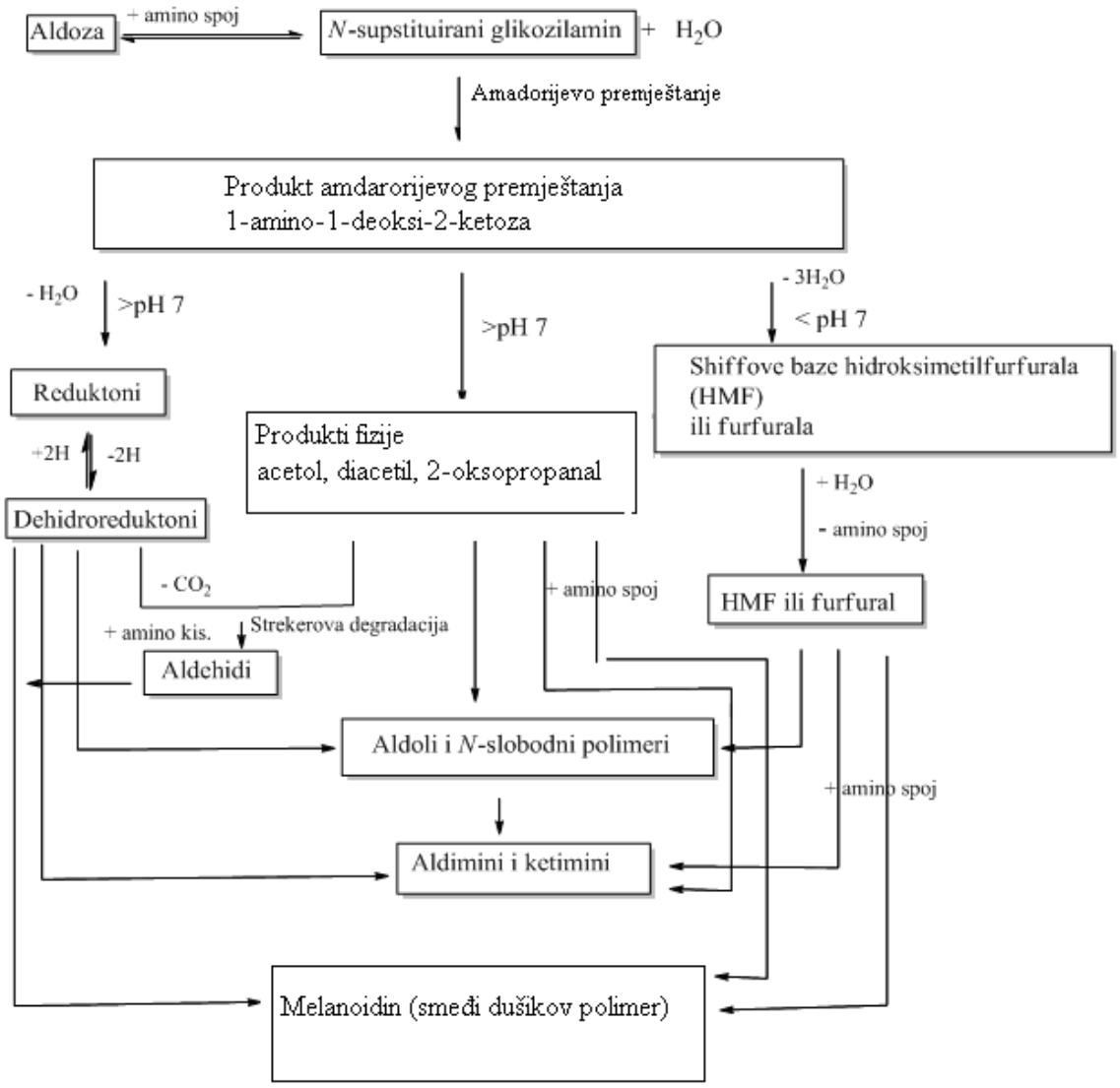
Klimezak sur., 2007 utvrdili su antioksidacijsku aktivnost soka naranče pomoću DPPH i FRAP metode. Obje su metode preporučene kao lake i točne za određivanje antioksidacijske aktivnosti u voćnim sokovima. Sposobnost hvatanja slobodnog DPPH radikala u prvom uzorku soka od naranče iznosila je 49.2±0.4% a u drugom uzorku soka od naranče iznosila 47.5±0.3% vezanog DPPH radikala. Antioksidacijska aktivnost mjerena je i FRAP testom te je dokazano je kako analizirani sok naranče ima sposobnost reducirati Fe^{3+} u Fe^{2+}. FRAP vrijednosti za analizirane sokove iznosile su 7.5±0.2 mM $FeSO_4$ za prvi uzorak i 7.1±0.1 mM $FeSO_4$ za drugi uzorak. Sok s jačom antoksidacijskom aktivnošću sadrži i više vitamina C i fenolnih spojeva.

3.3. Antioksidacijska aktivnost skladištenog soka

DPPH metoda pokazala je povećanje antioksidacijske aktivnosti u prva dva mjeseca skladištenja pri temperaturi od 18 i 28 ^{o}C. Za isto to vrijeme na 38 ^{o}C antioksidacijska se aktivnost smanjila za 13%. Kako smanjenje antioksidacijske aktivnosti može biti povezano s niskom koncentracijom fenolnih spojeva i vitamina C u usporedbi sa uskladištenim sokom, povećanje antioksidacijske aktivnosti se obično pripisuje produktima Millardove reakcije. Antioksidacijska aktivnost analiziranih sokova nakon 6 mjeseci skladištenja na 18, 28 i 38^{o} C se smanjila za 18%, 45% i 84%.

Vrijednosti FRAP testa su se također smanjile nakon pohrane, ali za sokove čuvane na 28 ^{o}C i 38 ^{o}C promjene su bile manje u usporedbi s DPPH testom. Na kraju pohrane pri temperaturama od 18, 28 i 38 ^{o}C FRAP vrijednosti smanjene su na 23%, 34% i 57 %.

Maillard je proučavao kondenzaciju aminokiselina i glicerola, a zatim je umjesto glicerola koristio šećer i uočio da aldehidna skupina aldoze ima jači utjecaj na aminokiselinu nego što je imala hidroksilna skupina glicerola, ta spoznaja dovela je do otkrića reakcija koje su dobile naziv Maillardove reakcije. Neenzimsko posmeđivanje preko Maillardove reakcije je najvažniji put promjene boje, od žute, crvene, smeđe do crne, kao i promjene arome, mirisa, okusa.



Shema Millardove reakcije prema Hodge-u

Martins i sur. (2001)

Hodge je reakcije neenzimskog posmeđivanja svrstao u tri vrste reakcija:

1. reakcije tipa karbonil-amin, tzv. Maillardove reakcije
2. reakcije karamelizacije šećera i polihidroksikarboksilnih kiselina
3. oksidativne reakcije (u ovaj tip reakcije ubraja se oksidativna degradacija askorbinske kiseline)

Kao rezultat bilo kojeg tipa reakcije posmeđivanja nastaju nezasićeni obojeni polimeri sa jednom ili više karbonilnih skupina.

Sve reakcije tipa karbonil-amin koje se mogu odvijati u proizvodnji voćnih sokova, mogu se podjeliti u tri stadija:

1. Inicijalni stadij- u njemu nastaju neobojeni spojevi i uključuje reakcije:
    a) kondenzacije šećera i amina
    b) amadorijevo premještanje
2. Intermedijarni stadij- u kojem nastaju bezbojni ili slabo obojeni žuti spojevi i uključuje reakcije:
    c) dehidratacije šećera
    d) cijepanje šećera
    e) degradacije aminokiselina
3. Terminalni stadij- nastaju jako obojeni spojevi i uključuje reakcije:
    f) aldolne kondenzacije
    g) polimerizacije između aldehida i amina

Inicijalni stadij reakcije tipa karbonil-amin je reakcija između reducirajućih šećera i amina uz tvorbu bezbojnih *N*-glikozilamina. Početni kondenzacijski produkt je Shiffova baza koja ciklizacijom daje *N*-supstituirani glikozilamin. Bezbojni *N*-glikozilamini u kiseloj sredini lako podliježu Amadorijevom premještanju, pri čemu nastaju 1-amino-1-deoksi-2-ketoze.

Nastali produkt se dalje transformira, pri čemu nastaju različiti intermedijari. Djelovanjem aminokiselina 1-amino-1-deoksi-2-ketoze lako se dehidratiraju pri čemu nastaje furfural ili

hidroksimetilfurfural (HMF). U slučaju viših pH vrijednosti reaktivni ciklički spojevi (HMF) polimeriziraju brzo do tamno obojenih, netopljivih spojeva koje sadrže dušik. U procesu neenzimskog posmeđivanja dolazi do Strekerove degradacije aminokiselina, gdje nastaje aldehid sa jednim ugljikovim atomom manje od izvorne aminokiseline, koji je nositelj neugodnog mirisa.

3.3. Polifenoli u voću i njihovim džemovima

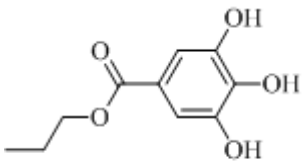
Levaj i sur., 2010 analizirali su polifenolne spojeve u voću i džemovima i klasificirali su ih kao flavonoide (flavan-3-oli i flavonoli) i ne flavonoide (derivati hidroksicimetne kiseline). Flavonoidi koji su pronađeni u voću, pronađeni su i u džemovima, ali u mnogo nižim koncentracijama.

Analizirani uzorci višnje nisu sadržavali hidroksibenzojevu kiselinu. Višnja Maraska imala je najveću koncentraciju ukupnih polifenola, koju su pratile brusnica Willamette, jagoda Maya, divlja kupina i višnja Oblačinska. Koncentracija ukupnih polifenola dva puta je veća nego u višnjama sorte Oblačinske.

Flavan-3-oli i (+)-galokatehin pronađeni su samo u višnjama sorte Maraska. Količina (+)-katehina i (-)-epikatehina u sorti višnje Maraske bila je puno viša u odnosu na količinu koju je sadržavala Oblačinska sorta. U ostalim uzorcima voća sadržaj (+)-katehina iznosio je od 9,6 mg/kg u brusnici do 22,2 mg/kg u divljoj kupini.

Flavonoli, derivati kvercetina i kemferola su bili prisutni u većoj koncentraciji u višnjama sorte Maraska nego u višnjama sorte Oblačinska. U voću su također pronađene neke hidroksicimetne kiseline, derivati klorogenske i kafeinske kiseline. Najveća količina ovih spojeva dobivena je iz sorte višanjae Maraske. Koncentracija derivata *p*-kumarinske kiseline bila je jednaka u obje sorte višanja. Glavna razlika u sadržaju polifenola istraživanog voća je odsustvo hidroksibenzojeve kiseline u sortama višanja, Maraske i Oblačinske. Derivati elaginske, galne i *p*-hidroksibenzojeve kisline pronađeni su u brusnici, jagodi i borovnici. Sadržaj galne i -hidroksibenzojeve kiseline bio je niži od sadržaja elaginske kiseline. Koncentracija derivata *p*-hidroksibenzojeve kiseline u jagodi i brusnici iznosila je 26,2 i 19,1 mg/kg, dok je koncentracija derivata galne kiseline bila je niža. Derivati galne kiseline su njeni esteri, umjetni antioksidansi. Esteri galne kiseline najčešće se rabe za stabilizaciju biljnih i

životinjskih masti jer sprječavaju njihovu oksidaciju. Galati se koriste i u kozmetici, u proizvodnji lubrikanata i adhezivnih proizvoda. Poznato je da su derivati galne kiseline, galati, od E310-E312 mogući uzročnici alergija. Jedan od estera galne kiseline, propil galat (E310) je prirodni biljni fenolni spoj.



Struktura propil galata

4. Zaključak

U radu su opisani polifenolni spojevi i mehanizmi djelovanja antioksidansa. S obzirom na reakcijski put kojim antioksidansi deaktiviraju slobodne radikale, metode se dijele na HAT i SET metode. Osnovni parametri o kojima ovisi reakcijski put su pH sredine, energija disocijacije veze, ionski potencijali hidroksilnih skupina u molekuli. *Piljac Žegarac* i sur. (2009) određivali su sadržaj polifenolnih spojeva u voćnim sokovima DPPH i FRAP metodama. Koncentraciju hidroksicimetnih kiselina u svježim sokovima odredili su HPLC metodom *Klimezak i sur* (2007), analizirali su i antioksidacijsku aktivnost soka od naranče i utvrdili da on ima sposobnost reducirati Fe^{3+} u Fe^{2+}. Antioksidacijska aktivnost sokova se smanjuje nakon skladištenja. *Levaj i sur.* (2010) dokazali su prisustvo flavonoida i u džemovima, ali u nižim koncentracijama nego u voću.

5. Literatura:

1. I. Klimczak, M. Malecka, M. Szlachta, A. Gliszezynska-Swiglo, Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, (2007), 313-322.
2. J. Piljac-Žegarac, L. Valek, S. Martinez, A. Belščak, Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage, *Food Chemistry*, 113, (2009), 394-400.
3. S.P. Kazasić, Antioksidacijska i Antiradikalska aktivnost flavonoida, *Arh Hig Rada Toksikol*, 2004, 279-290.
4. S.I.F.S. Martins, W.M.F. Jongen, M.A.J.S. van Boekel, A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modeling, *Trends in Food Science and Technology*, 11, (2001), 364-373.
5. S. Berend, Z. Grabarić, Flow injection method in determining food polyphenol, *Arh Hig Rada Toksikol*, (2008), 205-212.
6. B. Levaj, V. Dragović-Uzelac, K. Delonga, K. Kovačević Ganić, M. Banović, D. Bursać Kovačević, Polyphenols and Volatiles in Fruits of Two Sour Cherry Cultivars, Some Berry Fruits and Their Jams, *Food technology biotechnology*, 48, (2010), 538-547.
7. K. Robards, M. Antolovich, Analytical Chemistry of Fruit Bioflavonoids A Rewiev, *Analyst*, 1997.