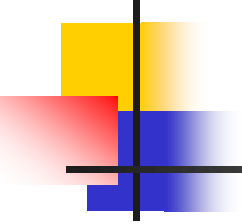


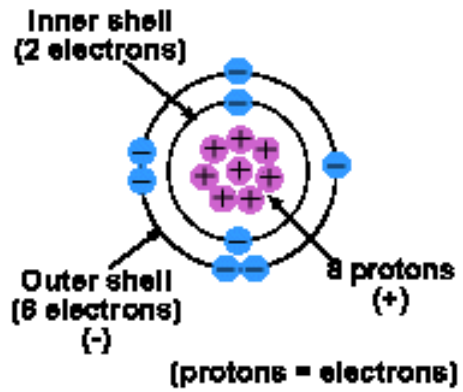


ANTIOKSIDANTI V RASTLINSKIH ŽIVILIH

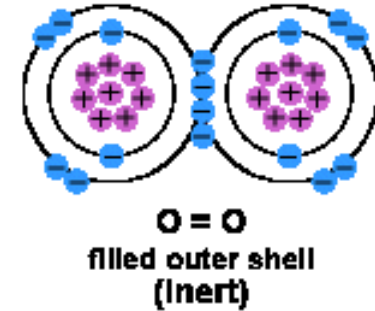
- KAJ SO PROSTI RADIKALI?
- Ekstremisti na politični sceni?
- Kemijsko aktivne spojine?

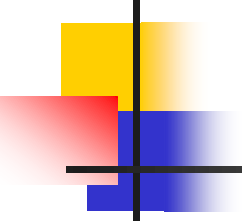
- 
-
- Skupina atomov z nesparjenim elektronom
 - Nastanejo pri reakciji kisika z nekaterimi spojinami
 - So zelo reaktivni in sprožijo verižne reakcije po sistemu padajočih domin

Oxygen Atom (O)

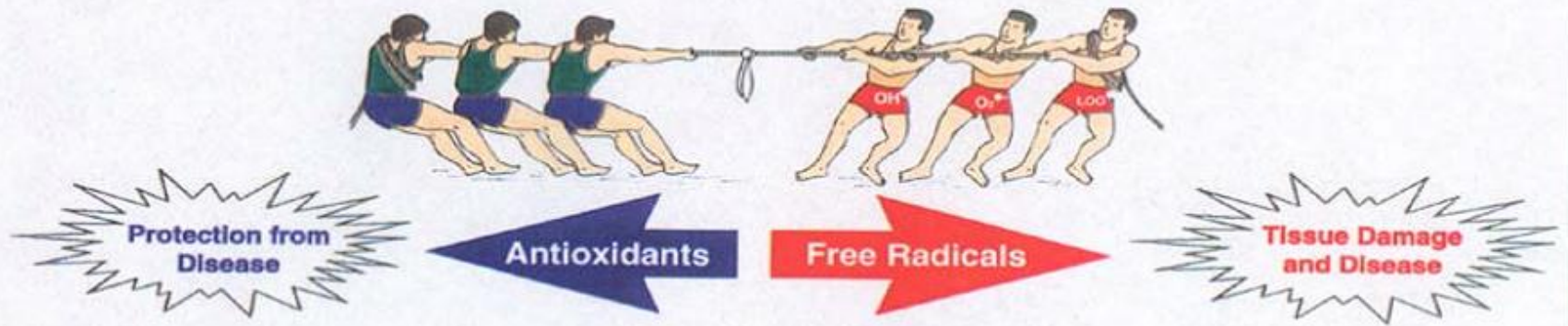


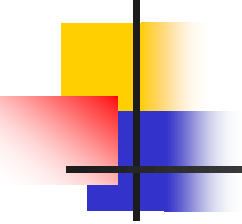
Oxygen Molecule (O₂)



- 
-
- Prosti radikal želi postati stabilna molekula zato ukrade elektron drugi molekuli
 - le ta pa postane prosti radikal in tako gre cikel verižno naprej
 - Organizem včasih sam proizvaja proste radikale da uniči sovražnike kot so virusi....

ANTIOKSIDANTI V RASTLINSKIH ŽIVILIH

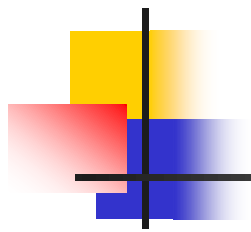


- 
-
- Povzročajo škodo s tem da oksidirajo različne spojine tudi DNK
 - Antioksidanti pa preprečujejo verižne reakcije že prej, preden so poškodovane vitalne sestavine celic



ANTIOKSIDANTI V RASTLINSKIH ŽIVILIH

- S staranjem se povečuje delež obolenj kot:
 - Kardiovaskularne bolezni,
 - Alzheimerjeva demenca, druge demence
 - katarakta,
 - Parkinsonova bolezen,
 - diabetes,
 - možganska kap,



Pljuča

emfizem, cistična fibroza,
karcinom, astma, azbestoza,
cigaretni dim,
normobarična
hiperoksigenacija,
inhalacija SO₂, NO_x, O₃,
bleomicin, parakvat

Oko

siva mrena, degeneracija
rumene pege, retinopatije
novorojenčkov, fotonske in
diabetične retinopatije,
krvavitve v očesu

Srce in ožilje

ishemija, infarkt, ateroskleroza,
hipertenzija, kardiomiopatija,
pomanjkanje selena (keshanska
bolezen)

Koža

kontaktni dermatitis, porfirija,
sončni žarki, ionizirajoča
sevanja, maligni melanom,
opekline, gubanje kože,
fotosenzibilizacija
(tetraciklini), dermatitis
pratenzis

Ledvice

Vnetja, kronično odpovedovanje
ledvic, avtoimuna nefroza,
aminoglikozidi, težke kovine

Misice

mišična distrofija, multipla
skleroza, fizični napor,
intenzivni treningi, ishemija

Prebavila

ulkusi, hepatitis, ciroza,
Crohnova bolezen, diabetes, rak
debelega črevesa, kolitis,
pankreatitis, nesteroidni
antipiretični analgetiki

Drugo

AIDS/ARC, preeklampsija,
staranje, vnetja, poškodbe,
ishemija/reperfuzija,
radiacija, revmatoidni artritis,
lupus, hemokromatoza,
sterilnost pri moških, aloksan



OBRAMBA Z ANTIOKSIDANTI

- OKSIDATIVNI STRES - porušeno ravnotežje med prostimi radikali in antioksidanti

- ANTIOKSIDANTI SO:
 1. lovilci radikalov,
 2. kelirajo kovinske ione (citronska kislina),
 3. odstranjujejo in ali popravljajo oksidativno poškodovane molekule



OBRAMBA Z ANTIOKSIDANTI

- V telesu igrajo najpomembnejšo vlogo encimi:
 1. Superoksidna dismutaza
 2. Katalaza
 3. Glutationska peroksidaza
 4. Metionin sulfoksid reduktaza
 5. DNA repair encimi



OBRAMBA Z ANTIOKSIDANTI

- Vitamini:
 1. A (provitamini – karoteni)
 2. C
 3. E



OKINAWA – OTOK Z NAJVEČ 100-LETNIKI

HRANA

- nizko kalorična
- predvsem rastlinska,

Kakšen je način življenja na Okinawi?

- telesna in duhovna vadba (karate)
- močna pripadnost veri (duhovna hrana)
- optimističen pristop k življenju



OKINAWA – OTOK Z NAJVEČ 100-LETNIKI

Kakšna je prehrana na Okinawi?

- Indeks telesne teže med 18 - 22
- Brez maščob
- Veliko sadja in zelenjave
- Prehrana vključuje ogromno rib, zelenega čaja in vode
- Izključuje predelano hrano
- Ni stresa - fizična aktivnost in meditacije



OKINAWA – OTOK Z NAJVEČ 100-LETNIKI

Kakšna je prehrana na Okinawi?

- Sadje in zelenjava vsebujeta veliko vlaknin in antioksidantov (vitamini A, E, C, K), polifenoli
- Ribe vsebujejo n3 maščobne kisline
- Soja vsebuje izoflavone in fitoestrogene
- Antistresna duhovna hrana (karate, meditacije, molitve)



ANTIOKSIDANTI SO SNOVI, KI

so lovilci radikalov

- tvorijo kelate s kovinskimi ioni

- delujejo kot reducenti

Za živilske tehnologije so predvsem snovi, ki:

- podaljšujejo življenjsko dobo živil in preprečujejo kvarne vplive oksidacije, kot so žarkost, porjavenje etc.

- vplivajo na ohranjanje senzoričnih lastnosti živil



PROSTI RADIKALI

- Prosti radikali so neizogibni stranski produkti v bioloških redoks reakcijah
- reducirane oblike kisika, H_2O_2 , hidroksilni radikali, superoksidni radikal. Lahko inaktivirajo encime ali nekatere pomembne sestavine celic
- nastajanje in razgradnja prostih radikalov je regulirana v celicah



IZ ZDRAVSTVENEGA STALIŠČA

- prosti radikali povzročajo oksidativne spremembe na lipidih, proteinih in nukleinskih kislinah
- Antioksidanti reagirajo pri obrambi organizma pred potencialno škodljivimi oksidirajočimi agensi - prostimi radikali

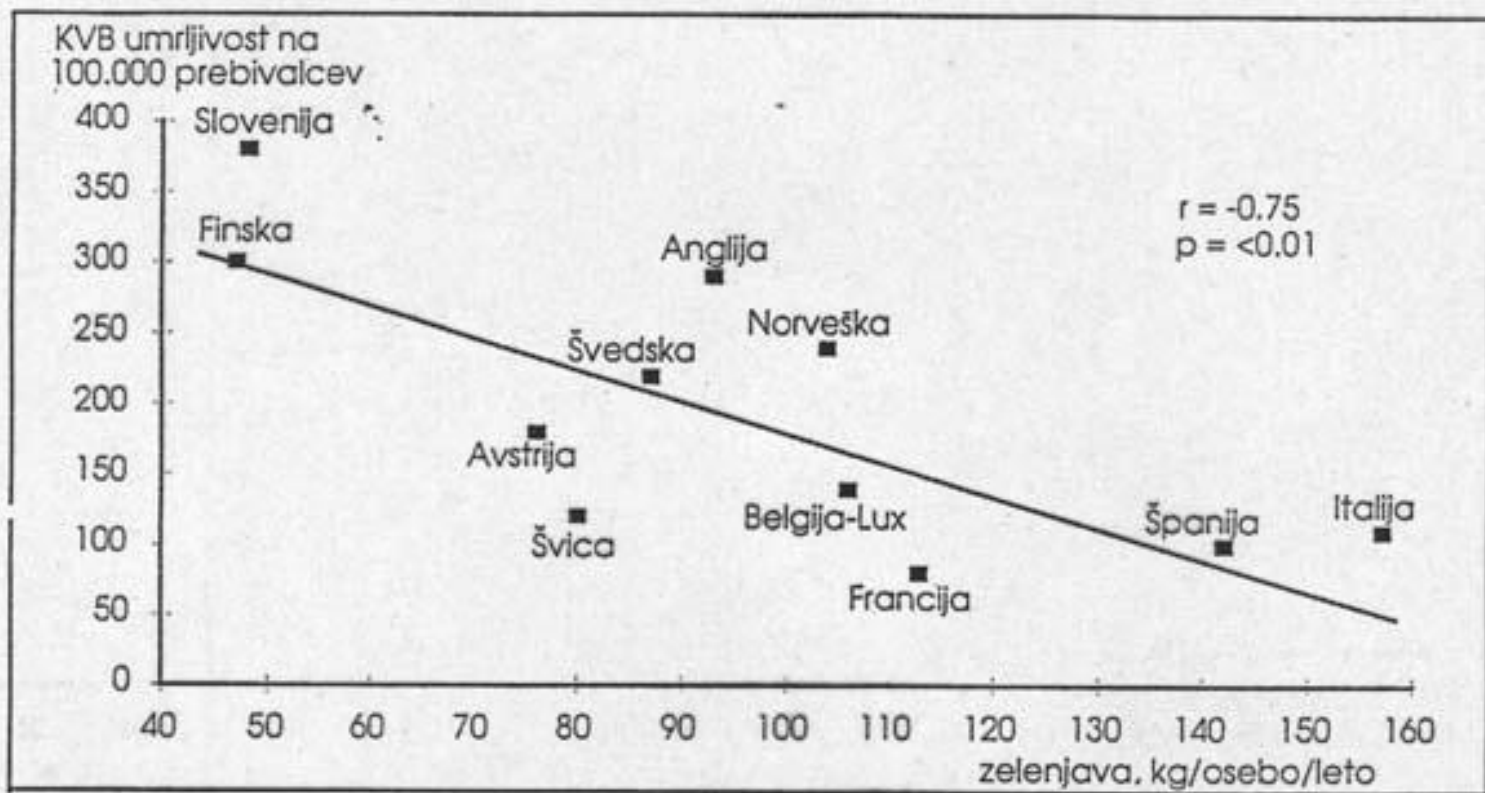


IZ ZDRAVSTVENEGA STALIŠČA

- antioksidanti nudijo zaščito pred škodljivim vplivom prostih radikalov, ki povzročajo oksidativne spremembe na lipidih, proteinih in nukleinskih kislinah
- znana je negativna korelacija med količino zaužitega sadja in zelenjave ter pojavom raka in kardiovaskularnih bolezni

IZ ZDRAVSTVENEGA STALIŠČA

Slika 3. Povezava med potrošnjo zelenjave in umrljivostjo za boleznimi srca in ožilja v letu 1988, 35-74 let





DELITEV ANTIOKSIDANTOV

- **NAJBOLJ POGOSTI ANTIOKSIDANTI:**
- VITAMINI: A, C, E
- POLIFENOLI: flavoni, izoflavoni, flavononi, antocianini, katehin in izokatehin
- antioksidacijski učinek sadja in zelenjave je predvsem posledica polifenolov in v manjši meri vitaminov

METODE MERJENJA

NAJVEČKRAT UPORABLJAMO PRIMERJALNO METODO

- zagotovimo standardni oksidacijski kvar (znana obdelava s kisikom, znan vir prostih radikalov)
- kvar substrata merimo ob dodanem antioksidantu in brez antioksidanta
- merimo lahko vsebnost antioksidanta (vitamin A), absorbanco prostega radikala ali razne razgradne produkte



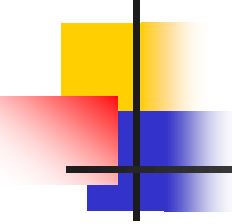
TROLOKS

- Rezultate izražamo kot Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilroman-2-karboksilna kislina), ki je sintetični vitamin E

ENCIMSKI KOMPLET - RANDOX



- metmioglobin (peroksidaza) reagira s H_2O_2 , tvori se radikal ferilmioglobin
- kromogen 2,2'-azinobisetilbenzotiazolinsulfonat (ABTS) inkubiramo s ferilmioglobinom - dobimo kationski radikal $ABTS^{\bullet+}$, ki absorbira pri 600 nm
- prisotni antioksidant zavira nastajanje barve

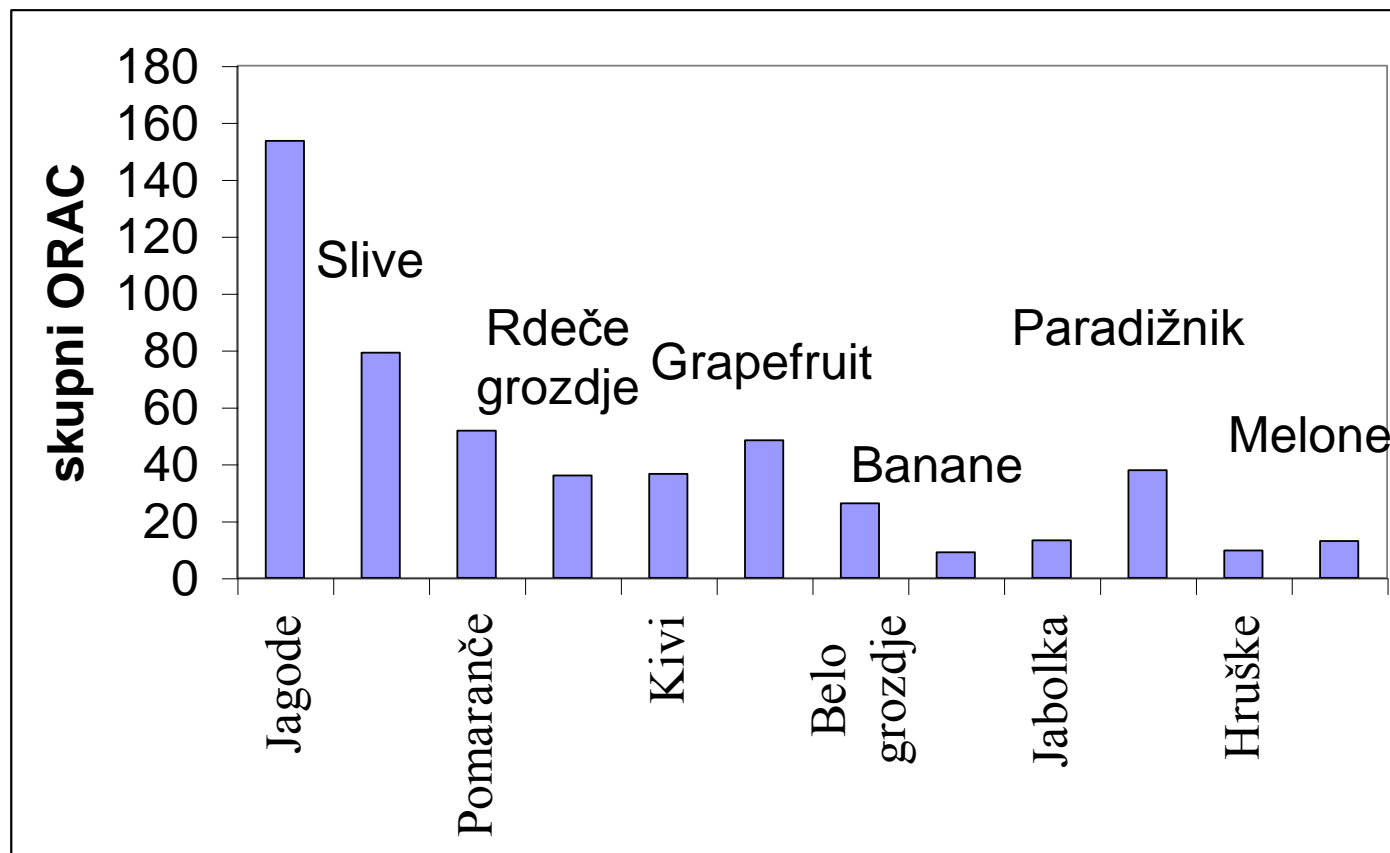


ORAC- oxygen radical absorbance capacity

- β -fikoeritrin + vzorec ali standard
- dodamo definiran vir peroksilnih radikalov 2,2'-azobis(2-amidino propan) dihidroklorida (AAPH)
- merimo fluorescenco vsaki dve minuti
vstopna svetloba 540 nm, emitirana svetloba 565 nm



ORAC





Radikal DPPH• PRI 515 nm

- Primerjalno fotometrično sledenje izginjanja barve (stopnje bledenja - bleaching rate) stabilnega prostega radikala 2,2 difenil-1-kiprilhidrazil (DPPH) pri 515 nm, 25°C, 60 min
- Radikal DPPH• reagira z antioksidantom, zato se absorbcija zmanjša



Radikal DPPH• PRI 515 nm

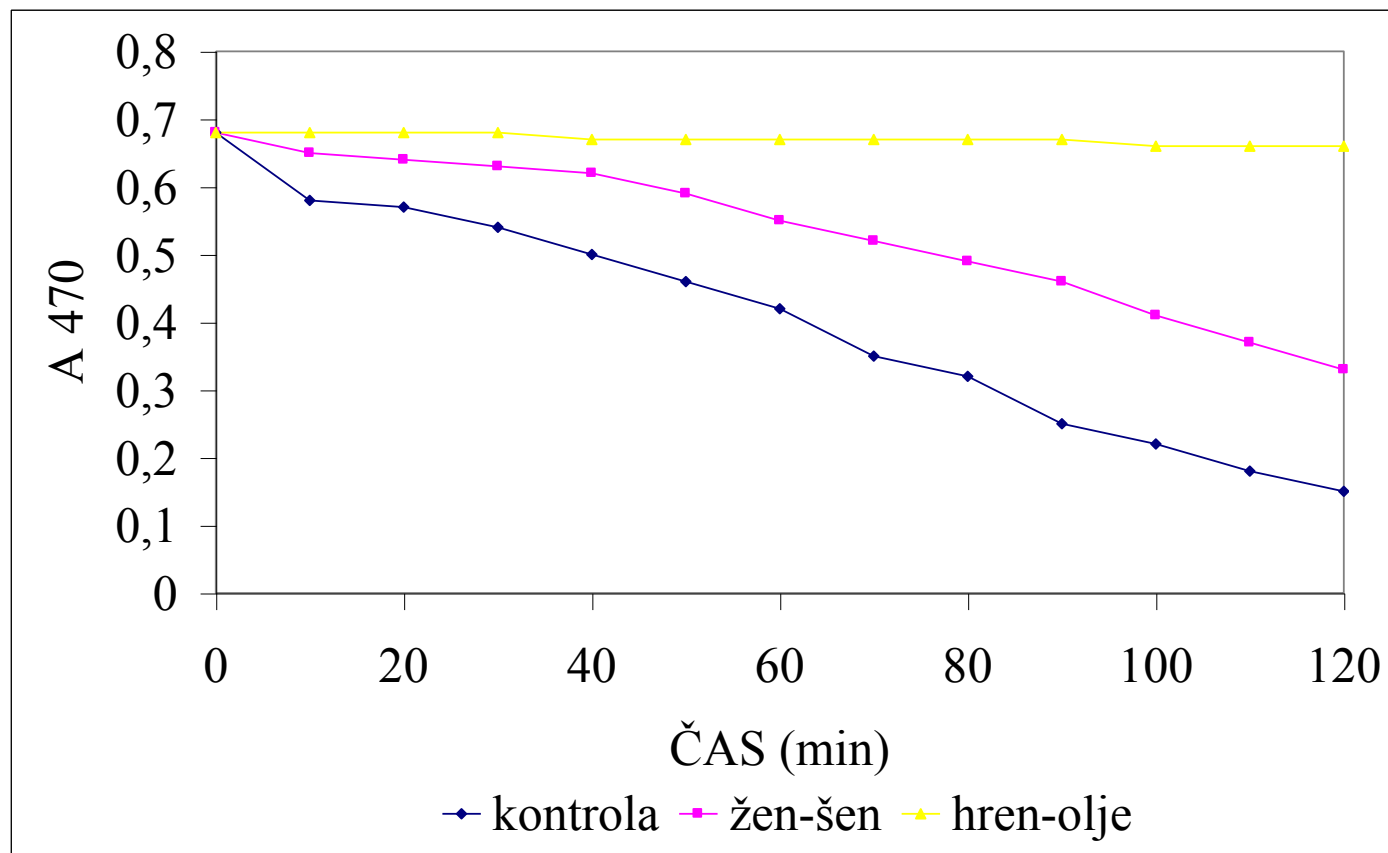
■ potencial	polifenoli (mg/L)	antioksid. O.D.·10 ⁻³ /min/mg polif.
■ Zeleni čaj	953,8	11,15
■ Črni čaj	801,2	5,36



RAZGRADNJA β -KAROTENA

- V kontroliranih pogojih spremljamo razgradnjo β -karotena (T, dostop O_2)
- Absorbpcijo merimo pri 470 nm vsakih 10 minut
- hitrost razpada merimo v kontrolnih in v vzorcih zaščitenih z antioksidanti

RAZGRADNJA β -KAROTENA



RAZBARVANJE RADIKALA

DMPD^{•+}

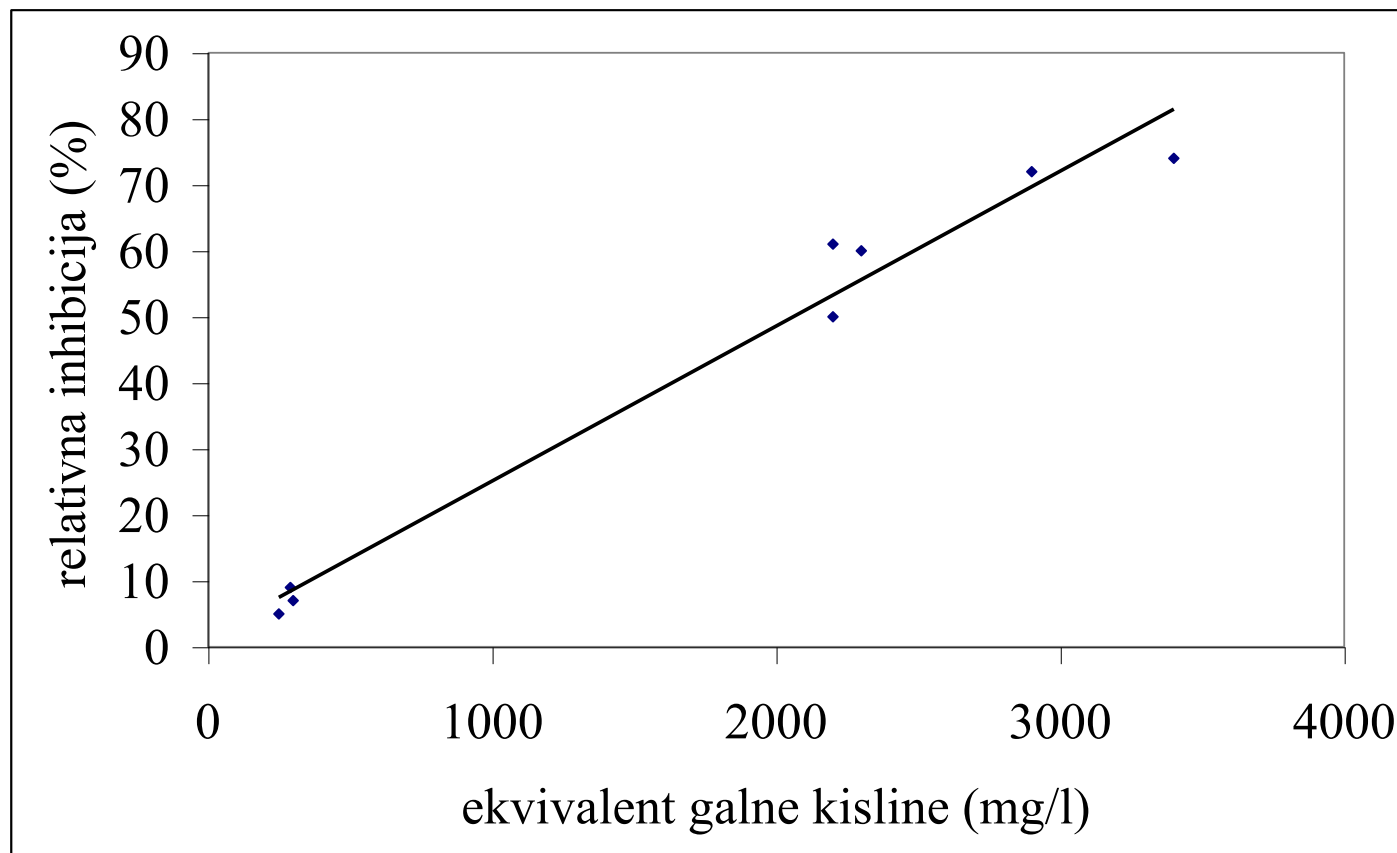
- N,N-dimetil-p-fenilen diamin dihidroklorid (DMPD) je brezbarven
- ob prisotnosti oksidanta (Fe^{3+}) se obarva vijolično in absorbira pri 505 nm
- ob prisotnosti antioksidanta se ponovno razbarva v odvisnosti od koncentracije in vrste antioksidanta



INHIBICIJA OKSIDACIJE ČLOVEŠKEGA LDL

- Človeški LDL oksidiramo ob prisotnosti Cu^{2+}
- oksidirajo se n-6 polinenasičene maščobne kisline, pri čemer nastaja heksanal
- merimo heksanal, ki je proporcionalen stopnji oksidacije
- ZELO UPORABNA METODA

Inhibicija oksidacije človeškega LDL z vinom v odvisnosti od vsebnosti polifenolov v vinu

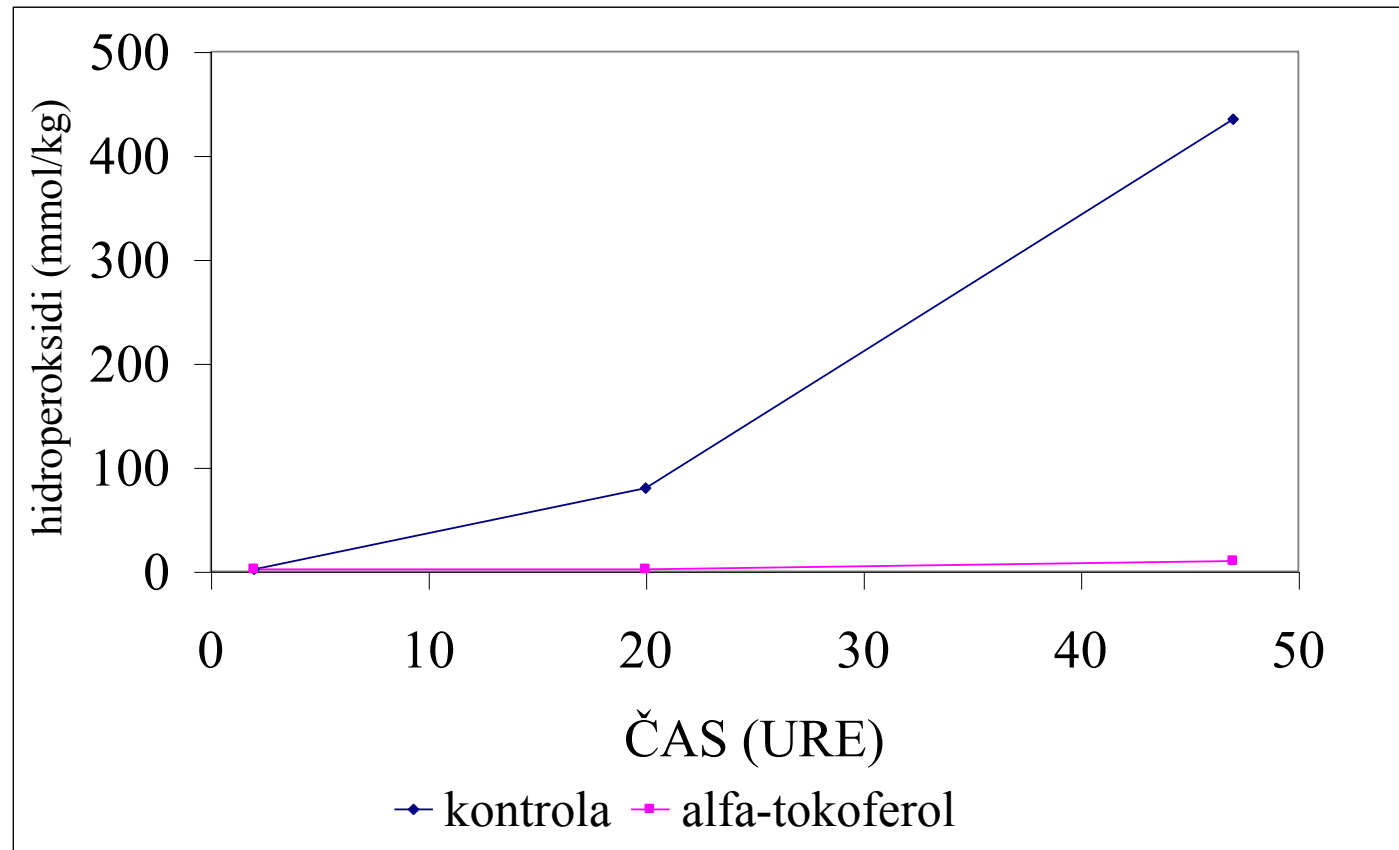




INHIBICIJA OKSIDACIJE METIL-LINOLEATA

- Vzorec + metil-linoleat inkubiramo, da izzovemo avtooksidacijo, ki je odvisna od prisotnosti antioksidantov
- merimo prisotnost nastalih hidroperoksidov kot dienov

Antioksidacijska aktivnost alfa-tokoferola in kontrolnega vzorca (metanola) po metodi oksidacije metil linoleata





ZAKLJUČKI

- NAJBOLJ UPORABNE METODE
- OKSIDACIJA ČLOVEŠKEGA LDL
- RANDOX



NEKATERI ANALIZNI IZZIVI

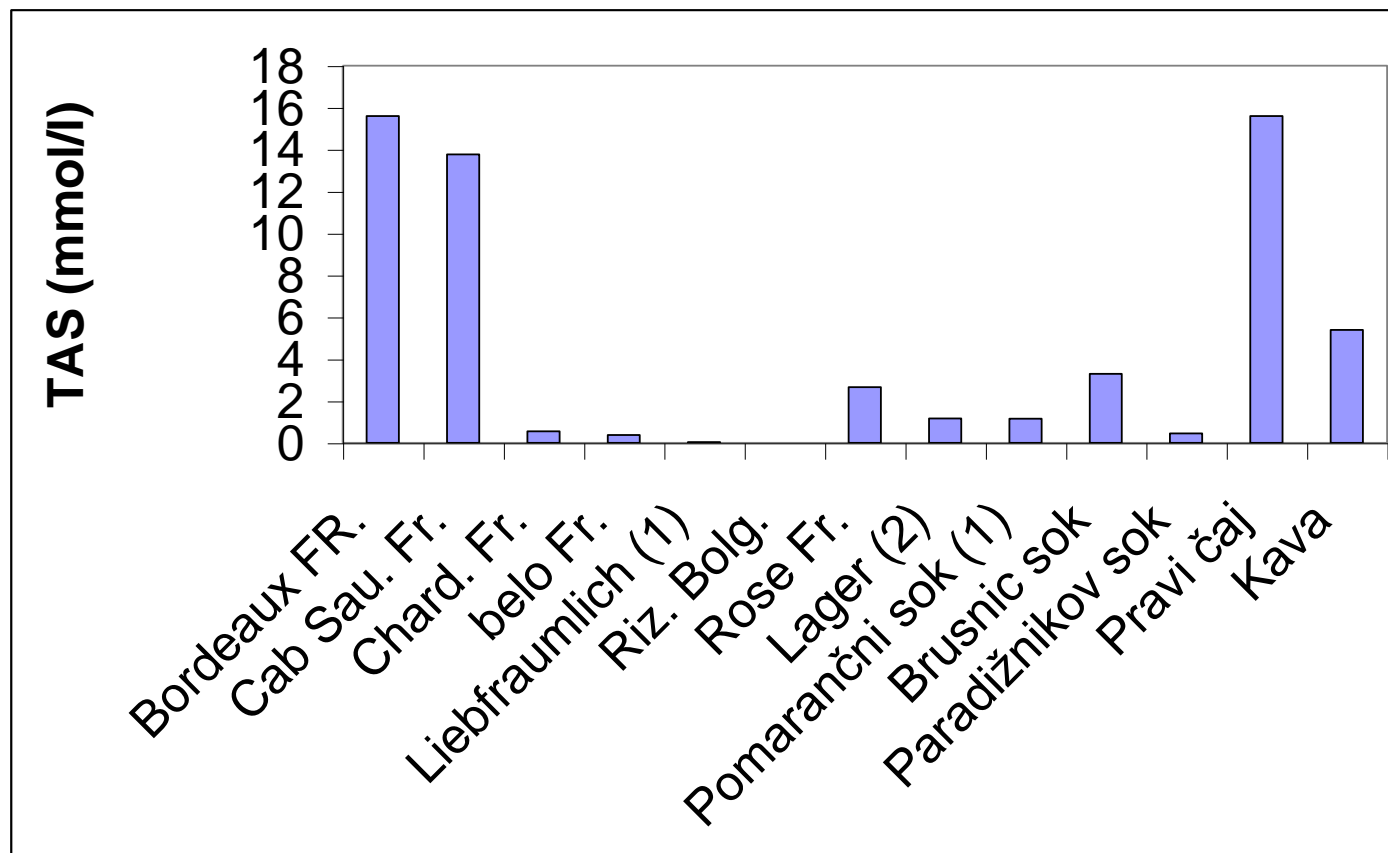
- Zahtevnost analitike biotičnih substanc in vzorcev kot takih (identifikacija, separacija)
- pri določanju antioksidantov po njihovem delovanju fiksiramo substrat in slepanje na realni substrat je bolj ali manj uspešna ekstrapolacija
- antioksidant, ki uspešno varuje sadje v skladišču je lahko v organizmu neučinkovit ali škodljiv



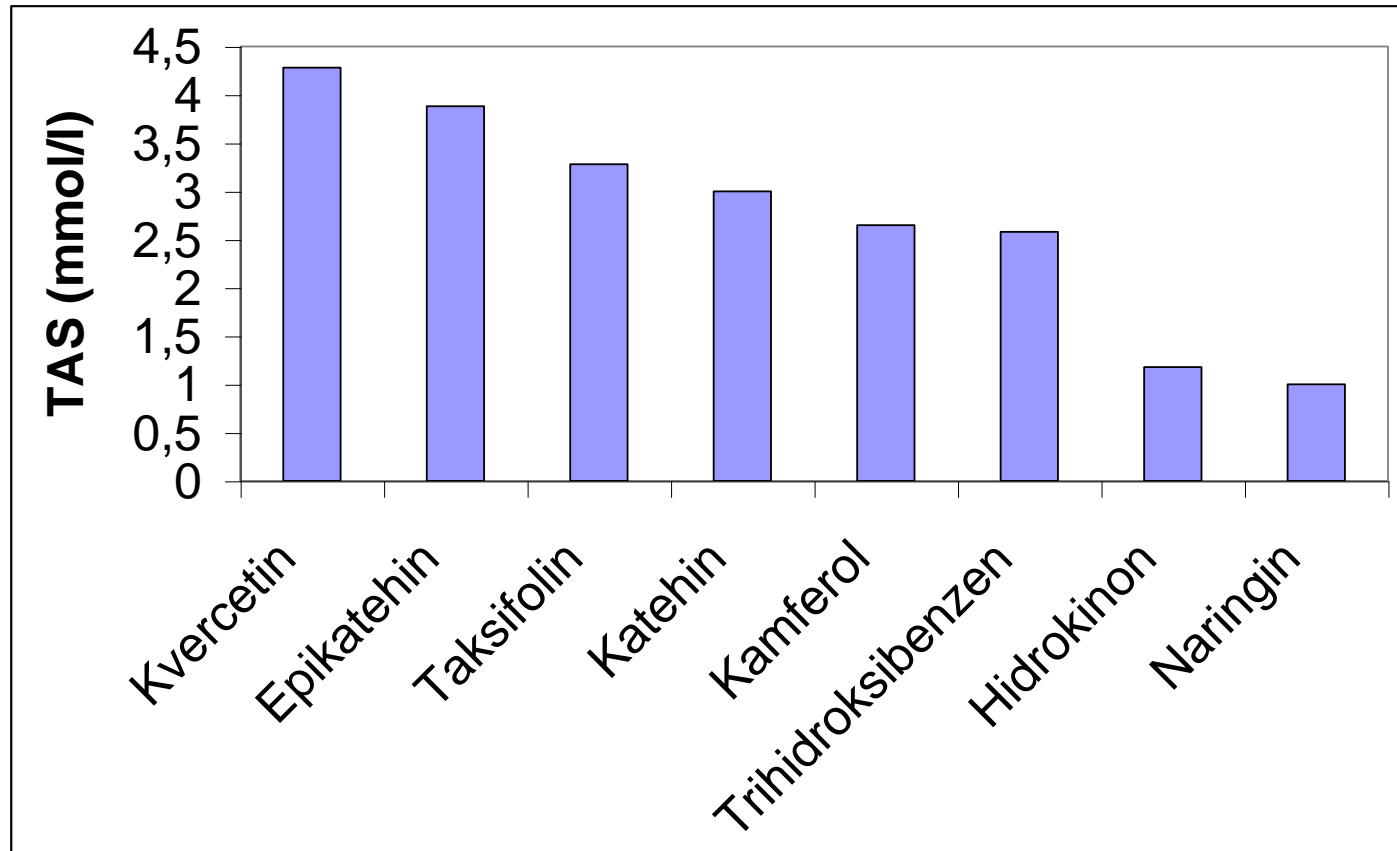
ZAKLJUČKI

- Šele zadnja štiri leta smo razvili dovolj zanesljive postopke za analizo posameznih skupin flavonoidov (Kühnau, 1976)
- Enako bi lahko rekli danes in na žalost bo kaj podobnega res vsaj še dvajset let (Robards in sod., 1999)!

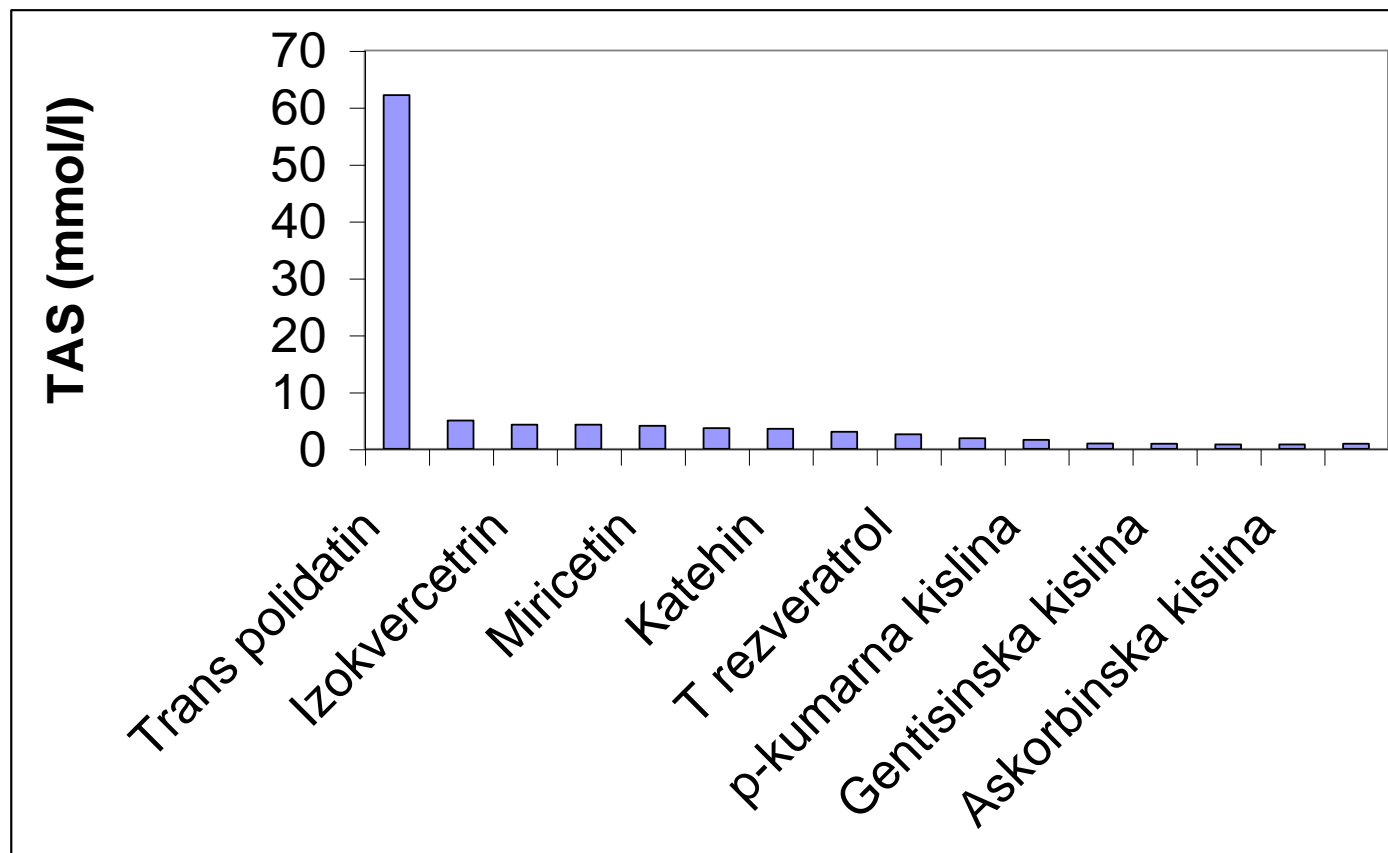
KAKO IZBRATI V BIFEJU



PODATKI O KEMIJSKO DEFINIRANIH ANTIOKSIDANTIH



PODATKI O KEMIJSKO DEFINIRANIH ANTIOKSIDANTIH



Antioksidanti in njihove koncentracije v plazmi

Antioksidant	Koncentracija v plazmi
Proteinski	
Encimski	
- Cu-, Zn-SOD (endotelijska SOD)	5-20 IE/ml
- katalaza	?
- glutationska peroksidaza	0,4 IE/ml
Neencimski	
- albumin	50 g/L
- ceruloplazmin	0,18-0,4 g/L
- haptoglobin	0,5-3,6 g/L
- hemopeksin	0,6-1,0 g/L
- laktoferin	0,0002 g/L
- transferin	1,8-3,3 g/L
Nizkomolekularni neencimski	
Vodotopni	
- askorbinska kislina	30-150 μ M
- bilirubin	5-20 μ M
- glutation	1-2 μ M
- sečna kislina	160-450 μ M
- tioli	50-100 μ M
Topni v maščobah	
- β -karoten	0,3-0,6 μ M
- likopen	0,5-1,0 μ M
- ubikinol Q ₁₀	0,4-1,0 μ M
- vitamin E (α - in γ -tokoferol)	15-40 μ M

Tabela 4: Vpliv β -karotena na različne karcinome pri človeku

Pljučni karcinom	
Serumski β -karoten	+
B-karoten iz hrane	+
Korenje in temna Zelenjava	+
Oranžna/rumena Zelenjava	+
B-karotenski nadomestki	0/—
Rak dojke	
Serumski β -karoten	+
B-karoten iz hrane	+
Rak materničnega vratu	
B-karoten iz hrane	+
Rak požiralnika	
B-karoten iz hrane	+
Sadni karoten	+
	+/0
Rak želodca	
Serumski β -karoten	+
Sadje	+
Sveže sadje in zelenjava	+
Sadje in sveža zelenjava	+
Rak debelega črevesa	
B-karoten iz hrane	+
Sadje in zelenjava	+

⊕ = zmanjšana incidenca raka

0 = ni povezave med vnosom in incidenco raka

— = povečana nevarnost raka

Hrana, ki pomaga zniževati pojavnost raka

Živila	Priporočljiva	Prepovedana
Žita	polnovredna moka in žita polnozrnat kruh, z malo maščobe in sladkorja	slaščice, biskvit, koruzna pokovka itd.
Zelenjava in sadje	vir β-karotena: aronija, rdeča pesa, korenje, kurkuma, borovnice, marelice, špinača, robidnice, paradižnik, buče vir vitamina C: pomaranče, grenivke, rdeči in zeleni poper, jagode, brokoli folna kislina: pomaranče, banane, temna zelenjava, beluši križnice: brokoli, brstični ohrovt, ohrovt, cvetača	dolgo in pri visoki temperaturi kuhana zelenjava, zelenjava z veliko maščobe: avokado, arašidi, pražen krompir, bučke, gobe, čips, sladki krompir
Mlečni izdelki	posneto mleko, mleko z 1% maščobe, jogurt z malo maščobe, skuta, mocarela	polnomastno mleko, smetana, maslo in margarina, polnomastni siri, sladoled, kreme, tolčena smetana
Meso in nadomestki	pusto meso (goveje, telečje, svinsko, jagnjetina), piščančje meso brez kože, ribe in školjke, suhi fižol, grah, leča	perutnina s kožo, mastno meso, klobase, paštete, domače gosi in račke, prekajeno meso
Masti, olja in slaščice	sadje namesto slaščic, slaščice z malo maščobe in sladkorja, graham krekerji	slaščice bogate z maščobo in sladkorjem, solatni prelive in omake