

Fenolni sastav različitih dijelova zrelog i nedozrelog ploda avokada

Dželalija, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:457215>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

**FENOLNI SASTAV RAZLIČITIH DIJELOVA ZRELOG I
NEDOZRELOG PLODA AVOKADA**

ZAVRŠNI RAD

IVANA DŽELALIJA

Matični broj: 78

Split, srpanj 2022.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

**FENOLNI SASTAV RAZLIČITIH DIJELOVA ZRELOG I
NEDOZRELOG PLODA AVOKADA**

ZAVRŠNI RAD

IVANA DŽELALIJA

Matični broj: 78

Split, srpanj 2022.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY
FOOD TECHNOLOGY

PHENOLIC COMPOSITION OF DIFFERENT PARTS OF
RIPE AND UNRIPE AVOCADO

BACHELOR THESIS

IVANA DŽELALIJA

Parent number: 78

Split, July 2022

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet
Preddiplomski studij prehrambene tehnologije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Tema rada je prihvaćena na 25. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: Prof. dr. sc. Tea Bilušić
Pomoć pri izradi: mag. chem. Petra Brzović

FENOLNI SASTAV RAZLIČITIH DIJELOVA ZRELOG I NEDOZRELOG PLODA AVOKADA

Ivana Dželalija, 78

Sažetak:

Avokado kao klimakterijsko voće dozrijeva nakon berbe te za posljedicu toga sadrži različite koncentracije antioksidativnih komponenti, ključnih u zaštiti ljudskog organizma od negativnog utjecaja slobodnih radikala, u zreлом i nedozreлом plodu. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti koncentracije fenola i flavonoida u ispitivanim uzorcima zrelog i nedozrelog ploda avokada. Nakon postupka ekstrakcije, uklanjanja etanola i liofilizacije dobiveni su uzorci podvrgnuti spektrofotometrijskim metodama pomoću kojih su koncentracije navedenih antioksidansa izmjerene. Najveći udio fenola pronađen je u sjemenci zrelog avokada, dok flavonoida u sjemenci nezrelog avokada. Najmanje koncentracije fenola i flavonoida zabilježene su upravo u pulpi, dijelu ploda koji se najviše konzumira u čovjekovoj prehrani.

Ključne riječi: avokado, antioksidansi, fenoli, flavonoidi, spektrofotometrija

Rad sadrži: 36 stranica, 21 sliku, 5 tablica, 31 literaturnu referencu

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Izv.prof.dr.sc. Sanja Perinović Jozić – predsjednica Povjerenstva
2. Doc.dr.sc. Danijela Skroza – član
3. Prof.dr.sc. Tea Bilušić – član – mentor

Datum obrane: 12. srpnja 2022.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate study Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food Technology

Thesis subject was approved by the Council of the Faculty of Chemistry and Technology, session no. 25

Mentor: Tea Bilušić, Full professor

Technical assistance: Petra Brzović, PhD student, assistant

PHENOLIC COMPOSITION OF DIFFERENT PARTS OF RIPE AND UNRIPE AVOCADO

Ivana Dželalija, 78

Abstract:

Avocado, as a climacteric fruit ripens after harvest and therefore contains different concentrations of antioxidant components in ripe and unripe fruits, which are crucial for protecting the human body from the negative effects of free radicals. The aim of this study was to compare the concentrations of phenols and flavonoids in the studied samples of ripe and unripe avocado fruit. After the extraction process, ethanol removal and freeze-drying, the obtained samples were subjected to spectrophotometric methods that measured the concentrations of these antioxidants. The highest level of phenols was found in ripe avocado seed, while flavonoids in unripe avocado seed. The lowest concentrations of both antioxidants were found in the pulp, the part of the fruit most consumed in the human diet.

Keywords: avocado, antioxidants, phenols, flavonoids, spectrophotometry

Thesis contains: 36 pages, 21 figures, 5 tables, 31 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Sanja Perinović Jozić, associate professor – chair person
2. Danijela Skroza, assistant professor – member
3. Tea Bilušić, Full professor – supervisor

Defence date: July 12th, 2022

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in the Library of the Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Tee Bilušić i asistencijom mag. chem. Petre Brzović u razdoblju od veljače do srpnja 2022. godine.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Tei Bilušić na vodstvu i ukazanoj pomoći pri izradi ovog rada. Također se zahvaljujem mag. chem. Petri Brzović na posvećenom vremenu i pomoći.

Posebno zahvaljujem svojoj obitelji i svom partneru na bezuvjetnoj podršci i motivaciji tijekom školovanja.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

1. Odvajanje i usitnjavanje različitih dijelova zrelog i nedozrelog ploda avokada (kora, lupina sjemenke, sjemenka i pulpa) te liofilizacija dobivenih uzoraka.
2. Ekstrakcija liofiliziranih uzoraka metodom maceracije u 80%-tnom etanolu.
3. Filtracija ekstrakata, uklanjanje etanola koristeći rotacioni vakuum uparivač te ponovna liofilizacija uzoraka.
4. Mjerenje količine fenola i flavonoida u pripremljenim uzorcima spektrofotometrijskim metodama.
5. Proračun i usporedba dobivenih rezultata.

SAŽETAK

Avokado kao klimakterijsko voće dozrijeva nakon berbe te za posljedicu toga sadrži različite koncentracije antioksidativnih komponenti, ključnih u zaštiti ljudskog organizma od negativnog utjecaja slobodnih radikala, u zreлом i nedozreлом plodu. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti koncentracije fenola i flavonoida u ispitivanim uzorcima zrelog i nedozrelog ploda avokada. Nakon postupka ekstrakcije, uklanjanja etanola i liofilizacije dobiveni su uzorci podvrgnuti spektrofotometrijskim metodama pomoću kojih su koncentracije navedenih antioksidansa izmjerene. Najveći udio fenola pronađen je u sjemenci zrelog avokada, dok flavonoida u sjemenci nezrelog avokada. Najmanje koncentracije fenola i flavonoida zabilježene su upravo u pulpi, dijelu ploda koji se najviše konzumira u čovjekovoj prehrani.

Ključne riječi: avokado, antioksidansi, fenoli, flavonoidi, spektrofotometrija

SUMMARY

Avocado, as a climacteric fruit ripens after harvest and therefore contains different concentrations of antioxidant components in ripe and unripe fruits, which are crucial for protecting the human body from the negative effects of free radicals. The aim of this study was to compare the concentrations of phenols and flavonoids in the studied samples of ripe and unripe avocado fruit. After the extraction process, ethanol removal and freeze-drying, the obtained samples were subjected to spectrophotometric methods that measured the concentrations of these antioxidants. The highest level of phenols was found in ripe avocado seed, while flavonoids in unripe avocado seed. The lowest concentrations of both antioxidants were found in the pulp, the part of the fruit most consumed in the human diet.

Keywords: avocado, antioxidants, phenols, flavonoids, spectrophotometry

SADRŽAJ

UVOD	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. Važnost voća u prehrani	2
1.2. Fitokemikalije iz voća	3
1.2.1. Fenolni spojevi iz voća	3
1.2.1.1. Flavonoidi	3
1.2.1.1.1. Antocijani	5
1.2.1.2. Ne-flavonoidi	6
1.2.1.2.1. Fenolne kiseline	7
1.2.1.2.2. Lignani	8
1.2.1.2.3. Stilbeni	8
1.3. Avokado kao „super-voće“	8
1.4. Građa avokada	9
1.5. Nutritivni sastav ploda avokada	11
1.6. Proces dozrijevanja ploda	14
2. EKSPERIMENTALNI DIO	15
2.1. Materijal, kemikalije i uređaji	15
2.2. Priprema uzoraka i liofilizacija pripremljenih uzoraka avokada	15
2.3. Ekstrakcija liofiliziranih uzoraka avokada	18
2.4. Mjerenje koncentracija fitokemikalija spektrofotometrijskim metodama	21
2.4.1. Metoda određivanja ukupnih fenola	21
2.4.2. Metoda određivanja ukupnih flavonoida	23
3. REZULTATI	26
3.1. Rezultati određivanja ukupnih fenola	26
3.2. Rezultati određivanja ukupnih flavonoida	28
4. RASPRAVA	30
5. ZAKLJUČAK	32
6. LITERATURA	33

UVOD

Poznato je da voće obiluje bogatstvom antioksidansa, dijetalnih vlakana i fitokemikalija te da svojom bojom privlači pozornost, a teksturom, ugodnom aromom i slatkim okusom pruža nutritivno bogat i ukusan obrok. No, ne obiluje svo voće jednostavnim šećerima niti osobito oduševljava svojim mirisom i okusom, a primjer toga upravo je avokado. Avokado svojom energetsom vrijednošću nadmašuje većinu voća, jer sadrži pozamašan udio masti (15,4%), dok ostalo voće prednjači s udjelom ugljikohidrata. Također, avokado nema karakterističan miris niti je posebno ukusan, ali ovaj plod iako odstupa od prve asocijacije na riječ „voće“, pripada skupini voća. Cijenjen je zbog svog kvalitetnog nutritivnog profila, jedinstvene teksture i brojnih istraženih zdravstvenih dobrobiti koje posjeduje, a čak mu je dodana i kategorija „super-voća“. Zbog svega navedenog avokado je prepoznat diljem svijeta, stoga je njegova konzumacija posljednjih godina u znatnom porastu. Obzirom da predstavlja plod s izraženom biološkom aktivnošću, osim u prehrambenoj industriji koristi se i u farmaceutskoj, kozmetičkoj te brojnim drugim industrijama.

U ovom znanstvenom istraživanju saznajemo kako se mijenjaju količine antioksidansa (fenola i flavonoida) u plodu kada je on nedozreo i zreo te koji dijelovi avokada sadrže najveće količine ovih biološki važnih tvari, što nam daje uvid u potencijalna daljnja ispitivanja.

1. OPĆI DIO

1.1. Važnost voća u prehrani

Praćenje obrasca pravilne prehrane bogate fitokemikalijama, antioksidansima i dijetalnim vlaknima iz cjelovite biljne hrane pokazuje blagotvorne učinke na zdravlje ljudskog organizma, koji uključuju: poboljšanje sastava crijevne mikroflore, snižavanje povišenog LDL-kolesterola, smanjenje rizika prekomjernog debljanja i pretilosti, smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti, koronarne bolesti srca i smrtnosti, smanjenje rizika od nekih vrsta karcinoma, moždanog udara i dijabetesa tipa 2 te usporavanje simptoma starenja.¹ Najmanji rizik od smrtnosti zabilježen je kod unosa ≈5 porcija dnevno voća i povrća, ali iznad te razine rizik se nije dalje smanjivao. Pragovi smanjenja rizika od smrtnosti bili su dvije porcije dnevno za unos voća te tri porcije dnevno za unos povrća.²

Cjelovito voće je značajno zbog svoje vrlo niske do umjerene energetske gustoće, sadržaja vlakana te kao važni izvor nutrijenata (npr. kalija i vitamina C) i fitokemikalija (npr. polifenola i karotenoida) koji djeluju sinergijski kako bi se ostvario niz zdravstvenih dobiti.¹

Voće je podijeljeno u dvije skupine prema regulatornim mehanizmima koji su u osnovi procesa zrenja. Klimakterijsko voće, kao što su avokado, banana, jabuka, kruška, rajčica i dinja, dozrijeva nakon što je ubrano te je karakterizirano povećanom respiracijom i proizvodnjom etilena. S druge strane, ne-klimakterijsko voće, kao što su grožđe, limun, naranča i ananas, ne pokazuje značajne varijacije u brzini respiracije tijekom faze dozrijevanja, niti u sintezi etilena. To znači da se nakon berbe ne-klimakterijskom voću ne poboljšavaju organoleptička svojstva (okus, miris, boja itd.), dok klimakterijsko voće, kako dozrijeva nakon berbe, poprima bolja organoleptička svojstva.³

1.2. Fitokemikalije iz voća

Fitokemikalije su biološki aktivne biljne tvari iz voća, povrća, žitarica i druge biljne hrane, koje pružaju poželjne zdravstvene benefite. Biološki aktivna tvar se najčešće odnosi na spojeve koji nemaju nutritivnu vrijednost, ali imaju određeni utjecaj na zdravlje. Možemo definirati biološki aktivne tvari kao prirodne nenutritivne fiziološki aktivne sastojke hrane koji imaju određena funkcionalna svojstva u organizmu, djeluju kao pomoćna sredstva u sprječavanju i liječenju bolesti te poboljšavanju stanja organizma općenito.⁴

Fitokemikalije su od velikog interesa jer imaju veliki antioksidativni potencijal, a epidemiološka ispitivanja i ispitivanja na životinjama pokazuju da redovita konzumacija voća, povrća i cjelovitih žitarica smanjuje rizik od raznih bolesti povezanih s oksidativnim oštećenjem. Među fitokemikalijama koje se spominju kao potencijalno korisne za zdravlje spadaju fenolne kiseline, flavonoidi, izoflavonoidi, antocijanidini, fitoestrogeni, terpenoidi, karotenoidi, limonidi, fitosteroli, glukozinolati i vlakna.⁵

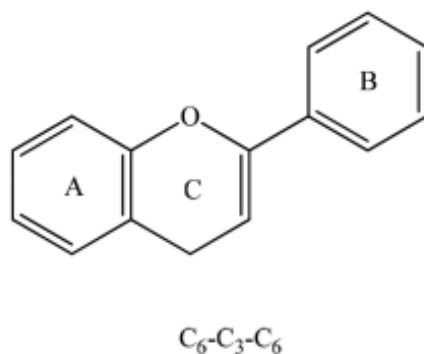
1.2.1. Fenolni spojevi iz voća

Fenolne fitokemikalije najveća su kategorija fitokemikalija i najšire rasprostranjene u biljnom carstvu. Dvije najvažnije skupine fenola u ishrani su flavonoidi i fenolne kiseline. Flavonoidi su najveća skupina biljnih fenola te ujedno i najviše proučavana. Kvantificiranje unosa fenolnih fitokemikalija otežano je zbog velikog broja fenolnih fitokemikalija i čimbenika koji utječu na njihov sadržaj, a to su: sorta, zrelost, uvjeti uzgoja (gnojidba, temperatura, grabežljivci, svjetlost i voda), ispitivani dijelovi biljke, prerada i skladištenje.⁶

1.2.1.1. Flavonoidi

Flavonoidi su polifenoli biljnog podrijetla koji su među najvažnijim spojevima u ljudskoj prehrani zbog svoje rasprostranjenosti u hrani i pićima. Mogu se pojaviti u slobodnom obliku (aglikoni) i kao glikozidi, a razlikuju se po svojim supstituentima

(vrsta, broj i položaj) i po zasićenosti. Svi flavonoidi dijele osnovnu C₆-C₃-C₆ fenil-benzopiransku okosnicu.⁷ Općenito, hidroksil, metoksil, metil, izopentenil, metilendioksil, benzil, nitro skupine itd., mogu biti supstituirani na prstenu A i/ili B (slika 1).⁸ Najčešći pripadnici su flavoni, flavonoli, flavanoni, katehini, izoflavoni i antocijanidini, koji čine oko 80% flavonoida.⁷

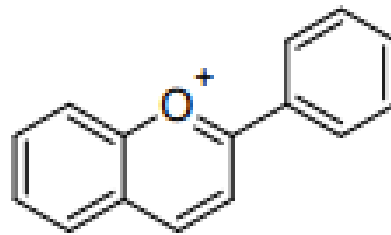


Slika 1. Osnovna struktura flavonoida⁸

Široko su rasprostranjeni u korijenu, stabljici, lišću, cvjetovima i plodovima stablašica i paprati. Zbog posebne kemijske strukture, flavonoidi imaju širok spektar fizioloških i biokemijskih učinaka na stanice sisavaca i drugih vrsta životinja. Također, posjeduju jaku kemijsku reaktivnost. Na primjer, neki flavonoidi imaju antioksidativno djelovanje jer brane organizam od slobodnih radikala. Nadalje, flavonoidi posjeduju različita farmakološka djelovanja: inhibicija aktivnosti enzima, antitumorska aktivnost, antivirusna aktivnost, protuupalna aktivnost itd. Potencijalni učinci liječenja i prevencije pokazali su se kod degenerativnih bolesti kao što su tumori, starenje i kardiovaskularne bolesti. Osim toga, neki spojevi flavonoida imaju potencijalne izgleda za primjenu kao slabi hormoni u liječenju menopauzalnog sindroma kod žena.⁸

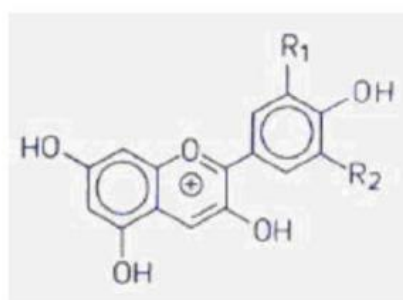
1.2.1.1.1. Antocijani

Antocijani su općenito prihvaćeni kao najveća i najvažnija skupina vodotopivih pigmentata u prirodi. Pripadnici su obitelji spojeva poznatih kao flavonoidi, ali se razlikuju od ostalih flavonoida zbog svoje sposobnosti da tvore flavijeve katione (slika 2). Oni su zaslužni za plavu, ljubičastu, crvenu i narančastu boju brojnog voća i povrća. Glavni izvori antocijana su borovnice, trešnje, maline, jagode, crni ribiz, crveno grožđe i crno vino.⁹



Slika 2. Flavijev kation¹⁰

Antocijanidini (aglikoni) se najčešće nalaze u prirodi kao soli njihovih glikozidnih oblika, poznati kao antocijani.⁹ U prirodi postoji oko 17 antocijanidina, ali samo šest (cijanidin, delphinidin, petunidin, peonidin, pelargonidin i malvidin, pri čemu je cijanidin najčešći) je široko rasprostranjeno i od velike je važnosti u ljudskoj prehrani (slika 3).¹⁰



Antocijanidini	R ₁	R ₂
Pelargonidin	H	H
Cijanidin	OH	H
Delphinidin	OH	OH
Peonidin	OCH ₃	H
Petunidin	OH	OCH ₃
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃

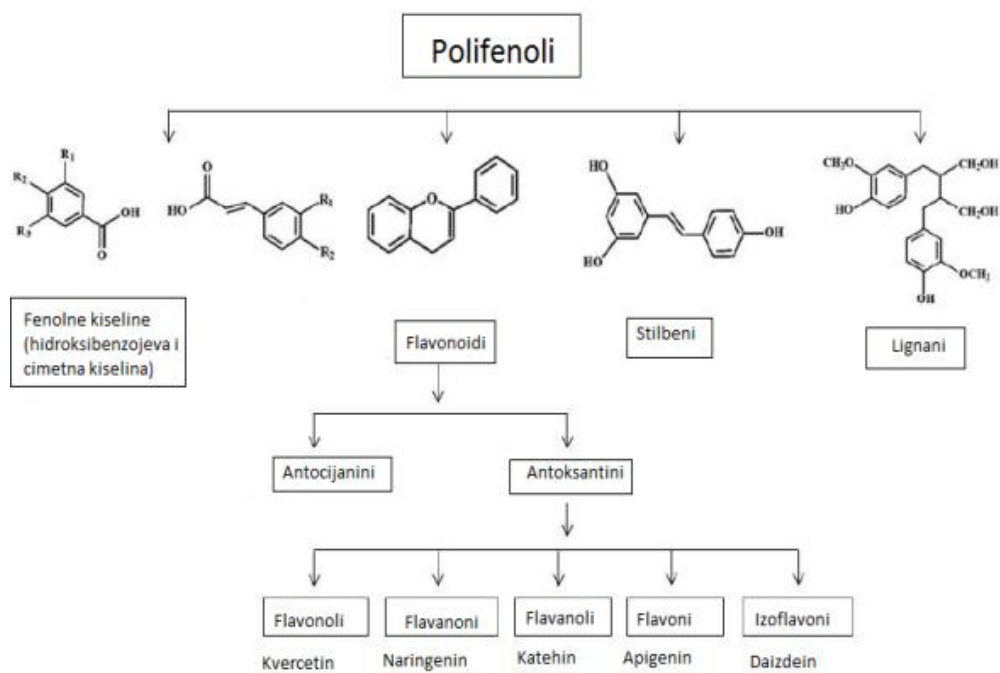
Slika 3. Strukture glavnih antocijanidina¹¹

Zdravstvene dobrobiti antocijana dijelom su zaključene iz njihovih antioksidativnih svojstava. Nedavne studije provedene su kako bi se razjasnili dodatni molekularni mehanizmi uključeni u pozitivne benefite polifenola. Na primjer, francuski paradoks povezuje nisku učestalost koronarne bolesti srca kod Francuza unatoč prehrani bogatoj masnoćama s redovitom konzumacijom crnog vina. Konačno, zdravstvene dobrobiti koje potiče konzumacija voća i povrća ne objašnjavaju se djelovanjem jednog spoja ili molekule. Mješavina fitokemikalija sadržana u biljkama može zajednički istovremeno djelovati kako bi se ostvarile zdravstvene dobrobiti.¹²

1.2.1.2. Ne-flavonoidi

Fenolni spojevi mogu se podijeliti u dvije glavne grupe: flavonoide (antocijanini, antoksanini) i ne-flavonoide (fenolne kiseline, stilbeni, lignani) (slika 4). Posjeduju jednu ili više hidroksilnih skupina (-OH) izravno povezanih s aromatskim sustavom (npr. fenil, naftil).¹³ Ovi spojevi se nalaze u kombinaciji s mono- i polisaharidima, povezani s jednom ili više fenolnih skupina, ili se mogu pojaviti kao derivati, poput estera ili metil estera. Među nekoliko klasa fenolnih spojeva, fenolne kiseline i flavonoidi smatraju se glavnim prehranbenim fenolnim spojevima. Mnoga istraživanja pokazala su snažnu i pozitivnu korelaciju između sadržaja fenolnih spojeva i antioksidativnog potencijala voća i povrća.¹⁴

Iako postoji veliki izbor biljnih fenola, većina ovih spojeva potječe iz zajedničkog podrijetla: aminokiseline fenilalanin ili tirozin. Najveći broj biljnih fenola uključuju: cimetne kiseline (C_6-C_3), benzojeve kiseline (C_6-C_1), flavonoidi ($C_6-C_3-C_6$), proantocijanidini [$(C_6-C_3-C_6)_n$], kumarini (C_6-C_3), stilbeni ($C_6-C_2-C_6$), lignani ($C_6-C_3-C_3-C_6$) i lignini [$(C_6-C_3)_n$].¹⁵



Slika 4. Podjela polifenola na temelju njihovih kemijskih struktura i primjeri¹⁶

Fenoli mogu djelovati kao antioksidansi na više načina. Fenolne hidroksilne skupine su dobri donatori vodika: antioksidansi koji daju vodik mogu reagirati s reaktivnim kisikom i reaktivnim vrstama dušika u reakciji terminacije, koja prekida ciklus stvaranja novih radikala. Antioksidativni kapacitet fenolnih spojeva također se pripisuje njihovoj sposobnosti da keliraju metalne ione koji su uključeni u proizvodnju slobodnih radikala.¹⁵

1.2.1.2.1. Fenolne kiseline

Fenolne se kiseline mogu obilno pronaći u hrani i generalno se dijele na derivate benzoične te derivate cinaminske (ili cimetne) kiseline. Razina hidroksibenzoične kiseline je u jestivim biljkama relativno niska (osim u određenog crvenog voća, crne rotkvice i luka, koji mogu imati koncentracije i do nekoliko desetina miligrama po kilogramu svježe mase). Hidroksicinaminske su kiseline češće od hidroksibenzoičnih te

se poglavito sastoje od *p*-kumarinske, kafeinske, ferulične i sinapinske kiseline. One se rijetko nalaze u slobodnom obliku (osim u procesiranoj hrani), a u vezanom su obliku glikozilirani oblici ili esteri kviniske, šikiminske i tartarne kiseline. Voće koje ih sadrži najviše su borovnice, kivi, šljive, višnje i jabuke.¹⁷

1.2.1.2.2. Lignani

Lignani su difenolni spojevi koji sadrže 2,3-dibenzilbutansku strukturu načinjenu dimerizacijom dviju cinaminskih kiselina i za neke se smatra da su fitoestrogeni. Hrana koja je najbogatija ligninima uljane su sjemenke (poglavito lanene, koje najviše sadrže navedeni spoj). Ostale sjemenke, žitarice, leguminoze (leća), voće (kruške, suhe šljive) i određeno povrće (češnjak, šparoge, mrkve) također sadrže lignine u tragovima, no oni su minorni izvori lignina u prehrani jer je njihova koncentracija u lanenim sjemenkama približno tisuću puta veća nego u ostalim izvorima hrane.¹⁷

1.2.1.2.3. Stilbeni

Stilbeni sadrže dva fenilna dijela spojena metilenskim mostom od dva ugljikova atoma. Njihova je pojavnost u ljudskoj prehrani prilično niska. Većina stilbena u biljkama funkcioniraju kao antifungalni fitoaleksini, odnosno molekule koje se sintetiziraju samo u odgovoru na ozljede ili infekcije. Najbolje proučavani stilben je resveratrol, kojeg se najviše može pronaći u grožđu i crvenom vinu. Unatoč tome što su mu dokazana antikarcinogena svojstva, resveratrol se u prehrani nalazi u toliko niskim količinama da je malo vjerojatno da on doista ima zaštitni učinak na ljudsko zdravlje.¹⁷

1.3. Avokado kao „super-voće“

Izraz „super-voće“ u posljednje je vrijeme dobio sve veću upotrebu i pozornost s marketinškom strategijom za promicanje izvanrednih zdravstvenih prednosti nekog egzotičnog voća, koje možda nema svjetsku popularnost. To je dovelo do mnogih studija s identifikacijom i kvantificiranjem različitih skupina fitokemikalija. U „super-voće“ spadaju acai bobice, goji bobice, camu-camu, a među ostalim i avokado (slika 5).

Ovo „super-voće“ s brojnim fitokemikalijama (fenolne kiseline, flavonoidi, proantocijanidini, iridoidi, kumarini, tanini, karotenoidi i antocijanini) zajedno s odgovarajućim antioksidativnim djelovanjem, sve je više zastupljeno u ljudskoj prehrani. Stoga, ovo „super-voće“ se može smatrati vrijednim izvorom funkcionalne hrane zbog fitokemijskog sastava i odgovarajućih antioksidativnih aktivnosti. Fitokemikalije iz „super-voća“ biorasplošive su ljudskom organizmu s obećavajućim zdravstvenim dobrobitima.¹⁸



Slika 5. Plod avokada¹⁹

1.4. Građa avokada

Avokado (*Persea americana* Mill.) je tropsko i suptropsko voće koje potječe iz Meksika i Srednje Amerike. Meksiko uzgaja više od 30% avokada diljem svijeta, predstavljajući glavnog proizvođača i izvoznika avokada, koji je postao usjev od velikog interesa i ima veliki gospodarski utjecaj na Meksiko.²⁰

Avokado je najvažnije i jedino jestivo voće iz obitelji *Lauraceae* (lovorovke) i ima veliku komercijalnu vrijednost. Rod *Persea* ima više od 150 vrsta, od kojih 70 vrsta raste u toplim područjima Amerike.²⁰

Stablo avokada je zimzeleno i visoko te može doseći visinu i do 20 m (slika 6). Svako stablo može proizvesti do milijun cvjetova, iako se samo jedan od tisuću cvjetova pretvara u plod, a jedno stablo može proizvesti do tisuću avokada u godini. Cvjetovi se pojavljuju u grozdovima i imaju posebnost otvaranja u različito vrijeme: prvo kao ženski cvijet, a kasnije kao muški, čime se izbjegava samooplodnja. Stablo avokada može rasti u područjima s različitim uvjetima, ovisno o sorti; u blagim zimskim uvjetima; suhim suptropskim i mediteranskim klimama; i u hladnim visinskim tropskim područjima, ali ne u pustinjским uvjetima.²⁰

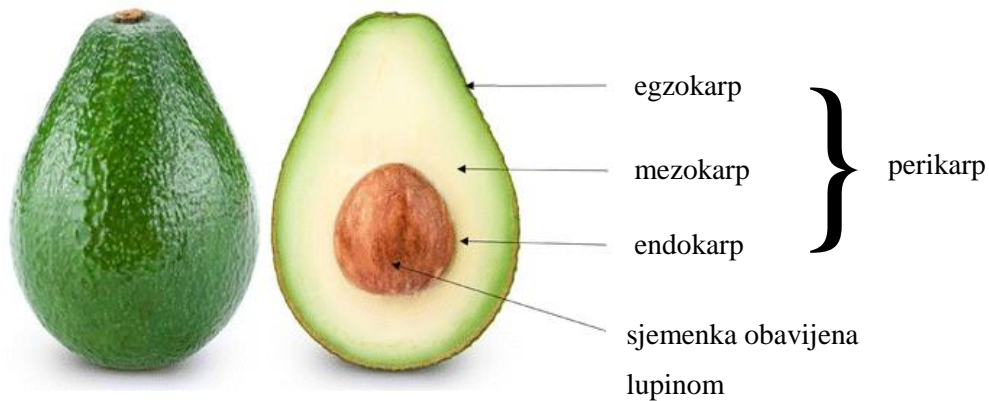


Slika 6. Stablo avokada²¹

Masa ploda avokada može varirati od 120 g, pa sve do 2,5 kg. U svijetu postoje brojne sorte avokada, prema podneblju u kojem rastu, različitih oblika, okusa, teksture, boje i mirisa, a najpoznatije i najprodavanije vrste su sorte Hass i Fuerte.²⁰

Plod avokada je kruškolikog, ovalnog ili gotovo okruglog oblika, može biti dug 7,5 – 33 cm i širok do 15 cm. Koža ili kora (egzokarp) može biti žutozelene, tamnozeleno, crvenkasto ljubičaste boje ili toliko tamnoljubičasta da izgleda gotovo crno i ponekad je prošarana sitnim žutim točkicama. Sjemenka ploda sadrži vrlo tanku ljusku, lupinu koja obavija sjemenku. Endokarp je tanki unutarnji sloj ploda koji se nalazi između pulpe i

sjemenke. Kada je sjemenka zrela, doima se kao da endokarp stvara film na njoj, dajući joj smrznuti ili bjelkasti izgled.²⁰ Pulpa (mezokarp) avokada izvrstan je izvor makro i mikronutrijenata, a karakteriziran je po tome što sadrži bioaktivne lipide koji su dobili povećan znanstveni interes zbog njihove potencijalne zdravstvene primjene (slika 7).²²



Slika 7. Sastav perikarpa ploda avokada²³

1.5. Nutritivni sastav ploda avokada

Avokado je poznat po kvalitetnom nutritivnom sadržaju (tablica 1) i zdravstvenim prednostima, koje su u osnovi posljedica izvora hranjivih tvari topivih u mastima i fitokemikalija.²⁰

Istraživanja pokazuju da prehrambeni sastav pulpe avokada ima sadržaj vlage u rasponu od 67 do 78%, sadržaj lipida u rasponu od 12 do 24%, sadržaj ugljikohidrata u rasponu od 0,8 do 4,8%, sadržaj proteina u rasponu od 1,0 do 3,0%, udio pepela u rasponu od 0,8 do 1,5%, sadržaj vlakana u rasponu od 1,4 do 3,0% i energije između 140 i 228 kcal po avokadu. Sastav avokada ili bilo kojeg drugog voća ovisi o sorti, stupnju zrenja, klimi, sastavu tla i gnojiva.²⁰

Tablica 1. Nutritivni sastav pulpe avokada

Nutrijent/fitokemikalija	Mjera	Vrijednost na 100 g
Voda	g	72,3
Energija	kcal	167
Proteini	g	1,96
Ukupni lipidi	g	15,4
Pepeo	g	1,66
Ugljikohidrati	g	8,64
Vlakna	g	6,8
Šećeri	g	0,3

Sadržaj lipida jedan je od najvažnijih faktora u avokadu budući da sadrži veliku količinu ulja u odnosu na drugo voće i bogat je polarnim lipidima, kao što su glikolipidi i fosfolipidi, koji su važni u različitim staničnim procesima u staničnoj membrani, kao i mononezasićenim masnim kiselinama koje su učinkovite u smanjenju razine nepoželjnih lipoproteina niske gustoće (LDL) u krvi i povećanju razine korisnog lipoproteina visoke gustoće (HDL).²⁰

Sadržaj minerala u avokadu uključuje obilnu količinu kalija, fosfora, magnezija, kalcija i drugih minerala, uključujući željezo i cink, koji se pojavljuju u količinama manjim od 1 mg po gramu svježe mase avokada. Još jedna bitna prednost avokada je prisutnost vitamina, kao što su vitamin E, askorbinska kiselina, tiamin, riboflavin, niacin, piridoksin i folna kiselina, te prekursora vitamina A (β -karoten) koji su od velike važnosti za cjelokupno zdravlje.²⁰

Obično se ostaci avokada (koža, lupina sjemenke i sjemenka) ne koriste i odlažu se kao otpad, što predstavlja ozbiljan ekološki problem. Ostaci avokada predstavljaju potencijalan izvor bioaktivnih spojeva koji sadrže više fenolnih spojeva i nekoliko puta veći antioksidativni kapacitet od borovnica, koje su poznate po svom visokom antioksidativnom kapacitetu. Druga primjena ostataka avokada je ekstrakcija ulja,

eteričnih ulja i vlakana, koji su trenutno vrlo traženi sastojci za proizvodnju hrane i drugih proizvoda.²⁰

Bioaktivni spojevi iz biljaka uglavnom potječu iz sekundarnih metaboličkih procesa. Koža, lupina sjemenke i sjemenka avokada su bogati složenom mješavinom polifenolnih spojeva, kao što je katehin, kao i visokopolimernih spojeva, poput proantocijanidina. Pokazalo se da ostaci avokada sadrže fenolne spojeve, kao što su glikozidi kvercetina, procijanidini, katehin i drugi.²⁰

1.6. Proces dozrijevanja ploda

Razvoj ploda avokada može se podijeliti u dva različita, lako prepoznatljiva procesa: sazrijevanje ploda, što je proces rasta koji se odvija na stablu, od 20 do 60 tjedana nakon oprašivanja; i dozrijevanje nakon berbe, koje se sastoji od omekšavanja mezokarpa i poboljšanja organoleptičkih svojstava. Za razliku od većine voća, kod kojih postoji početna faza diobe stanica nakon čega slijedi rast stanica, u plodu avokada dioba stanica ostaje aktivna do posljednje faze sazrijevanja.²²

Budući da je avokado klimakterijsko voće, nakon branja, tijekom dozrijevanja, opažena je povećana respiracija, zajedno s proizvodnjom etilena, što signalizira najdrastičnije fizikalno-kemijske promjene (slika 8). Naime, tijekom sazrijevanja ploda, a ne tijekom dozrijevanja, sintetiziraju se lipidi, posebice masne kiseline i triacilgliceroli, do te mjere da se sadržaj ulja uzima kao mjera zrelosti ploda, ali ne i faza zrenja.²²



Slika 8. Izgled avokada u različitim fazama dozrijevanja²⁴

Stupanj zrelosti plodova uvelike utječe na količinu fenolnih spojeva. Razgradnja nekih fenolnih spojeva može biti brža ili sporija od biosinteze drugih fenolnih spojeva.

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Materijal, kemikalije i uređaji

Kao biljni materijal u ovom eksperimentalnom radu korišten je zreli i nezreli avokado (*Persea americana* Mill.) iz porodice *Lauraceae*. Zreli i nezreli plod kupljeni su u dvjema različitim trgovinama u gradu Splitu krajem veljače 2022. godine.

Svi korišteni reagensi i otapala bili su potrebne analitičke čistoće, a oni su: Folin-Ciocalteu reagens (BHD Prolabo, Ujedinjeno Kraljevstvo), natrijev karbonat (GRAM-MOL d.o.o., Zagreb, Hrvatska), galna kiselina (Acros Organics, New Jersey, SAD), natrijev nitrit (Kemika, Zagreb, Hrvatska), aluminijev klorid (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Njemačka), natrijev hidroksid (T.T.T. d.o.o., Sv. Nedjelja, Hrvatska), rutin (Sigma Aldrich GmbH, St. Louis, Missouri, SAD), metanol (AnalaR NORMAPUR, Leuven, Belgija) i etanol (GRAM-MOL d.o.o., Zagreb, Hrvatska).

U ovom eksperimentalnom radu korišteni su sljedeći uređaji: štapni mikser (Philips ProMix, Kina), liofilizator (Labconco, SAD), kuhinjski blender (Gorenje, Slovenija), treskalica (Orbital Shaker, model ES-20, BioSan, Njemačka), centrifuga (model NF 1200R, Nuve, Turska), rotacioni vakuum uparivač (model Laborota 4000 efficient, Heidolph, Njemačka) te spektrofotometar (model SPECORD 200 Plus, Edition 2010, AnalytikJena AG, Jena, Njemačka).

2.2. Priprema uzoraka i liofilizacija pripremljenih uzoraka avokada

Korišteni biljni materijal (zreli i nezreli avokado) odvoji se u zasebne dijelove (koža, pulpa, lupina sjemenke i sjemenka) (slika 9) te usitni štapnim mikserom i stavi u zamrzivač na temperaturu od -20 °C.



Slika 9. Odvojeni dijelovi avokada

Naknadno se pripremljeni uzorci stavljaju na liofilizaciju, prije postupka ekstrakcije. Liofilizacijom (slika 10) se uklanja voda procesom sublimacije kristala leda iz smrznutog materijala. Liofilizacija se primjenjuje kod uzoraka koji su termolabilni, odnosno osjetljivi na visoke temperature. Liofilizacija ili sušenje zamrzavanjem je proces u kojem se voda zamrzava, nakon čega slijedi njezino uklanjanje iz uzorka, prvo sublimacijom (primarno sušenje), a zatim desorpcijom (sekundarno sušenje).²⁵ Uvjeti liofilizacije u ovom radu bili su temperatura od $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ i tlak od $0,122\text{ mbar}$.



Slika 10. Uzorci na liofilizaciji

Nakon liofilizacije, dobiveni materijali se homogeniziraju uz pomoć kuhinjskog blendera kako bi se dobio prah kože, pulpe, lupine sjemenke i sjemenke (slika 11).



Slika 11. Osušeni prah kože nezrelog avokada

2.3. Ekstrakcija liofiliziranih uzoraka avokada

Homogenizirani dijelovi avokada korišteni su za dobivanje ekstrakata bogatih fenolnim spojevima maceracijom s 80%-tnom otopinom etanola (1:15) (slika 12), inkubirani 20 h na 40 °C pomoću treskalice, a zatim centrifugirani na 7500 o/min tijekom 10 minuta na 4 °C.²⁶

Ekstrakcija uključuje odvajanje biološki aktivnih komponenti iz uzoraka avokada korištenjem selektivnih otapala. Maceracija je jedna od metoda ekstrakcije u kojoj se cijela ili grubo usitnjena tvar stavlja u posudu s otapalom, zatvori te ostavi stajati na sobnoj temperaturi tijekom razdoblja od najmanje tri dana uz često miješanje dok se topiva komponenta ne otopi.²⁷



Slika 12. Etanolne otopine prije stavljanja na inkubaciju

Centrifugiranje se koristi za odvajanje svih vrsta čestica na temelju njihovih brzina taloženja (slika 13). Brzina sedimentacije čestica ovisi o nizu različitih čimbenika uključujući veličinu, gustoću i oblik čestica. Međutim, i gustoća i oblik značajno variraju ovisno o sastavu otopine u kojoj su čestice suspendirane.²⁸



Slika 13. Uzorci nakon centrifugiranja

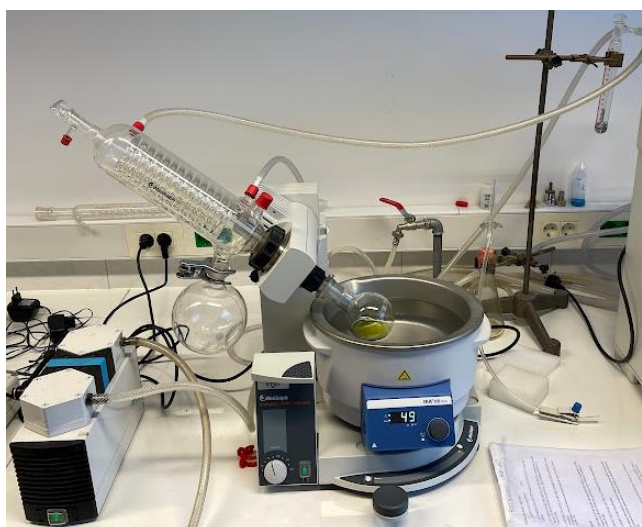
Nakon centrifugiranja ekstrakti se filtriraju (slika 14) kako bi se odvojila tekućina od istaloženih čestica (slika 15), a etanol se uklanja pomoću rotacionog uparivača pod vakuumom na 45 °C (slike 16 i 17). Princip rada rotacionog uparivača jest da se vrelište tekućina snižava smanjenjem njihovog tlaka. To omogućuje brže isparavanje otapala na nižim temperaturama nego što bi se to odvijalo u normalnoj atmosferi.



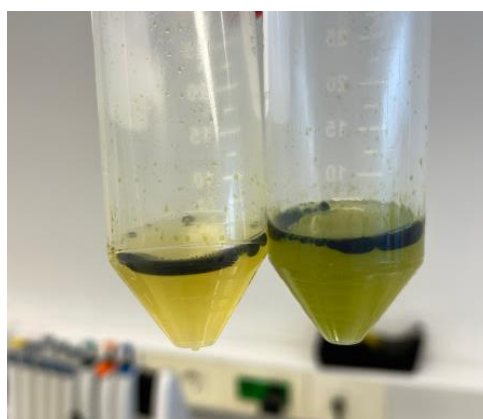
Slika 14. Filtracija uzorka nakon centrifugiranja



Slika 15. Uzorci nakon filtracije



Slika 16. Uklanjanje etanola rotacionim vakuum uparivačem



Slika 17. Uzorci nakon uparavanja vakuumom (uklanjanje etanola iz uzoraka)

Konačno, uzorci se ponovno podvrgavaju postupku liofilizacije (uvjeti -50 °C i tlak od 0,122 mbar) nakon kojeg su spremni za ostale postupke određivanja fenola i flavonoida spektrofotometrijskim metodama.

2.4. Mjerenje koncentracija fitokemikalija spektrofotometrijskim metodama

Spektrofotometrija je eksperimentalna tehnika koja se koristi za mjerenje koncentracije otopljenih tvari u specifičnoj otopini izračunavanjem količine svjetlosti koju apsorbiraju te otopljene tvari. Određeni će spojevi apsorbirati različite valne duljine svjetlosti pri različitim intenzitetima. Analizirajući svjetlost koja prolazi kroz otopinu, možemo identificirati određene otopljene tvari u otopini te odrediti kolika je njihova koncentracija.²⁹

2.4.1. Metoda određivanja ukupnih fenola

Ukupni fenoli određeni su spektrofotometrijskom metodom po Folin-Ciocalteu. Metoda se temelji na oksidaciji fenolnih grupa dodatkom Folin-Ciocalteu reagensa, pri čemu nastaje plavo obojenje čiji je intenzitet direktno proporcionalan udjelu fenolnih spojeva uzorku. Mjerenja se provode na valnoj duljini od 765 nm.³⁰

Reagensi:

- Folin-Ciocalteu reagens
- Otopina natrijeva karbonata, w (Na_2CO_3) = 20%
- Matična otopina galne kiseline, c = 5000 mg/L

Postupak:

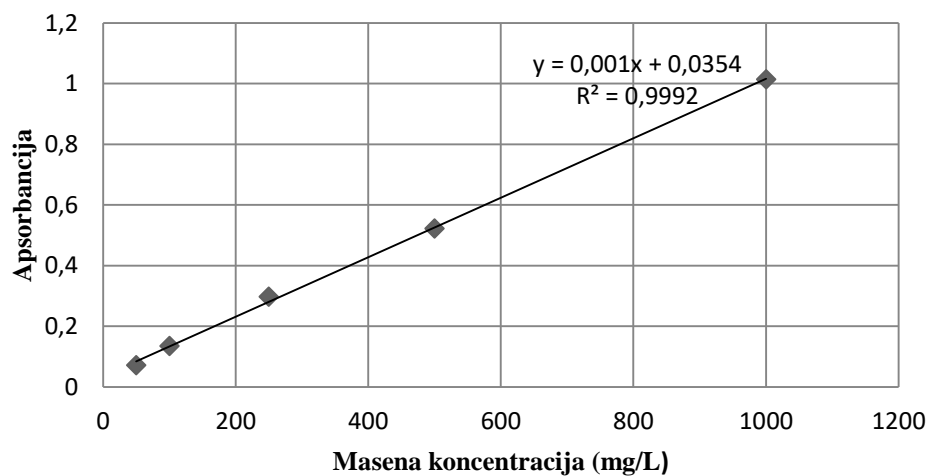
U kivetu se otpipetira 25 μL uzorka, 1,975 mL destilirane vode i 125 μL Folin - Ciocalteu reagensa te se smjesi nakon 5 minuta doda 375 μL otopine natrijevog karbonata. Otopina se ostavi stajati 2 h u mraku nakon čega joj se očita apsorbancija. Rezultati sadržaja ukupnih fenola u biljnim uzorcima se izračunaju preko jednadžbe baždarnog pravca, a rezultati se izražavaju u mg ekvivalenta galne kiseline po 1 L ekstrakta (mg GAE/L).

Za izradu baždarnog pravca testiraju se otopine galne kiseline koncentracija od 50 do 1000 mg/L. (tablica 2)

Tablica 2. Odnos koncentracije galne kiseline i apsorbancije pri 765 nm korišten za izradu baždarnog pravca za određivanje ukupnih fenola

Koncentracija galne kiseline (mg/L)	Apsorbancija (765 nm)
1000	1,0139 \pm 0,0403
500	0,52188 \pm 0,0389
250	0,29722 \pm 0,0244
100	0,1351 \pm 0,0091
50	0,0715 \pm 0,0042

Galna kiselina



Slika 18. Baždarni pravac galne kiseline korišten za određivanje ukupnih fenola

2.4.2. Metoda određivanja ukupnih flavonoida

Koncentracija ukupnih flavonoida u ekstraktima određena je korištenjem kolorimetrijske metode kod koje su kao reagensi korišteni aluminijev klorid i natrijev nitrit. Intenzitet nastalog žutog obojenja mjeri se pri valnoj duljini od 510 nm.³¹

Reagensi:

- otopina natrijeva nitrita, w (NaNO₂) = 5%:
- otopina aluminijeva klorida, w (AlCl₃) = 10%
- otopina NaOH, c (NaOH) = 1 mol/L

Postupak:

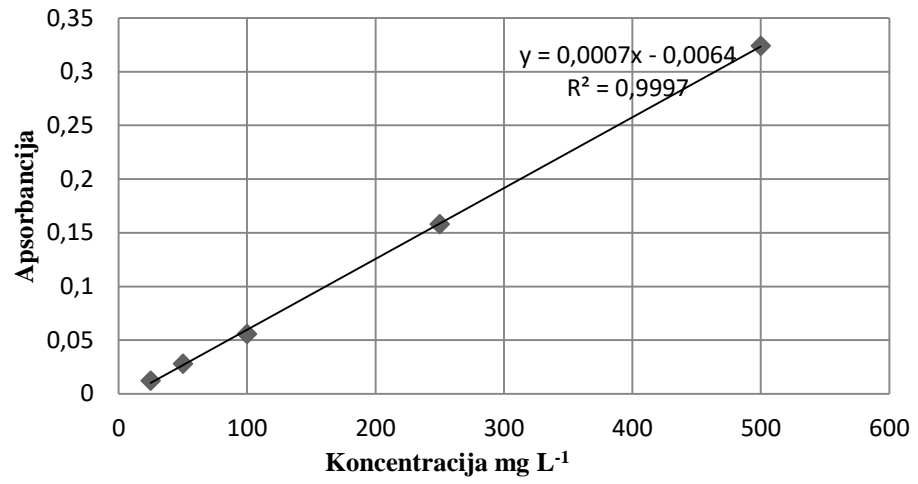
U kivetu se otpipetira 250 μL uzorka, 1,525 mL vode i 75 μL otopine NaNO_2 . Otopina se ostavi 6 minuta nakon čega se doda 150 μL AlCl_3 i ponovno ostavi da odstoji 5 minuta. Zatim se doda 500 μL otopine NaOH i 775 μL destilirane vode kako bi ukupni volumen smjese bio 3 mL. Apsorbancija uzoraka se mjeri odmah po dodatku vode. Količina flavonoida u uzorcima se izračuna preko jednadžbe baždarnog pravca, a rezultati se izražavaju u mg rutina po 1 L ekstrakta (mg RE/L).

Za izradu baždarnog pravca testiraju se otopine rutina različitih koncentracija, od 25 do 500 mg/L prema opisanom postupku. (tablica 3)

Tablica 3. Odnos koncentracije rutina i apsorbancije pri 510 nm korišten za izradu baždarnog pravca za određivanje ukupnih flavonoida

Koncentracija rutina (mg/L)	Apsorbancija (510 nm)
500	$0,32414 \pm 0,002788$
250	$0,1581 \pm 0,002794$
100	$0,05574 \pm 0,003562$
50	$0,02812 \pm 0,000785$
25	$0,01214 \pm 0,000462$

Rutin



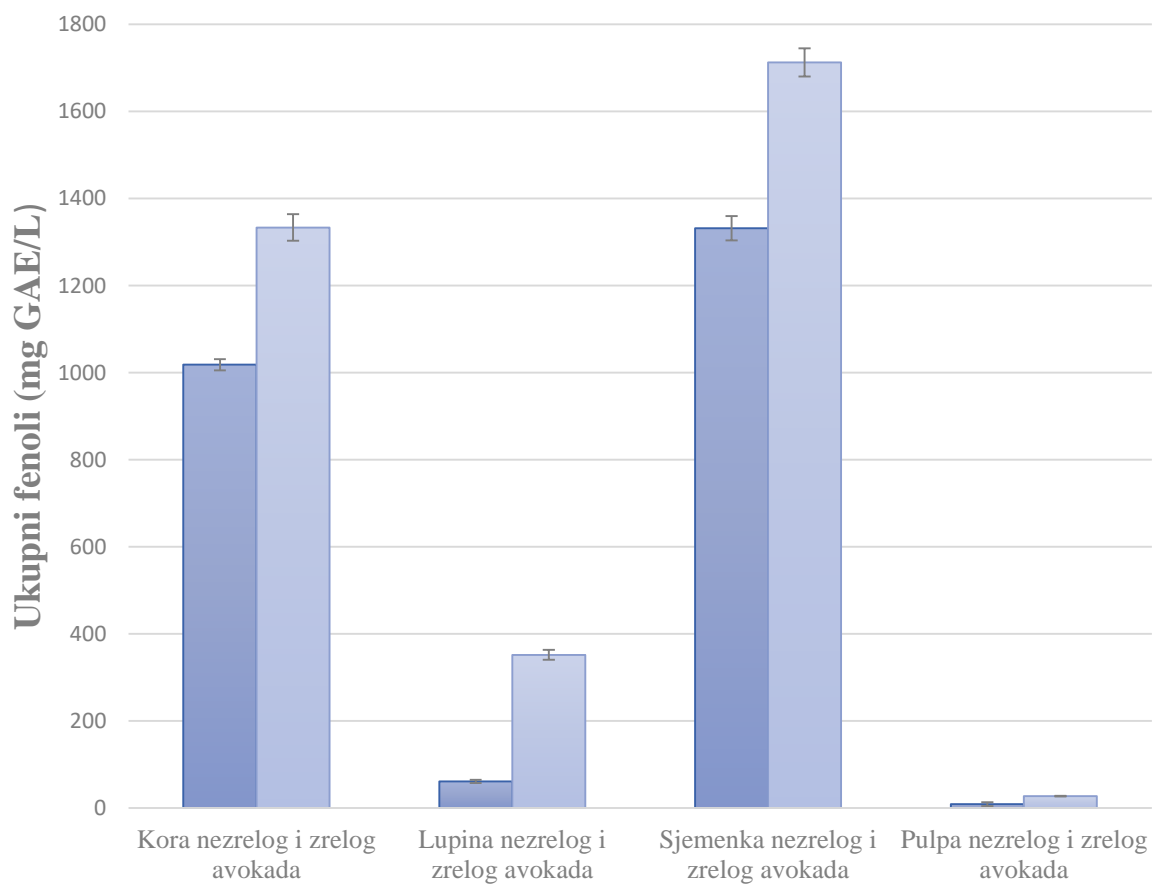
Slika 19. Baždarni pravac za rutin korišten za određivanje ukupnih flavonoida

3. REZULTATI

3.1. Rezultati određivanja ukupnih fenola

Tablica 4. Rezultati određivanja količine ukupnih fenola u različitim dijelovima nezrelog i zrelog avokada

Dijelovi nezrelog i zrelog avokada	Koncentracija ukupnih fenola (mg GAE/L ekstrakta)
kora nezrelog avokada	1018,6±12,8797
kora zrelog avokada	1333,63±30,5837
lupina sjemenke nezrelog avokada	61,33±3,6882
lupina sjemenke zrelog avokada	352±11,6095
sjemenka nezrelog avokada	1331,98±28,1405
sjemenka zrelog avokada	1712,65±32,4972
pulpa nezrelog avokada	9,08±4,3745
pulpa zrelog avokada	27,35±0,8888

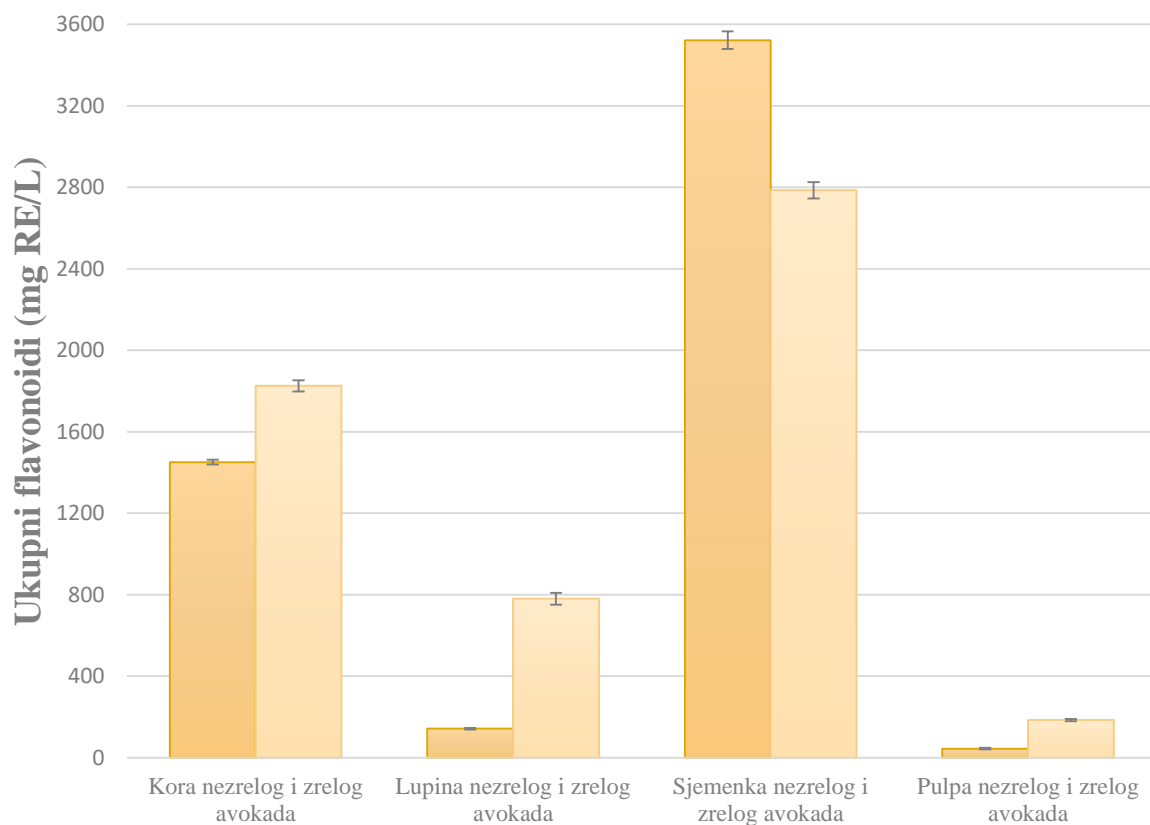


Slika 20. Usporedni grafički prikaz rezultata sadržaja ukupnih fenola u ekstraktima različitih dijelova nezrelog i zrelog avokada

3.2. Rezultati određivanja ukupnih flavonoida

Tablica 5. Rezultati određivanja količine ukupnih flavonoida u različitim dijelovima nezrelog i zrelog avokada

Dijelovi nezrelog i zrelog avokada	Koncentracija ukupnih flavonoida (mg RE/L ekstrakta)
kora nezrelog avokada	1451,34±11,0601
kora zrelog avokada	1825,48±27,4547
lupina sjemenke nezrelog avokada	142,4±3,6563
lupina sjemenke zrelog avokada	780,57±28,9147
sjemenka nezrelog avokada	3522,67±42,8198
sjemenka zrelog avokada	2785,89±40,2498
pulpa nezrelog avokada	44,29±3,7897
pulpa zrelog avokada	184,89±5,3288



Slika 21. Usporedni grafički prikaz rezultata sadržaja ukupnih flavonoida u ekstraktima različitih dijelova nezrelog i zrelog avokada

4. RASPRAVA

Zadatak ovog završnog rada bio je odrediti sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima različitih dijelova ploda nezrelog i zrelog avokada (*Persea americana* Mill.).

Rezultati određivanja ukupnih fenola ukazuju na različitosti u količini ekstrahiranih fenolnih spojeva među istraživanim ekstraktima. Ukupni fenoli određeni su metodom po Folin-Ciocalteu, a izraženi su u miligramima ekvivalenata galne kiseline po litri ekstrakta (mg GAE/L) (slika 19).

Najveća količina ukupnih fenola u ekstraktima različitih dijelova nezrelog i zrelog avokada, pod čime se misli na pulpu, kožu, lupinu sjemenke i sjemenku, pronađena je u ekstraktu sjemenke zrelog avokada (1712,65 mg GAE/L). Nešto niže koncentracije zabilježene su ekstraktima sjemenke nezrelog te kore zrelog i nezrelog avokada, a još niže u ekstraktima lupine sjemenke zrelog i nezrelog avokada. Najniža koncentracija ukupnih fenola zabilježena je u pulpi avokada, i to nezrelog (9,08 mg GAE/L). Ono što se može primijetiti kod svakog zasebno odvojenog dijela avokada jest to da su ekstrakti zrelih dijelova bogatiji ukupnim fenolima od nezrelih.

Rezultati određivanja ukupnih flavonoida također ukazuju na različitosti u količini ekstrahiranih flavonoidnih spojeva. Koncentracija ukupnih flavonoida u ekstraktima izražena je u miligramima ekvivalenata rutina po litri ekstrakta (mg RE/L) (slika 20).

Dobiveni rezultati ukazuju na to da je najviša koncentracija ukupnih flavonoida pronađena u sjemenki nezrelog avokada (3522,67 mg RE/L). Malo niža koncentracija zabilježena je kod sjemenke zrelog avokada. Više od dvostruko niže vrijednosti pronađene su u kori te lupini sjemenke zrelog i nezrelog avokada, a najniža vrijednost je ponovno pronađena u pulpi nezrelog avokada (44,29 mg RE/L). Ovdje ne možemo reći da su svi ekstrakti zrelih dijelova avokada bogatiji ukupnim flavonoidima od nezrelih, kao što je to bio slučaj za ukupne fenole.

Trenutno nedostaje komparativnih studija što se tiče proučavanja razlika između zrelog i nedozrelog ploda avokada ispitivanih na način kao u ovom radu, stoga kao

usporedna studija koristi se rad koji je mjerio koncentracije fenola i flavonoida na sličan način, ali nije uspoređivao njihove koncentracije u zreom i nedozreom plodu.

U studiji koja je proučavala koncentracije felnolnih spojeva u različitim dijelovima avokada najveća koncentracija ukupnih fenola zabilježena je u kori (koži) avokada, no i u sjemenki su zabilježene visoke vrijednosti.²⁶ U ovom eksperimentalnom radu kora avokada nalazi se odmah iza sjemenke avokada, kada se gleda koncentracija ukupnih fenola.

U usporednoj studiji, najveći sadržaj ukupnih flavonoida ponovno je zabilježen u kori avokada.²⁶ Također, i u ovom eksperimentalnom radu vidimo zabilježene visoke količine ukupnih flavonoida u kori avokada, u odnosu na pulpu i lupinu sjemenke avokada.

Iz ovih rezultata vidi se da koncentracija fitokemikalija sadržanih u plodu avokada u većini slučajeva raste, dozrijevanjem ploda, što bi značilo da je avokado poželjnije konzumirati kada je zreo, odnosno optimalne konzumne zrelosti, nego kada je još nedozreo. Također uočavamo da dijelovi ploda avokada koji se uglavnom ne konzumiraju u prehrani (koža, lupina sjemenke i sjemenka) sadrže znatno veće količine fitokemikalija od pulpe ploda, što potencijalno otvara prostor za ideje prehrambenim tehnologizima pri izradi novih proizvoda, bogatih antioksidansima koji imaju dokazano pozitivne učinke na ljudsko zdravlje.

5. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da plod avokada obiluje fitokemikalijama s važnim antioksidativnim svojstvima koja su iznimno bitna za čovjekovo zdravlje. Rezultati pokazuju:

- faza dozrijevanja ploda avokada, nakon berbe, uvelike utječe na količinu fitokemikalija (u ovom radu fenola i flavonoida) sadržanih u njemu
- kod svakog zasebno odvojenog dijela avokada ekstrakti zrelih dijelova bogatiji su ukupnim fenolima od nedozrelih dijelova, odnosno, dozrijevanjem količina ukupnih fenola u plodu avokada raste
- sjemenka avokada najviše obiluje ukupnim fenolima i flavonoidima u odnosu na ostale ispitivane dijelove
- pulpa avokada, kao dio koji se najviše konzumira u ljudskoj prehrani, je najsiromašnija ukupnim fenolima i flavonoidima
- dijelovi avokada koji se uglavnom ne konzumiraju u čovjekovoj prehrani (koža, lupina sjemenke i sjemenka) sadrže vrijedne količine fitokemikalija te mogu poslužiti kao obećavajući izvor za funkcionalnu hranu i nutraceutike

6. LITERATURA

1. Dreher ML. Whole Fruits and Fruit Fiber Emerging Health Effects. *Nutrients*. 2018 Nov 28;10(12):1833.
doi:10.3390/nu10121833
2. Wang DD, Li Y, Bhupathiraju SN, Rosner BA, Sun Q, Giovannucci EL, Rimm EB, Manson JE, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Fruit and Vegetable Intake and Mortality: Results From 2 Prospective Cohort Studies of US Men and Women and a Meta-Analysis of 26 Cohort Studies. *Circulation*. 2021 Apr 27;143(17):1642-1654.
doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048996
3. Tripathi, K., Pandey, S., Malik, M. and Kaul, T. (2016) Fruit Ripening of Climacteric and Nonclimacteric Fruit. *Journal of Environmental and Applied Bioresearch*, 4, 27-34.
4. URL:https://definicijahrane.hr/definicija/hranjive-tvari/bioloski-aktivne-tvari/?fbclid=IwAR1nk21xAbSvITo4-hXTJK6lS4rf5ftIwnJXWoR5w2jJjS2Y2DJK2u0ZE_U
Datum pristupa: 3.6.2022.
5. Bhanu Prakash. Functional and Preservative Properties of Phytochemicals, Academic Press, 2020, 341-361.
doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818593-3.00011-7
6. KING, A., & YOUNG, G. (1999). *Characteristics and Occurrence of Phenolic Phytochemicals*. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(2), 213–218.
doi:https://doi.org/10.1016/S0002-8223(99)00051-6
7. F., P., & C., G. (2012). *Structural Analysis of Flavonoids and Related Compounds - A Review of Spectroscopic Applications*. *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*.
doi:10.5772/29152
8. Feng, W., Hao, Z., & Li, M. (2017). *Isolation and Structure Identification of Flavonoids*. *Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health*.
doi:10.5772/67810

9. Celli, G. B., Tan, C., & Selig, M. J. (2018). *Anthocyanidins and Anthocyanins. Reference Module in Food Science*.
doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.2178-0
10. M. G. Miguel (2011). Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory activities, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (06); 2011: 07-15.
11. Gudelj V., Utjecaj dodatka kakaove ljske na sastav i udio bioaktivnih komponenti u čokoladi. Diplomski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2020.
12. Ramos, Patricio, Herrera, Raúl, Moya-León, María (2014). Handbook of Anthocyanins. Anthocyanins: Food sources and benefits to consumer's health. (pp. 373-394). Nova Science Publishers, Inc.
13. Sobiesiak, M. (2017). *Chemical Structure of Phenols and Its Consequence for Sorption Processes. Phenolic Compounds - Natural Sources, Importance and Applications*.
doi:10.5772/66537
14. Minatel, I. O., Borges, C. V., Ferreira, M. I., Gomez, H. A. G., Chen, C.-Y. O., & Lima, G. P. P. (2017). *Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. Phenolic Compounds - Biological Activity*.
doi:10.5772/66368
15. Pereira, D., Valentão, P., Pereira, J., & Andrade, P. (2009). Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*, 14(6), 2202–2211.
doi:10.3390/molecules14062202
16. Vukičević I., Kvalitativna i kvantitativna analiza polifenola vrsta *Stachys iva* Griseb. i *Stachys horvaticii* Micevski, *Lamiaceae*. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet. Zagreb, 2016.
17. Stojevski D., Najčešći polifenoli iz prehrane i njihovo protutumorsko djelovanje. Završni rad. Prirodoslovno-matematički fakultet. Zagreb, 2014.
18. Chang, S. K., Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2018). Superfruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health effects – A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–25.
doi:https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1422111

19. URL:<https://www.mountelizabeth.com.sg/healthplus/article/7-super-fruits-how-to-add-them-in-your-diet?fbclid=IwAR3IKaKKYZeJMj09AT-tH5wxbmerl4B96fMcbvv6PfqmR0PaCjLmbSthkzY>
Datum pristupa: 3.6.2022.
20. Rafael G. Araújo, Rosa M. Rodriguez-Jasso, Héctor A. Ruiz, Maria Manuela E. Pintado, Cristóbal Noé Aguilar, Avocado by-products: Nutritional and functional properties, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 80, 2018, 51-60.
doi:10.1016/j.tifs.2018.07.027
21. URL:<https://www.thespruce.com/avocado-tree-growing-guide-5214445>
Datum pristupa: 3.6.2022.
22. Rodríguez-López, C. E., Hernández-Brenes, C., Treviño, V., & Díaz de la Garza, R. I. (2017). Avocado fruit maturation and ripening: dynamics of aliphatic acetogenins and lipidomic profiles from mesocarp, idioblasts and seed. *BMC Plant Biology*, 17(1).
doi:10.1186/s12870-017-1103-6
23. Magwaza, L. S., & Tesfay, S. Z. (2015). A Review of Destructive and Non-destructive Methods for Determining Avocado Fruit Maturity. *Food and Bioprocess Technology*, 8(10), 1995–2011.
doi:10.1007/s11947-015-1568-y
24. URL:<https://www.foodiecrush.com/how-to-ripen-avocados-perfectly/?fbclid=IwAR0R6lS6XfXdCIP6GQYiHDJ1nBT11AhOpf0ymQta9Unw1Qdt7pE4M8ABzWs>
Datum pristupa: 3.6.2022.
25. Kunal A. Gaidhani; Mallinath Harwalkar; Deepak Bhambere; Pallavi S. Nirgude (2015). Lyophilization / Freeze-drying – A review. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 4(8):516-543.
26. Velderrain-Rodríguez, G. R., Quero, J., Osada, J., Martín-Belloso, O., & Rodríguez-Yoldi, M. J. (2021). *Phenolic-Rich Extracts from Avocado Fruit Residues as Functional Food Ingredients with Antioxidant and Antiproliferative Properties*. *Biomolecules*, 11(7), 977.
doi:10.3390/biom11070977

27. Handa, S., Khanuja, S.P., Longo, G. and Rakesh, D.D. (2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology, 260 p.
28. Rickwood, D., & Graham, J. (2015). *Centrifugation Techniques. eLS, 1–7.*
doi:<https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0002704.pub2>
29. Xiaohua Du, Xia Liu, Mawolo James Blackar, Yingjie Zhou, Haifeng Wang, Fayang Liu, Zhiqing He (2019). Spectrophotometry method for the detection of Biochemical parameters v1.
doi:[10.17504/protocols.io.6wchfaw](https://doi.org/10.17504/protocols.io.6wchfaw)
30. Singleton VL, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phospho-molybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult.* 1965;16:144-158.
31. Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine.* 2005;12:221-228.
doi:[10.1016/j.phymed.2003.09.007](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.09.007)