



UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Božana STOJIC

POMEN FENOLNIH SNOVI PRI SLIVAH

DIPLOMSKI PROJEKT

Univerzitetni študij – 1. stopnja

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Božana STOJIC

POMEN FENOLNIH SNOVI PRI SLIVAH

DIPLOMSKI PROJEKT
Univerzitetni študij – 1. stopnja

THE IMPORTANCE OF PHENOLIC COMPOUNDS IN PLUMS

B. SC. THESIS
Academic Study Programmes

Ljubljana, 2011

Diplomski projekt je zaključek Univerzitetnega študija agronomije – 1. stopnje. Projekt je bil opravljen na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo, Oddelek za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega projekta imenovala prof. dr. Francija ŠTAMPARJA.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Borut BOHANEK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Člani: prof. dr. Franci ŠTAMPAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Dominik VODNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora: 23.9.2011

Diplomski projekt je rezultat lastnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega diplomskega projekta v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je projekt, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identičen tiskani verziji.

Božana STOJIC

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du1
- DK UDK 634.22:547.56(043.2)
- KG sadjarstvo/sliva/fenoli
- AV STOJIC, Božana
- SA ŠTAMPAR, Franci (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2011
- IN POMEN FENOLNIH SNOVI PRI SLIVAH
- TD Diplomski projekt (Univerzitetni študij – 1. stopnja)
- OP V, 19, [1] str., 3 pregl., 2 sl., 35 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Sliva je sadna vrsta, ki vsebuje veliko fenolnih snovi, ki spadajo v skupino sekundarnih metabolitov. V plodovih sliv je prisotno največ neoklorogenske in klorogenske kisline, ki spadata v skupino hidroksicimetnih kislin. Njihov skupni delež lahko predstavlja kar 70 % skupnih fenolov. Ti dve kislini služita rastlini kot obramba na glivične in bakterijske okužbe. Plodovi sliv vsebujejo veliko antocianov, med katerimi je najpomembnejši cianidin 3-rutinozid in predstavlja 16,4 % skupnih fenolov. Funkcija antocianov v plodovih je privabljanje živali, ki jih pojedjo in hkrati raznašajo semena. Cvetovi sliv vsebujejo flavonole in flavone, ki jim dajejo belo barvo in delujejo kot atraktanti ter predstavljajo zaščito pred UV-B sevanjem. Slive vsebujejo poleg naštetih fenolnih snovi še proantocianidine in fenolne kisline, ki so v večjih količinah prisotni v nezrelem plodu, ter izoflavone. Slive iz vrst *Prunus salicina* vsebujejo več fenolnih snovi kot *Prunus domestica*. Določene raziskave nakazujejo, da imajo ekološko pridelane slive večjo vsebnost fenolnih snovi, kot slive pridelane na konvencionalni način. To lahko razložimo tudi z dejstvom, da fitofarmacevtska sredstva negativno vplivajo na sintezo sekundarnih metabolitov. Fenolne snovi so koristne tudi za človeka, saj preprečujejo nastanek številnih bolezni, kot so rak, kardiovaskularne bolezni, arterioskleroza in osteoporoza.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Du1
- DC UDC 634.22:547.56(043.2)
- CX fruit growing/plum/phenolics
- AU STOJIĆ, Božana
- AA ŠTAMPAR, Franci (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2011
- TI THE IMPORTANCE OF PHENOLIC COMPOUNDS IN PLUMS
- DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes)
- NO V, 19, [1] p., 3 tab., 2 sl., 35 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Plum is a fruit species rich in phenolic compounds, which belong to the group of secondary metabolites. Plum contains high amounts of neo-chlorogenic and chlorogenic acids, which belong to the group of hydroxycinnamic acids. They represent (sum of chlorogenic and neo-chlorogenic acids) 71 % of total phenolics. They have protective role against fungi and bacteria. Fruits contain high amounts of antocyanins, the most important is cyanidin 3-rutinosid. It represents 16.4 % of total phenols. Their function is to attract pollinators and seed disperses. Flower petals contain flavonols and flavones. They give white color to petals and attract pollinators as well as protection against UV-B radiation. Plums contain other phenols like proanthocyanidins and phenolic acids, which are present in higher amount in unripe fruit, and isoflavones. Plums from *Prunus salicina* contain more phenolics than plum from *Prunus domestica*. Organic plums contain more phenolic compound than conventionally grown ones. Pesticides have negative effect on biosynthesis of secondary metabolites. Phenols have beneficial effects on human health because it prevents diseases like cancer, cardiovascular, arteriosclerosis and osteoporosis.

KAZALO VSEBINE

| | |
|--|---------|
| Ključna dokumentacijska informacija (KDI) | str. II |
| Key words documentation (KWD) | III |
| Kazalo vsebine | IV |
| Kazalo preglednic in slik | V |
| 1 UVOD | 1 |
| 1.1 VZROK ZA RAZISKAVO | 1 |
| 2 PREGLED OBJAV | 2 |
| 2.1 SLIVA (<i>Prunus domestica</i> L.) | 2 |
| 2.2 SEKUNDARNI METABOLITI | 4 |
| 2.2.1 Flavonoidi | 5 |
| 2.2.2 Neflavonoidi | 7 |
| 2.2.3 Biosinteza fenolov | 7 |
| 2.3 FENOLOI PRI SLIVAH | 8 |
| 2.3.1 Spremembe kakovost sliv med zorenjem | 8 |
| 2.3.2 Vsebnost fenolov in njihova funkcija v slivi | 8 |
| 2.3.3 Primerjava ekološko pridelanih sliv s konvencionalno pridelanimi | 12 |
| 3 POMEN FENOLOV IN SLIV ZA ČLOVEKA | 13 |
| 4 SKLEPI | 16 |
| 5 VIRI | 17 |
| ZAHVALA | |

KAZALO PREGLEDNIC

| | |
|--|------------|
| Preglednica 1: Prisotnost fenolnih snovi v različnih organih pri slivi | str. 11 |
| Preglednica 2: Vsebnost skupnih fenolov, fenolnih kislin in flavonolov pri konvencionalno in ekološko pridelanih slivah (Lombardi-Boccia in sod., 2004) | 12 |
| Preglednica 3: Skupna vsebnost fenolov, fenolnih kislin in flavonolov pri ekološko pridelanih slivah na različnih sistemih (Lombardi-Boccia in sod., 2004) | 13 |

KAZALO SLIK

| | |
|--|-----------|
| Slika 1: Plod slive sorte 'Čačanska lepotica' (Pavlović, 2010) | str. 3 |
| Slika 2: Osnovna struktura flavonoidov (Williamson, 2003) | 5 |

1 UVOD

1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

Rastline in njihovi proizvodi so bili od nekdaj pomembni za človeka, ne samo kot vir hrane temveč tudi za zdravljenje različnih bolezni. Izvlečki rastlin se v terapevtske namene uporabljajo že skoraj od začetka človeštva. Od odkritja antibiotikov smo ljudje postavili na stran zdravilno moč rastlin in zdravi način prehranjevanja ter namesto tega uživali po potrebi zdravila v obliki tabletk, praškov itd. Danes si ljudje ne vzamemo več časa za pripravo domače, kakovostne hrane, tudi ne uživamo dovolj sadja in zelenjave, kar je verjetno tudi posledica prehitrega načina življenja.

Slive in njihovi proizvodi oz. pripravki se od nekdaj uporabljajo v tradicionalni medicini. Znanе so po tem, da preprečujejo raka na črevesju, ki je posebej na zahodu zelo pogosta bolezen. Suhe slive vsebujejo veliko bora in bakra, ki sta poleg kalcija, pomembna pri vzdrževanju strukture kosti in preprečevanju osteoporoze. Za razliko od vitaminov ima redno uživanje hrane bogate s fenolnimi snovmi na človekovo zdravje dolgoročen in pozitiven učinek, saj preprečuje številne bolezni današnjega časa kot sta rak in kronične bolezni. Njihovi ekstrakti se uporabljajo v obliki prehranskih dodatkov, antibiotikov, insekticidov, kot dodatek k multivitaminom in kot konzervansi.

Sliva je sadna vrsta, ki ni okoljsko zahtevna. Znano je, da imajo rastline za razliko od živali sposobnost sintetiziranja sekundarnih metabolitov in so v veliki meri odvisne od tega. Sekundarni metaboliti se razlikujejo med rastlinami in znotraj družin. Plodovi sliv so znani po veliki vsebnosti sekundarnih metabolitov tj. fenolnih spojin. Fenolne snovi ščitijo rastlino pred napadalci in okoljskimi razmerami kot je UV-B sevanje, ki je za rastlino škodljiv, poleg tega pa služijo kot atraktanti. Plodovom dajejo barvo, okus in vonj in s tem privabljajo živali, ki jih pojedjo in s tem tudi raznesejo semena. Vsebnost fenolnih snovi v slivi se razlikuje med različnimi organi rastline, v kožici sadja jih je v povprečju največ. Plodovi sliv so sladkega okusa, različnih oblik (podolgovati do okrogli) in odtenkov modro vijolično rdeče barve. Sliva vsebuje zelo veliko hidroksicimetnih kislin, od tega največ neoklorogenske in klorogenske kisline, prav tako pa vsebuje veliko količino antocianov, posebej v kožici, ki dajo plodovom barvo. Beli cvetovi sliv vsebujejo flavonole in flavone in s tem privabljajo žuželke.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SLIVA (*Prunus domestica* L.)

Že v prazgodovini je človek nabiral plodove sliv za prehrano. O tem pričajo številne izkopenine, ki so jih našli v Švici in drugih deželah. Na svojih bojnih pohodih so Rimljani prenesli žlahtne sorte sliv iz Sirije v Italijo in rimski pisatelj Plinij je v delu *Naturalis Historis* opisal 11 sort tega sadnega plemena (Sancin, 1988).

Slivo uvrščamo v red Rosales, družino Rosaceae, poddružino Amygdaloideae, rod *Prunus* (sliva).

Sliva je zelo raznolika sadna vrsta, ki se je razvijala v različnih okoljskih razmerah. Uspeva predvsem na območjih severne geografske širine. V filogenezi žlahtnih sort slive je sodelovalo štirinajst vrst, ki glede na izvor spadajo med evropske, orientalske in ameriške vrste sliv. Današnja razvrstitev deli žlahtne sorte sliv na skupino evropskih in skupino kitajsko-japonskih. V skupino evropskih sliv spadajo sorte, ki izvirajo iz vrst domača sliva (*Prunus domestica* L.) in cibora (*Prunus insititia* L.) ter so heksaploidi. Plodovi imajo mehko meso odličnega okusa. Pri večini sort, ki izhajajo iz vrst domača sliva meso odstopi od koščice (cepke). Plodove sliv, katerih meso ne odstopi od koščice, imenujemo kostenice in le-te izhajajo iz cibore. V strokovnih virih je omenjenih okoli 2000 evropskih sliv, število pridelovalno zanimivih pa je zelo omejeno. Skupina kitajsko-japonskih sliv zajema sorte, ki so nastale s križanjem diploidnih orientalskih (*Prunus salicina* Lindl., *Prunus simonii* Carr.) in ameriških vrst (*Prunus americana* Marsh., *Prunus hortulana* Bailey.). Izhaja iz Kitajske, od koder se je razširila na Japonsko. Plodovi so debeli, srčasti, rumeni ali rdeči. Sorte te skupine sliv največ pridelujejo v Avstraliji, Južni Ameriki in ZDA (Štampar in sod., 2009; Sancin, 1988).

Sorte evropske slive lahko uspešno pridelujemo na nadmorskih višinah do 900 m, saj niso zahtevne glede okoljskih razmer. Priporočljivo je, da jih sadimo v dovolj globoka tla s slabo kislo do nevtralnno reakcijo tal (pH 6 do 7). Večina sort zelo dobro prenaša nizke zimske temperature, nevarnejše so le spomladanske pozebe, ki pa se jim izognemo z izbiro primerne sadjarske lege (V in JV). Ustrezajo jim območja s srednjo letno vsoto padavin od 700 do 1400 milimetrov in primerno vlažnostjo zraka (Štampar in sod., 2009).

Sorte sliv so glede opraševalnih odnosov zelo raznolike. Nekatere sorte so samooplodne (avtofertilne) in se oplodijo z lastnim cvetnim prahom, druge so samoneoplodne (avtosterilne) in potrebujejo navzkrižno medsortno opraševanje. V bližino le-teh je potrebno posaditi sorte, ki cvetijo hkrati z glavno sorto in jo dobro oprašujejo. Poleg teh obstajajo tudi delno samooplodne sorte, ki se delno oplodijo z lastnim cvetnim prahom, zraven pa potrebujejo cvetni prah primernih opraševalnih sort. Sliva je žužkocvetna (entomofilna) rastlina, zato je prisotnost čebel med cvetenjem zelo pomembna (Štampar in sod., 2009).

Sliva razvije srednje globok koreninski sistem, ki v nekaterih razmerah doseže 70 cm in več globine. Približno 70 % vse koreninske mase se razvije do 50 cm globine. Posebna lastnost sliv je, da tvori številne koreninske izrastke, ki jih uspešno uporabljamo pri razmnoževanju (Sancin, 1988).

Sliva cveti v marcu in aprilu. Na čas cvetenja vplivajo starost rastline in sortne lastnosti ter vremenske razmere. V odvisnosti od sorte in vremenskih razmer traja cvetenje od 6 do 12 dni. Kritična temperatura 10 dni pred cvetenjem je $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$, med cvetenjem pa $-2,5$ do $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pri obilnem cvetenju, v dobrih vremenskih razmerah, se oplodi 10-20 % cvetov (Sancin, 1988).

Plodovi sliv so podolgovate oblike in različno obarvani. Kožica slive je tanka in jo ščiti pred zunanjimi vplivi.

Pri slivi oz. koščičarjih se plod razvija po dvojni sigmoidni krivulji. V prvi fazi poteka delitev celic plodu brez delitve embria, kjer se razvijeta plod in koščica. V drugi fazi pride do delitve celic embria (seme) in koščica otrdi, rast plodu pa se umiri. Junjsko trebljenje se zgodi na začetku te faze. Tretja faza pomeni rast celic in polnjenje medceličnih prostorov. Plod intenzivno raste in v semenih se nalagajo nadomestne snovi kot so maščobe in škrob (Štampar in sod., 2009).

Plodove sliv lahko uporabljamo sveže ali jih predelujemo v sokove, žganje, marmelado ali pa jih uporabljamo v sušenem stanju. Slive imajo veliko antioksidativno učinkovitost zaradi vsebnosti različnih bioaktivnih sestavin kot so karotenoidi, vitamin A, C, E, antociani in druge fenolne snovi (Kristl in sod., 2010).

Chun in sod. (2003) so v svojih raziskavah zapisali, da ima zaužitje 100 g slive enako količino antioksidantov kot 144,4-889,6 mg vitamina C.



Slika 1: Plod slive sorte 'Čačanska lepotica' (Pavlović, 2010)

2.2 SEKUNDARNI METABOLITI

Sekundarni metaboliti so spojine, ki niso naravnost vključene v osnovni metabolizem (fotosintezo, celično dihanje, prenos snovi, sintezo ogljikovih hidratov, beljakovin in maščob). Nastajajo v rastlinah in mikroorganizmih, v človeškem organizmu pa ne. Kemijsko so zelo različne spojine in mednje prištevamo izoprenoide (terpenoide ali terpene), fenolne spojine in spojine, ki vsebujejo dušik. Nastajajo iz spojin primarnega metabolizma, ki se v nekem trenutku preusmeri v sintezo sekundarnih metabolitov (Abram in sod., 2010).

Sekundarni metaboliti so omejeno razširjeni v rastlinskem svetu, kar pomeni, da se določeni sekundarni metaboliti pojavljajo pri določeni rastlinski vrsti za razliko od primarnih metabolitov, ki so razširjeni po vsem rastlinskem svetu. Dolgo časa je bila vloga sekundarnih metabolitov neznana, sedaj vemo, da temu ni tako. Njihove funkcije so:

- zaščita rastlin pred napadi herbivorov in zaščita pred okužbo mikrobov,
- služijo kot atraktanti (vonj, okus, barva) za oprasovalce in druge živali, ki sodelujejo pri prenosu semen,
- sodelujejo pri kompeticiji rastlina-rastlina in simbiozi rastline in mikrobov.

Sposobnost rastline, da tekmuje in preživi je odvisna od ekološke funkcije sekundarnih metabolitov (Taiz in Zeiger, 2006).

Molekule fenolnih spojin vsebujejo vsaj en aromatski obroč in vsaj eno $-OH$ skupino na tem obroču, zato se je zanje uveljavilo tudi ime polifenoli. Običajno so vezani s sladkorji in organskimi kislinami. Najbolj pogost način delitve polifenolov je glede na število C-atomov. Fenolne spojine poimenujemo s trivialnimi imeni (Abram in sod., 2010; Crozier in sod., 2006).

Rastlinski fenoli so kemično zelo heterogena skupina z blizu 10.000 različnih spojin. Nekateri so topni samo v organskih topilih (netopni polimeri), drugi v vodi kot npr. karboksilne kisline in glikozidi. Večina fenolov, prisotnih v sadju, prispevajo k okusu, aromi in barvi. Lahko formirajo kovinske komplekse med zorenjem, rezultat česar pa je razbarvanje kože sadja (Taiz in Zeiger, 2006; Belitz in Grosch, 1999).

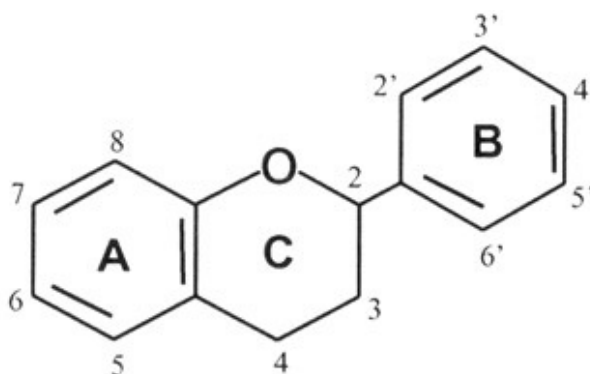
Fenolne spojine imajo ključno vlogo pri obrambi rastline pred herbivori in mikrobi, UV svetlobo in delujejo kot atraktanti (privabljalci) (Crozier in sod., 2006).

Zastopanost različnih fenolnih spojin in njihova koncentracija v rastlini sta odvisni od številnih dejavnikov, kot so vrsta, sorta, geografski izvor, rastna sezona, analitične metode, tehnologija pridelovanja ter odpornost na glive in uporaba fitofarmaceutskih sredstev. Nekateri herbicidi zmanjšajo fotosintezo, kar pomeni, da zmanjšajo količino ogljika, ki je na voljo za sintezo sekundarnih metabolitov. Drugi herbicidi blokirajo šikimsko pot tako, da reducirajo sintezo aromatičnih aminokislin že v začetku sinteze fenolnih spojin (Lombardi-Boccia in sod., 2004; Chun in sod., 2003).

Fenolne spojine lahko razdelimo v dve večji skupini na flavonoide in na neflavonoide. V skupino flavonoidov spadajo antociani, flavonoli, flavoni, izoflavoni, flavanoli, flavani, medtem ko v skupino neflavonoidov spadajo fenolne kisline in hidroksicimetne kisline.

2.2.1 Flavonoidi

Flavonoidi so nizkomolekularni sekundarni metaboliti. Predstavljajo največjo in najbolj raziskano skupino rastlinskih fenolov. Do zdaj je znanih kar 9.000 različnih vrst flavonoidov. Flavonoidi so polifenoli s 15 C (ogljik), molekularna struktura je sestavljena iz aromatičnega obroča A, kondenziranega ali heterocikličnega obroča C, ki je vezan na drugi aromatični obroč B (slika 2). Vsebujejo različne fenolne hidroksilne skupine, vezane na aromatične obroč, katere dajejo antioksidativno učinkovitost. Flavonoidi se v rastlini nahajajo kot glikozidi, kjer imamo velike razlike v sestavi med rastlinami in med deli posamezne rastline. Flavonoide delimo na antociane in antoksantine. Antociani so rastlinska barvila, ki dajejo rdečo, modro in vijolično barva, medtem ko so antoksantini brezbarvni ali bele do rumene barve in vključujejo flavanole, flavonole, flavone, flavane in izoflavone (Cadenas in Packer, 2002; Buer in sod., 2010).



Slika 2: Osnovna struktura flavonoidov (Williamson, 2003)

Živali ne sintetizirajo flavonoidov, vendar se ti lahko akumulirajo v nekaterih žuželkah, posebej pri metuljih, kot rezultat načina prehranjevanja gosenic (Harborne, 1967).

Flavonoidi in njihovi derivati inhibirajo LDL (low-density lipoprotein oz. lipoproteini nizke gostote) oksidacijo, imajo antimikrobne in antikancerogeno učinkovitost, uporabljajo se kot rastni regulatorji, vključeni so v različne procese kot so UV zaščita, obarvanost plodov in cvetov (atraktanti), stimulacija fiksiranja N v nodulih in odpornost na bolezni. Prisotni so v velikih koncentracijah v povrhnjici lista in v kožici sadja. Glavni viri flavonoidov v hrani so sadni sokovi, čaji, kava, rdeče vino, čebula, jabolka ter jagodičje (Crozier in sod., 2006; Chun in sod., 2003; Ottaway, 2008).

Antociani so vodotopna barvila prisotna predvsem v sadju (pri slivi je to kožica ploda) in cvetovih, kjer so odgovorni za rdeče, vijolične in modre barve. Barva je odvisna od številnih dejavnikov, kot je število hidroksi in metoksi skupin v obroču antociana, prisotnosti aromatične kisline, zaestrene na glavni skelet, ter pH celične vakuole, tako da so antociani pri

pH 3,5 obarvani rdeče z naraščanjem pa barva prehaja v modro vijolično. Prisotni so tudi v listih, semenih, koreninskem tkivu in stebelu. Ščitijo rastlino pred močno svetlobo s senčenjem listov mezofilnih celic, poleg tega pa imajo pomembno funkcijo pri privabljanju oprasovalcev (Crozier in sod., 2006; Košmerl, 2011; Taiz in Zeiger, 2006).

Večje število hidroksi skupin pomeni absorbcijo pri višji valovni dolžini, ki se odraža kot modrikasta barva. Zamenjava hidroksi skupine z metoksi skupino (-OCH₃) pa pomeni absorbcijo pri nižji valovni dolžini in barva je bolj rdečkasta (Taiz in Zeiger, 2006).

Primarna funkcija antocianov je privabljanje žuželk in ptičev z namenom oprasovanja in prenašanja semen. Antociani se občasno pojavljajo v mladih listih in ostalih organih kot odgovor na okoljske razmere. Produkcija le-tega je verjetno povezana z akumulacijo dostopnih ogljikovih hidratov v rastlini (Harborne, 1967).

Flavoni in flavonoli absorbirajo svetlobo pri krajši valovni dolžini za razliko od antocianidinov, in posledično niso vidni človeškemu očesu. Kljub temu pa žuželke, kot so čebele, vidijo v tem območju, kar pomeni, da imajo flavonoli in flavoni vlogo pri oprasovanju rastline. Flavonoli v cvetu tvorijo simetrične vzorce kot so črte, pike ali koncentrični krogi imenovani vodič za nektar. Ti vzorci so verjetno vidni žuželkam in predstavljajo lokacijo cvetnega prahu ali nektarja. Flavoni in flavonoli so prisotni tudi v listih vseh zelenih rastlin. Ti dve skupini ščitita rastlino pred močnim UV-B sevanjem (280-320 nm), ker se akumulirajo v epidermalnem sloju lista in debela ter absorbirajo svetlobo v UV-B območju, medtem ko vidna valovna dolžina (fotosintetsko aktivna) nemoteno potuje skozi. Izpostavljenost rastlin UV-B sevanju poveča sintezo flavonov in flavonolov. Rastline, katerim primanjkuje flavonoidov, so bolj občutljive na UV-B sevanje (Taiz in Zeiger, 2006).

Flavonoli so najbolj razširjeni med flavonoidi. Primeri flavonolov so miricetin, kvercetin in kempferol. Kempferol in kvercetin sta prisotna v listih in cvetnih listih pri več kot polovici rastlin, medtem ko je miricetin prisoten pri 1/10. Velika večina višjih rastlin ima bele, slonokoščene ali kremne barve cvetove. Veliko takih cvetov je obarvanih s flavonoli in flavoni ter vsebujejo kempferol in kvercetin (Crozier in sod., 2006; Harborne, 1967).

Morel in sod. (2001) navajajo, da ima miricetin sposobnost aktivacije popravljalnega mehanizma s tem, da odpravi oksidirane produkte, ki so se že formirali v DNA.

V skupino flavanolov prištevamo monomera epikatehin in katehin ter proantocianidine, ki so njihovi di-, tri- in tetrameri. Proantocianidini ali kondenzirani tanini so brezbarvni prekurzorji antocianidinov. Ko se segrevajo v kislem okolju se C-C vez v procesu nastajanja razcepi in končne enote flavana se sprostijo iz oligomerov kot ogljikovi kationi, ki se kasneje oksidirajo v barvne antocianidine z atmosferskim kisikom (Belitz in Grosch, 1999, Košmerl, 2011).

Proantocianidini so prisotni v manjših količinah v sadju, kjer vzdržujejo ravnovesje sladkorja. Med zorenjem sadja je prisotna predvsem pretvorba oligomerov v polimere. Za trpkost sadja so odgovorni oligomeri in izguba le-te se zgodi zaradi izginotja oligomerov. Polimeri se nahajajo na celični steni in ne prispevajo k okusu, zaradi njihove netopnosti (Harborne, 1967).

Izoflavoni so skupina flavonoidov, ki je večinoma prisotna pri metuljnicah in imajo različne biološke aktivnosti. Nekateri, na primer rotenoidi imajo močno insekticidno moč, drugi imajo anti-estrogene učinke. Najbolj znani so po svoji vlogi kot fitoaleksini, antimikrobne spojine, sintetizirane kot odgovor na bakterijsko in glivično okužbo, ki pomagajo rastlini omejiti širjenje patogena. Te snovi ni mogoče zaznati dokler rastlina ni okužena. Po okužbi se hitro sintetizirajo, zaradi vključitve novih biosintetskih poti (Taiz in Zeiger, 2006).

2.2.2 Neflavonoidi

Glavna komponenta fenolnih kislin je galna kislina, katere ime izhaja iz francoske besede *gallic*, kar pomeni oteklina v rastlinskem tkivu, ki je posledica napada insekta. Galna kislina je osnovna enota galotaninov. Galotanini in elagitanini se imenujejo hidrolizirani tanini, kateri se redno lomijo in pri tem sproščajo galno kislino in/ali elagno kislino. Tanini se vežejo s slino in proizvajajo okus, ki ga človek prepozna kot trpkost. Veliko taninov je močno trpkih, zaradi česar je rastlinsko tkivo neužitno in živali se takim rastlinam izogibajo. Večina nezrelega sadja ima veliko vsebnost taninov, ki se večinoma nahajajo v zunanjih celičnih slojih. Vsebnost taninov in/ali prisotna trpkost določata zrelost sadja in zorenje semena (Crozier in sod., 2006).

Elagitanini so polifenoli, ki pripadajo hidroliziranim taninom, kjer heksahidroksidifenolna kislina tvori diestre s sladkorjem (pogosto β -D-glukoza). Elagitanini se pojavljajo kot kompleks polimerov z molekularno maso do 4000. Ti polimeri so hidrolizirani s kislinami ali bazami, da povečajo količino elagne kisline, katera indirektno poveča količino elagitaninov. Ti se pojavljajo v lešnikih, orehu, granatnih jabolkih, kakiju, breskvi in slivi (Cerdeja in sod., 2005).

Derivati hidroksicimetne kisline izhajajo iz cimetine kisline. Prisotni so kot vezane oblike štirih osnovnih molekul p-kumarne, kavine, ferulne in sinapinske kisline. Proste oblike naštetih kislin se v sadju redko pojavljajo (Murkovic, 2003).

2.2.3 Biosinteza fenolov

Fenolne spojine se sintetizirajo po šikimski poti. Tu nastaja aromatična aminokislina fenilalanin, iz katere kasneje s pomočjo odcepitve molekule amonija nastaja encim fenilalanin amonij liaza (PAL), ki je ključni encim pri biosintezi fenolov. PAL katalizira anaerobno odcepitev amonija L-fenilalanina, da nastane *trans*-cinamična kislina in prosti amonijev ion. Ta reakcija je prvi korak v biosintezi derivatov fenilpropanoidov, kjer nastajajo flavonoidi, izoflavonoidi, kumarini, lignini, estri hidroksicinamične kisline in ostale fenolne spojine. Regulacija aktivnosti PAL-a je pomembna pri biosintezi fenilpropanoida v rastlinah. PAL kot ključni encim je reguliran s pomočjo različnih dejavnikov, kot so poškodba, infekcija, okoljska in razvojna stopnja rastline (Tomas-Barberan in Espin, 2001).

2.3 FENOLI PRI SLIVAH

2.3.1 Spremembe kakovosti plodov sliv med zorenjem

Za sadne vrste je značilno, da je njihovo povpraševanje odvisno od senzoričnih lastnostih, kot so barva, tekstura, okus in aroma. Pri koščičarjih je barva glavni indikator pri določanju zrelosti ploda, zato je težko določiti tehnološko zrelost, (tudi zato ker nimamo zrelostnega indeksa) saj se pri nekaterih sortah sliv barva kože razvije zelo hitro, ko je plod še nezrel in tako nima zadostne velikosti in okusa. Kakovost sliv določajo topne trdne snovi, kisline, čvrstost in vzdržljivost na trgu (Diaz-Mula in sod., 2008; Usenik in sod., 2008a).

Usenik in sod. (2008a) so raziskovali spremembo kakovosti različnih sort sliv med zorenjem. Proučevali so sorte 'Jojo', 'Valor', 'Čačanska rodna' in 'Čačanska najbolja'. Analizirali so maso ploda, trdoto, suho snov, barvo ploda, vsebnost sladkorjev, organskih kislin, fenolnih snovi in antocianov. Z zorenjem ploda se je povečala masa ploda, suha snov, vsebnost sladkorjev in antocianov. Zmanjšala se je trdota ploda, vsebnost kislin, barva je postala temnejša. Neoklorogenska kislina predstavlja velik delež hidrokscimetnih kislin (19,3-120 mg/100 g sveže mase), sledi klorogenska kislina (12,3-54,7mg/100 g sveže mase). Slive vsebujejo še rutin (3,8-12,4 mg/100 g sveže mase) ter *p*-kumarno kislino (0,0-7,6 mg/100 g sveže mase). Potrebno je omeniti, da se rezultati razlikujejo med sortami. Sorta 'Valor' je imela med proučevanimi sortami največjo vsebnost fenolov, sledila ji je sorta 'Jojo'. 'Čačanska rodna' in 'Čačanska najbolja' sta imeli podobne koncentracije, vendar manj kot prej omenjeni sorti. V tej raziskavi so ugotovili, da zorenje nima vpliva na vsebnost fenolov.

2.3.2 Vsebnost fenolov in njihova funkcija v slivi

Sliva (*Prunus domestica* L.) vsebuje v plodovih naslednje antociane: cianidin 3-ksilozid, cianidin 3- gluko- zid, cianidin 3-rutinozid, peonidin 3-gluko- zid in peonidin 3-rutinozid. Največja vsebnost je bila cianidin 3-rutinozida, je v zrelem plodu slive dosegel vrednosti med 4,-23,4 mg/100 g sveže mase (52,6 %-73,0 %), sledil je peonidin 3-rutinozid (6,5 %-37,9 %), cianidin 3-gluko- zid (1,8 %-18,4 %), cianidin 3-ksilozid (4,7 %-7,8 %) in nazadnje peonidin 3- gluko- zid (0,0 %-0,4 %). Največjo koncentracijo antocianov med zgoraj omenjenimi sortami je dosegla sorta 'Čačanska najbolja', najmanjšo pa 'Čačanska rodna', ki je tudi najmanj obarvana. Zanimivo je to, da ima sorta 'Čačanska rodna' največjo odstotek peonidin 3- rutinozida (28,6 %-37,9 %). Vsebnost antocianov se je med zorenjem večala, vendar je zorenje vplivalo na razmerje cianidin 3-ksilozida in cianidin 3-gluko- zida, kjer se je vsebnost prvega drastično zmanjšala zaradi večje sinteze cinidin 3-gluko- zida v zrelem sadju (Usenik in sod., 2008b).

V slivah iz vrst *Prunus salicina* imamo prisotne naslednje antociane: cianidin 3-gluko- zid, cianidin 3-rutinozid in cianidin 3-ksilodigluko- zid (sambubiozid). Slive iz vrst *Prunus salicina* imajo večjo vsebnost fenolov kot slive iz vrst *Prunus domestica*. Te slive vsebujejo 3-4 krat večjo koncentracijo fenolnih snovi v kožici kot v mesu ploda ter 3-9 krat večjo koncentracijo antocianov v kožici kot v mesu. Čeprav je v eksokarpu (kožica ploda) velika

vsebnost fenolnih snovi le-ta predstavlja samo 7-9 % mase ploda (Cevallos-Casals in sod., 2006).

Chun in sod. (2003) so v svojih raziskavah ugotovili, da antocian cianidin 3-rutinozid predstavlja kar 16,9 % skupnih fenolov, kar ga postavlja na drugo mesto za klorogenskimi kislinami (vsota neoklorogenske in klorogenske kisline). Najdemo ga v rdečih in modro vijoličnih slivah.

Primarna naloga antocianov v plodovih sliv je privabljanje živali, odgovornih za raznašanje semen.

Diaz-Mula in sod. (2008) so primerjali rumene sorte s temno vijoličnimi sortami sliv. Ugotovili so, da se antociani sprva akumulirajo v kožici ploda, šele nato v mesu in da imajo temno obarvane sorte večjo vsebnost fenolov kot rumene sorte.

Slive z rdečim obarvanim mesom so imele v povprečju večjo vsebnost fenolnih snovi (400 mg klorogenske kisline/100 g sveže mase) kot svetlejšje sorte, ki so imele manj kot 400 mg klorogenske kisline/100 g sveže mase. Prav tako so imele sorte z rdeče obarvanim mesom večjo vsebnost antocianov (Vizzotto in sod., 2006).

Derivati hidroksicimetne kisline predstavljajo pri evropski slivi (*Prunus domestica* L.) pomembno vlogo zaradi številčnosti in raznolikosti. Izhajajo iz cimetne kisline in so prisotni kot vezane oblike štirih osnovnih molekul *p*-kumarne, kavine, ferulne in sinapsinske kisline. Proste oblike naštetih kislin se pri sadju zelo redko pojavljajo. Kavina kislina je prevladujoča kislina in predstavlja kar 75 % vseh hidroksicimetnih kislin pri slivi, jabolkah in marelicah (Murkovic, 2003).

V slivi je največ neoklorogenske kisline, ki je glavni derivat hidroksicimetne kisline, klorogenska kislina in kriptoklorogenska kislina sta prisotni v manjših koncentracijah. Povprečna koncentracija klorogenskih kislin (vsota klorogenske kisline in neoklorogenske kisline) predstavlja kar 71,4 % vseh fenolov (Chun in sod., 2003).

Fenolne snovi v slivah prispevajo k antimikrobni aktivnosti, med katerimi je za to najbolj zaslužna klorogenska kislina. Ugotovljeno je namreč, da imajo velik zaviralni učinek na *Escherichia coli* in manjši na *Salmonella enteritidis* (Cevallos-Casals in sod., 2005).

Rastlina reagira na stres s povečanjem fenolnih snovi, predvsem klorogenske kisline, ki sodeluje pri biosintezi lignina. Na mestu poškodbe rastline se začne tvoriti lignin, ki prepreči izgubo vode in tako ustvari fizično prepreko. Lignin je prisoten tudi pri otrditvi koščice s tem, da poveča količino fenilalanil amoniaze (PAL) (Erjavec, 2007; Diaz-Mula in sod., 2008).

Zanimivo je, da slive okužene z glivo *Taphrina pruni* (rožičavost češpelj) akumulirajo večje količine klorogenske kisline prav tako tudi neoklorogenske ter kriptoklorogenske kisline. Ugotovljeno je bilo, da okužene slive akumulirajo kar 15 krat večje količine teh kislin, verjetno kot odgovor na encime v glivi. Fenolne snovi se ustvarjajo s polifenol oksidazo v

kinone, ki so toksični za patogene. Gliva kot odgovor pa izloča 4-pentadecilpiridin (najden v okuženih slivah), ki zavira aktivnost polifenol oksidaze (Stacewicz-Sapuntzakis in sod., 2001).

Sliva vsebuje tudi majhne koncentracije kvertecina 3-rutinozida (rutin), in sicer 1,0-8,3 mg/100 g sveže mase, ki je glavni flavonol v slivi. Poleg rutina vsebuje sliva še naslednje flavonole: kvertecina, kvertecina 3-galaktozid, kvertecina 3-glukozid (izokvercetin), kempferol in miricetin. V rodu *Prunus* so prisotni flavoni kot so krisin, tektokrisin in apigenin 7-metil eter (Chun in sod., 2003; Slimestad in sod., 2009; Harborne, 1967).

Flavonoli in flavoni so pri slivi odgovorni za belo obarvanost cvetov in imajo nalogo privabljanja opraševalcev, poleg tega jo ščitijo pred močnim UV-B sevanjem, ki je za rastlino škodljiv.

Slimestad in sod. (2009) so zapisali, da vsebujejo nekatere sorte sliv 4-8 % katehina in v manjših količinah še epikatehin. Poleg tega so zasledili v nekaterih sortah dva dimera flavanolov, in sicer proantocianidin B3 in B4. Proantocianidini so kondenzirani tanini, ki prispevajo k trpkosti sadja. Večinoma se pojavljajo, ko je plod slive še nezrel. Delujejo kot zaščita oz. odvrčalo za živali, saj se takim plodovom zaradi trpkosti in s tem neprijetnega okusa izogibajo.

V slivi sta prisotna izoflavona genistein in prunetin, kar jo ločuje od družine *Rosaceae* in hkrati povezuje z družino *Fabaceae* (Harborne, 1967). Izoflavoni ob napadu rastlin z glivami ali bakterijami sproščajo antimikrobne substance, ki ji pomagajo omejiti širjenje patogena.

Slive vsebujejo tudi hidrolizirane tanine, ki spadajo v skupino fenolnih kislin, in imajo enako funkcijo kot proantocianidini, in sicer ščitijo rastlino pred napadi herbivorov.

Wang in sod. (1996) in Gil in sod. (2002) so ugotovili, da slive vsebujejo 4,4 krat več antioksidativnih aktivnosti kot jabolka in da ima 100 g sliv 33-50 % antioksidativnih učinkovitosti kot 100 ml rdečega vina.

Plodovi sliv obrani v tehnološki zrelosti ne dosežejo maksimalne količine bioaktivnih snovi. Če pa jih pustimo na drevesu še teden dni pa se njihova antioksidativna učinkovitost v povprečju poveča za 10-20 %. V bližnji prihodnosti bi lahko z genetskim inženiringom povečali vsebnost antioksidativnih učinkovin, čeprav obstaja meja, saj bi prevelika vsebnost fenolnih snovi povzročila trpkost, ki je nezaželena (Diaz-Mula in sod., 2008; Gil in sod., 2002).

Stacewicz-Sapuntzakis in sod. (2001) so zapisali, da suhe slive v povprečju vsebujejo več fenolnih snovi (184 mg/100 g sadja) kot sveže slive namenjene za predelavo, ker dehidracija koncentrira te spojine, čeprav so delno razpadle. V svežem stanju so slive vsebovale 73 % neoklorogenske kisline in 13 % klorogenske kisline (skupaj je bilo 86 % hidroksicimetnih kislin), antocianov 7 %, katehina 5 % in rutina 2 %. Suhe slive so vsebovale 71 % neoklorogenske kisline in 24 % klorogenske kisline, tako da je skupna vsebnost

hidroksicimetnih kislin predstavljala 95 % vseh fenolnih snovi. Rutin je bil še zmeraj prisoten z 2 %. V suhih slivah so se pojavile majhne količine kavine in kumarne kisline (1 %), verjetno kot rezultat cimetne hidrolize med postopkom. Katehini in antociani so med postopkom sušenja razpadli.

Preglednica 1: Prisotnost fenolnih snovi v različnih organih pri slivi

| | list | cvet | plod | referenca |
|----------------------------|------|------|--|---|
| Flavonoidi | | | | |
| Antociani | + | | + | Usenik in sod., 2008; Cevallos-Casals in sod., 2006 |
| -Cianidin 3-ksilozid | | | + | |
| -cianidin 3-glukozid | | | +(<i>P.salicina</i> in <i>P.domestica</i>) | |
| -cianidin 3-rutinozid | | | +(<i>P.salicina</i> in <i>P.domestica</i>) | |
| -peonidin 3-glukozid | | | + | |
| -peonidin 3-rutinozid | | | + | |
| -cianidin 3-rutinozid | | | +(<i>P.salicina</i>) | |
| Flavanoli | | | | |
| -proantocianidin | | | + | Slimestad in sod., 2009 |
| -epikatehin | | | + | |
| -katehin | | | + | |
| | | | + | |
| Flavonoli | | | | |
| -rutin | + | + | + | Chun in sod., 2003; Slimestad in sod., 2009 |
| -kvertecín | | | + | |
| -kvertecín 3-galaktozid | | | + | |
| -izokvertecín | | | + | |
| -kempferol | | | + | |
| -miricetin | | | + | |
| | | | + | |
| Flavoni | | | | |
| | + | + | + | |
| Izoflavoni | | | | |
| -genistein | | | + | Harborne, 1967 |
| -prunetin | | | + | |
| Neflavonoidi | | | | |
| Fenolne kisline | | | | |
| -hidrolizirani tanini | | | + | |
| Hidroksicimetne kisline | | | | |
| -klorogenska kislina | + | | + | Chun in sod., 2003 |
| -neoklorogenska kislina | | | + | |
| -kriptoklorogenska kislina | | | + | |
| | | | + | |

2.3.3 Primerjava ekološko pridelanih sliv s konvencionalno pridelanimi

Zaradi vedno večjega povpraševanja kupcev po zdravi hrani se vedno bolj poudarja pomen agronomske prakse kot glavni del kakovosti hrane. Uporaba gnojil in fitofarmaceutskih sredstev, ki vplivajo na vsebnost fenolnih spojin v rastlini ima v končni fazi vpliv na človekovo zdravje (Lombardi-Boccia in sod., 2004).

Lombardi-Boccia in sod. (2004) so v svoji raziskavi primerjali koncentracijo antioksidativnih molekul v ekološko in konvencionalno pridelanih slivah (*Prunus domestica* L.) sorte 'Shiro' (preglednica 2). Te antioksidativne molekule so: vitamini (askorbinska kislina, vitamin E in β -karoten) ter vsebnost fenolnih snovi, fenolnih kislin in flavonolov. Bistvenih razlik v vsebnosti vitaminov ni bilo, razen v koncentraciji β -karotena (barvilo), ki je bila večja pri konvencionalno pridelanih slivah. Koncentracija fenolnih snovi je bila bistveno večja pri konvencionalno pridelanih slivah, med katerimi je bilo največ neoklorogenske kisline (več kot 45 % od skupnih fenolov pri konvencionalnih slivah in več kot 37 % pri ekoloških). Pri slivah pridelanih na ekološki način so izmerili večjo vsebnost kavine, *p*-kumarne, ferulne in klorogenske kisline. Med flavonoidi je bila pri konvencionalno pridelanih slivah večja vsebnost kvercetina in pri ekološko pridelanih slivah večja vsebnost miricetina in kempferola.

Preglednica 2: Vsebnost skupnih fenolov, fenolnih kislin in flavonolov pri konvencionalno in ekološko pridelanih slivah (Lombardi-Boccia in sod., 2004)

| | Konvencionalno pridelane slive | Ekološko pridelane slive |
|--|--------------------------------|--------------------------|
| Vsebnost skupnih fenolov (mg taninske kisline/100 g) | 121±21a | 88±4b |
| Fenolne kisline (mg/kg) | | |
| Protokatehulna | 0,8±0,03a | 0,6±0,061b |
| Kavna | 20,6±1,23c | 22,6±1,05a |
| <i>p</i> -kumarna | 8,5±0,34c | 8,9±0,32a |
| Ferulna | 8,0±0,63b | 9,3±0,42a |
| Klorogenska | 25,2±1,25b | 37,5±2,94a |
| Neoklorogenska | 52,0±2,76a | 46,0±6,95c |
| Flavonoli (mg/kg) | | |
| Miricetin | 0,9±0,2c | 1,1±0,1a |
| Kvercetin | 30,2±0,8a | 19,6±1,2b |
| Kempferol | 0,6±0,2b | 1,7±0,3a |

Različne črke označujejo statistično značilne razlike pri $p < 0,05$ (a:c) in $p < 0,001$ (a:b)

Poleg primerjave konvencionalno pridelanih sliv z ekološko pridelanimi na enakem tipu tal so primerjali tudi razlike med ekološkim pridelovanjem na različno obdelanih tleh (preglednica 3). Največje vsebnosti fenolnih spojin je imelo sadje pridelano na tleh, pokritih z deteljo. V poskusu so dokazali, da je v ekološkem načinu pridelovanja večja vsebnost fenolnih snovi v primerjavi s konvencionalnim načinom pridelovanja (Lombardi-Boccia in sod., 2004).

Veliko študij je pokazalo, da je povečanje vsebnosti fenolnih snovi v slivi in aktivacije PPO (polifenoloksidaza) posledica poškodb, ki so jih povzročili mikroorganizmi, tip napada, kateremu so plodovi pridelani na ekološki način bolj dovzetni. Znano je, da poškodba rastlinskega tkiva vpliva na presnovo antimikrobnih snovi in s tem poveča aktivnost nekaterih encimov. Temu pravimo hipersenzibilna reakcija gostiteljskih tkiv, ki predstavljajo oviro med okuženim tkivom in neokuženim (Lombardi-Boccia in sod., 2004).

Preglednica 3: Skupna vsebnost fenolov, fenolnih kislin in flavonolov pri ekološko pridelanih slivah na različnih sistemih (Lombardi-Boccia in sod., 2004)

| | Obdelana tla | Detelja | Travnik |
|-----------------------------------|--------------|------------|------------|
| Vsebnost skupnih fenolov mg/100 g | 88±4a | 94,7±6b | 103,2±4c |
| Fenolne kisline (mg/kg) | | | |
| Protokatehulna | 0,6±0,06b | 0,6±0,03b | 0,7±0,03a |
| Kavna | 22,6±1,05b | 24,3±1,31a | 13,8±0,96c |
| <i>p</i> -kumarna | 8,9±0,32c | 9,7±0,32a | 9,3±0,29b |
| Ferulna | 9,3±0,42b | 10,4±0,27b | 9,4±0,13b |
| Klorogenska | 37,5±2,94b | 41,5±4,41a | 22,3±2,98c |
| Neoklorogenska | 46,0±6,95b | 60,7±1,84a | 26,8±3,20c |
| Flavonoli (mg/kg) | | | |
| Miricetin | 1,1±0,1a | 1,1±0,3a | 0,7±0,1b |
| Kvercetin | 19,6±1,2b | 28,0±2,4a | 28,3±2,0a |
| Kempferol | 1,7±0,3a | 0,6±0,2c | 0,9±0,1b |

Različne črke označujejo statistično značilne razlike pri $p < 0,001$

Opomba: Rezultati iz te raziskave ne pomenijo, da imajo plodovi sliv pridelani na ekološki način na splošno večjo vsebnost fenolnih snovi v primerjavi s konvencionalnimi.

Zgoraj navedeni rezultati torej nakazujejo, da imajo ekološko pridelane slive večjo vsebnost fenolnih snovi v plodovih. Vzrok za to je predvsem način obdelave tal.

3 POMEN FENOLOV IN SLIV ZA ČLOVEKA

Človeške, živalske in rastlinske celice so zaradi oksidativnega stresa venomer izpostavljene različnim spremembam. Ob dolgotrajnejšem vplivu oksidantov pride v bioloških sistemih do zmanjšanja antioksidativne sposobnosti. Oksidativni stres je večkrat povezan z reaktivnimi kisikovimi spojinami, posebno s prostimi radikali, ki so zelo reaktivni in zelo hitro reagirajo z drugimi spojinami. Povzročijo različne poškodbe DNA, maščob in beljakovin. Fenolne spojine imajo sposobnost lovljenja radikalov, so donorji vodikovega atoma ali elektronov, vežejo kovinske ione ter deaktivirajo prooksidativne encime. Antioksidativni učinek imajo predvsem flavonoidi, derivati cimetine kisline, kumarini in tokoferoli (Abram in sod., 2010).

Da razumemo antioksidativno aktivnost moramo razumeti, kaj so prosti radikali. Prosti radikali so molekule, ponavadi kisikove, ki so izgubile elektron. Ta izgubljena molekula jim

daje nestabilnost in reaktivnost. Ko »ukradejo« molekulam elektron se začnejo obnašati kot »teroristi« v telesu. Najbolj nevarni prosti radikali so tisti, ki so majhni, mobilni in visoko reaktivni kisikovi radikali. Nastajajo kot posledica stresa, pri celični presnovi kot stranski produkt in zaradi zunanjih dejavnikov (UV sevanje, alkohol, cigaretni dim, onesnažen zrak). Nekateri prosti radikali so koristni, saj varujejo telo pred patogenimi organizmi. Lipidna peroksidaza (prosti radikali reagirajo z maščobami), rezultat tega pa je poškodba celične membrane. V celici se spremeni ozmotski tlak, kar vodi v oteklino in na koncu v smrt celice (Patel, 2008).

Kljub pozitivnim učinkom fenolov se lahko zgodi, da se začnejo obnašati kot prooksidanti, to se zgodi pod določenimi pogoji kot so visoka koncentracija fenolnih antioksidantov, visok pH ali prisotnost kovinskega iona. Kovinski ioni s kisikom katalizirajo oksidacijo flavonoidov. Posledica tega je tvorba reaktivnih kisikovih in drugih organskih radikalov, ki lahko poškodujejo DNA, maščobe in druge biološke molekule (Košmerl, 2011; Cadenas in Packer, 2002).

Antioksidanti v hrani so zanimivi iz treh razlogov. Prvi razlog je ta, da endogeni ali dodani antioksidanti lahko ščitijo komponente hrane kot take proti oksidativnim poškodbam. Na primer začimbe, bogate z antioksidanti so bile stoletja uporabljene kot konzervansi. Uporaba sintetičnih antioksidantov kot so butiliran hidrokstitoluen (BHT), butiliran hidroksianisol (BHA) in propil galat je pod drobnogledom, zato se vedno bolj preusmerja pozornost na naravne vire antioksidantov. Drugi razlog je, da se prehranski antioksidanti lahko absorbirajo v človeško telo in s tem ugodno vplivajo na človekovo zdravje. To je bilo posebej utemeljeno za α -tokoferol in vitamin C. Vedno več je dokazov o absorpciji nekaterih rastlinskih fenolov. Kvertecini in katehini se lahko do neke meje absorbirajo v človeško telo. Tretji razlog so rastlinski izvlečki namenjeni za terapevtske namene (antiinflamatorno, antitrombotični agent), ki imajo antioksidativne učinkovitosti (Cadenas in Packer, 2002).

Znano je tudi, da flavanoidi delujejo kot kemopreventivno sredstvo za želodčna razjeda, antispazmodično (sprošča gladke mišice), antisekretorno (za izkašljevanje), antiinflamatorno (proti vnetju), antitumorno, so antidiareiki (proti driski) v prebavnem traktu ter antioksidanti (Rupasinghe in sod., 2006; Buer in sod., 2010).

Uživanje genisteina in daizeina (izoflavoni) v prehrani zmanjša pojav raka na prostati in dojki pri ljudeh. Rak dojke je odvisen od zaloge estrogena, ki ga potrebuje za rast, posebej v zgodnjih stadijih. Izoflavoni tako tekmujejo z naravnimi estrogeni in s tem zavirajo rast rakavih celic (Crozier in sod., 2006).

Elagitanini imajo antioksidativne, antivirusne, antimikrobne, antitumorne, antikancerogene učinkovitosti, poleg tega pa vplivajo na delovanje ledvic. Monomerni in dimerni elagitanini ter galotanini inhibirajo infekcijo virusa *Herpes simplex*. Nekateri elagitanini zavirajo HIV inducirani citopatični efekt (generativne spremembe celice) ter HIV specifično antigensko izražanje (Quiedau, 2009).

Sliva je v prehrani bogat energijski vir, ima pa tudi precejšno dietetično in zdravilno moč, poleg tega je pa močan vir antioksidantov. Slive in njihovi proizvodi se uporabljajo proti zaprtju, oteklim jetrom, kurjim očesom (prepolovljeno suho slivo si prevezemo čez kurje oko), vnetemu grlu, parodontozi, zobnemu abscesu, revmi in za blažitev črevesnih težav. Krepijo dlesni, znižujejo krvni tlak in ščitijo pred arteriosklerozo in pred infarktoma, za celjenje ran in delujejo proti hemoroidom (Mihajlović, 1997).

Suhe slive vsebujejo veliko hranilnih snovi kot so kalcij, fosfor, kalij, β -karoten in železo. Je naravno odvajalo in kot suho sadje ugodno vpliva na kri in živčni sistem ter znižuje holesterol (Edgson in Marber, 2001).

Že dolgo časa je znano, da suhe slive delujejo kot odvajalo. Razlog temu je njihova sestava. Suhe slive in sok iz njih vsebujeta veliko sorbitola, ki je alkoholni sladkor in je značilen za sadje iz rodu *Prunus*. Suhe slive vsebujejo tudi fenolne spojine, ki prav tako lahko prispevajo k odvajalnemu učinku, poleg tega vsebujejo še velike koncentracije bora, ki je pomemben pri preprečevanju osteoporoze ter veliko bakra, ki je poleg kalcija, pomemben pri vzdrževanju kosti in pri sintezi hemoglobina (Stacewicz-Sapuntzakis in sod., 2001).

Specifična sestava suhih sliv in soka ima lahko ugodne vplive na kardiovaskularno zdravje. Pri kardiovaskularnih boleznih imamo tri glavne dejavnike tveganja - povečan krvni pritisk, visoka raven holesterola (visoka vrednost LDL) in oksidativni stres, ki poškoduje krvne lipide in žilne epitele. Visoka vsebnost kalija (745 mg/100 g suhih sliv) in majhna vsebnost natrija lahko zaščitita človeka pred povečanim krvnim pritiskom. Suhe slive vsebujejo tudi majhno količino flavonoidov, posebej kvercetin, kateri vpliva na funkcijo encimskega sistema, ki je vključen v odpornost in proizvodnjo protivnetnih procesov. Preprečevanje oksidacije LDL je lahko zelo pomembno pri preprečevanju arterioskleroze. Poleg tega pa antitrombotični učinek flavonoidov lahko zmanjša možnost srčnega napada, kjer prepreči strjevanje in zamašitev žil (Stacewicz-Sapuntzakis in sod., 2001).

Rak je posledica nepopravljenih mutacij DNA, ki so lahko posledica oksidativne poškodbe zaradi prostih radikalov. Antioksidanti nevtralizirajo proste radikale in so tako pomembni pri preprečevanju nastanka raka. Kavina in klorogenska kislina zavirata mutageno aktivnost *N*-metil-*N'*-nitro-*N*-nitroso-guanidin (MNNG). Klorogenska kislina prisotna v hrani zavira formacijo tumorjev v črevesju in lahko ščiti organizem pred Parkinsonovo boleznijo (Stacewicz-Sapuntzakis in sod., 2001).

Suhe slive so včasih uporabljali v tradicionalni medicini kot zdravilo proti driski, kašlju, ustnim razjedam. Blago antimikrobno učinkovitost ima hidrokisimetska kislina tj. klorogenska, kavina in ferulna kislina ter njihovi izomeri in derivati. Slive delujejo blago na *Staphylococcus aureus*, ki povzroča ognojke in infekcijo ran ter proti glivam *Scopulariopsis* spp. Učinkovita je tudi proti *Escherichia coli*. Antivirusna učinkovitost je tudi rezultat fenolnih spojin v sadju in čajih. Klorogenska kislina je učinkovita proti polio virusu, ki povzroča otroško paralizo v koncentraciji med 1 in 0,1 mg/ml (Stacewicz-Sapuntzakis in sod., 2001).

4 SKLEPI

Sliva je sadna vrsta, ki ima veliko vsebnost fenolnih snovi, ki pozitivno vplivajo tako na rastlino samo, kot na človeka.

Količina fenolnih snovi se razlikuje med posameznimi organi in je odvisna od različnih procesov v rastlini (okoljski dejavniki, stres, odziv na poškodbo patogenov itd.). Fenolne snovi imajo protimikrobni učinek, delujejo kot atraktanti ter ščitijo rastlino pred biotskimi in abiotskimi dejavniki.

Plodovi sliv so bolj raziskani kot organi (list, cvet) te sadne vrste, predvsem zaradi njihove tržne vrednosti. Različni avtorji navajajo različne vrednosti fenolnih snovi v plodovih, saj na njihovo koncentracijo vplivajo številni dejavniki, kot so tehnologija pridelave, sorta, starost rastline, analitične metode, uporaba fitofarmaceutskih sredstev itd.

V svežih plodovih sliv prevladujejo naslednje fenolne snovi: neoklorogenska in klorogenska kislina, antociani, flavoni, flavonoli, proantocianidini, katehini in epikatehini ter hidrolizirani tanini

V postopku predelave oz. sušenja najhitreje razpadejo katehini in antociani, poveča pa se skupna količina fenolnih snovi

5 VIRI

- Abram V., Abramović H., Skrt M., Kač M., Poklar Ulrih N. 2010. Antioksidacijska učinkovitost fenolnih spojin. *Kemija v šoli in družbi*, 22, 2: 14-19
- Belitz H. D, Grosch W. 1999. *Food chemistry*. 2nd ed. Berlin, Springer: 992 str.
- Buer C. S., Imin N., Djordjevic M. A. 2010. Flavonoids: New roles for old molecules. *Journal of integrative plant biology*, 52, 1: 98-111
- Cadenas E., Packer L. 2002. *Handbook of antioxidants*. New York, Marcel Dekker Inc.: 712 str.
- Cerda B., Tomas-Barberan F. A., Espin J. C. 2005. Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts and oak-aged wine in humans: Identification of biomarkers and individual variability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2: 227-235
- Cevallos-Casals B., Byrne D., Okie WR., Cisneros-Zevallos L. 2006. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compound and enhanced functional properties. *Food Chemistry*, 96: 273-280
- Chun O. K, Kim D. O., Moon H. Y., Kang H. G., Lee C. Y. 2003. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 25: 7240-7245
- Crozier A., Clifford N. M, Ashihara H. 2006. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*. Oxford, Blackwell Publishing: 372 str.
- Diaz-Mula H. M., Zapata P. J., Guillen F., Castillo S., Martinez-Romero D., Valero D., Serrano M. 2008. Changes in physicochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on-tree ripening of eight plum cultivars: a comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 2499-2507
- Edgson V., Marber I. 2001. *Hrana zdravilo za dušo in telo*. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 160 str.
- Erjavec A. 2007. *Vloga polifenol-oksidadze, peroksidaz in fenilalanil-deaminaze pri porjavenju krompirja*. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 56 str.
- Gil M. I., Tomas-Barberan F. A., Hess-Pierce B., Kader A. A. 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 4976-4982

- Harborne J. B. 1967. *Comparative Biochemistry of the flavonoids*. London, Academic press: 383 str.
- Kristl J., Slekovec M., Tojnko S., Unuk T. 2010. Extractable antioxidants and non-extractable phenolics in the total antioxidant activity of selected plum cultivars (*Prunus domestica* L.): Evolution during on tree- ripening. *Food chemistry*, 125,1: 29-34
- Lombardi-Boccia G., Lucarini M., Lanzi S., Aguzzi A., Cappelloni M. 2004. Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic production: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1: 90-94
- Košmerl T. 2011. Delitev fenolnih snovi. *SAD*, 12, 3: 23-24
- Mihajlović B. 1997. *Zdravljenje s sadjem in zelenjavo*. Ljubljana, Kmečki glas: 364 str.
- Morel I., Abalea I., Cillard P., Cillard J. 2001. Repair of oxidized DNA by the flavonoid myricetin. V: *Flavonoids and other polyphenols*. Packer L. (ed.). San Diego, Academic Press: 308-316
- Murkovic M. 2003. Phenolic compounds. V: *Encyclopedia of food science and nutrition*. Caballero B. (ed.). New York, Academic Press: 4507-4514
- Ottaway P. B. 2008. *Food fortification and supplementation: technological, safety and regulatory aspects*. Cambridge, Woodhead publishing limited: 281 str.
- Patel J. M. 2008. A review of potential health benefits of flavonoids. *Lethbridge Undergraduate research journal*, 3, 2
<http://www.lurj.org/article.php/vol3n2/flavonoids>. (1. 9. 2011)
- Pavlović G. 2010. Vočarski savjeti: šljiva.
<http://www.vocarski-savjeti.com> (2. 9. 2011)
- Quiedau S. 2009. *Chemistry and biology of ellagitannins: An underestimated class of bioactive plant polyphenols*. Singapore, World Scientific Publishing: 374 str.
- Rupasinghe H. P. V., Jayasankar S., Lay W. 2006. Variation in total phenolics and antioxidant capacity among European genotypes. *Scientia Horticulturae*, 108, 3: 243-246
- Sancin V. 1988. *Sadje z našega vrta. Trst, Založništvo tržaškega tiska*: 375 str.
- Slimestad R., Vangdal E., Brede C. 2009. Analysis of phenolic compounds in six norwegian plum cultivars (*Prunus domestica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 23: 11370-11375

- Stacewicz-Sapuntzakis M., Bowen P. E., Hussain E. A., Damayanti-Wood B. I., Farnsworth N. R. 2001. Chemical composition and potential health effects of prune: A functional food? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41, 4: 251-286
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron S., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. *Sadjarstvo*. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Taiz L., Zeiger E. 2006. *Plant physiology*. 4th ed. Sunderland, Sinauer Associates: 764 str.
- Tomas-Barberan F. A., Espin J. C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 9: 853-876
- Usenik V., Kastelec D., Veberič R., Štampar F. 2008a. Quality changes during fruit ripening of plums (*Prunus domestica* L.). *Food Chemistry*, 111, 830-836
- Usenik V., Štampar F., Veberič R. 2008b. Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening. *Food Chemistry*, 114, 529-534
- Vizzotto M., Cisneros-zevallos L., Byrne D. H., Okie W. R., Ramming D. W. 2006. Total phenolic, carotenoid, and anthocyanin content and antioxidant activity of peach and plum genotypes. *Acta Horticulturae*, 703: 453-455
- Wang H., Cao G., Prior R. L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 701-705
- Williamson G. 2003. On-line identification of flavonoids by HPLC coupled to diode array detection. 2003. Royal society of chemistry.
<http://www.globalspec.com> (2. 9. 2011)

ZAHVALA

Za pomoč in nasvete pri izdelavi diplomskega projekta se zahvaljujem mentorju prof. dr. Franciju ŠTAMPARJU.

Za pomoč in nasvete pri izdelavi projekta se zahvaljujem prof. dr. Metki HUDINA.

Za pregled diplomskega projekta se zahvaljujem prof. dr. Dominiku VODNIKU.

Hvala tudi moji družini za vso podporo in razumevanje med študijem in tudi vsem tistim, ki ste mi pomagali pri študiju in pisanju diplomskega projekta.