

Hipoglikemijski i antioksidativni učinak ekstrakta kore kineskog cimeta (*Cinnamomum cassia* Blume)

Kalođera, Zdenka; Zovko Končić, Marijana; Klepac, Ratimir; Fadi, Betilija; Kajtar, Darija; Šešok, Tatjana

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2010, 66, 591 - 599**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:499793>

Rights / Prava: [In copyright](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2022-05-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Hipoglikemijski i antioksidativni učinak ekstrakta kore kineskog cimeta (*Cinnamomum cassia* Blume)

Zdenka Kalodera¹, Marijana Zovko Končić¹, Ratimir Klepac², Betilija Fadi¹,
Darija Kajtar¹, Tatjana Šešok³

¹Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, A. Kovačića 1

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 3

³BELUPO d.d. Danica 5, 48000 Koprivnica

Hypoglycaemic and antioxidant activity of Chinese cinnamon (*Cinnamomum cassia* Blume) bark extract

A b s t r a c t – Chinese cinnamon (*Cinnamomum cassia* Blume, Lauraceae) is evergreen tree originating from China. The aim of presented research was to evaluate hypoglycemic and antioxidant properties of Chinese cinnamon bark extract. Antioxidant activity in vitro was investigated by four methods: antiradical and chelating activity, reducing power and activity in β -carotene-linoleate assay. Diabetes in rats was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin. Glucose blood level, as well as some parameters of oxidative stress in erythrocyte and plasma (superoxide radical, lipid peroxidation, carbonylated proteins) were determined. Chinese cinnamon bark extract demonstrated significant in vitro antioxidant activity. Chelating activity of the extract was equal to the activity of EDTA and greater than the activity of quercetin, while the activity of extract in β -carotene-linoleate assay was greater than the activity of butylated hydroxyanisole. Moreover, blood glucose level in rats treated with Chinese cinnamon was lower than in untreated rats. The indicators of oxidative stress were also lowered. The results indicate that Chinese cinnamon bark extract might be helpful in treatment of hyperglycemia and secondary complications of type 2 diabetes.

(¹Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, A. Kovačića 1, Croatia, ²School of Medicine, University of Zagreb, Šalata 3, Croatia, ³BELUPO d.d. Danica 5, 48000 Koprivnica, Croatia)

Uvod

Kora kineskog cimeta (*Cinnamomi cassiae cortex*, slika 1.) je droga koju čini kora 23 cm debelih ogranaka kineskog cimeta – *Cinnamomum cassia* Blume (syn *C. aromaticum* Nees) iz porodice Lauraceae (slika 2.) (1). Droga *Cinnamomi cassiae cortex* nije oficinalna

u Europskoj farmakopeji, ali je oficinalno od nje dobiveno eterično ulje (*Cinnamomi cassiae aetheroleum*) (2a). Kora kineskog cimeta slična je kori cimeta, *Cinnamomi cortex*, drogi koju sačinjava unutarnja kora grana cejlonskog ili pravog cimeta – *C. zeylanicum* Nees (syn *C. verum* J. S. Presl, *Laurus cinnamomum* L.). Zbog međusobne sličnosti, droge je teško razlikovati pa se često zamjenjuju nazivi, naročito u starijoj literaturi. Smatra se da je kora kineskog cimeta za primjenu kao aromatikum nešto slabije kvalitete od kore cimeta zbog manje ugodnog mirisa te sluzavog i manje slatkastog okusa. U pojedinim se monografijama pod korom cimeta smatra droga dobivena od obje navedene vrste (3).

Unatoč sličnom mirisu, eterično se ulje vrsta *C. verum* i *C. cassia* donekle razlikuje. Tako se u eteričnom ulju *C. verum* nalazi 10% eugenola, kojeg u *C. cassia* ima samo u tragovima. No, kumarin je prisutan u *C. cassia*, dok ga nema u *C. verum* (3). Eterično ulje kineskog cimeta, kojeg ima 1–2%, sadržava transcimetni aldehid, (70–90%), cinamil acetat (1,0–6,0%), kumarin (1,5–4,0%), trans-2-metoksicinamaldehyd (3,0–15%) te manje od 0,5% eugenola (2a). Upotreba kore kineskog cimeta tradicionalno se temeljila na njezinom eteričnom ulju (3).



Slika 1. Biljna droga *Cinnamomi cassiae cortex* (www.coloneltiki.com)



Slika 2. Biljna vrsta *Cinnamomum cassia* Blume (<http://www.elicriso.it>)

Kora cimeta i kora kineskog cimeta tradicionalno se upotrebljavaju za dispeptička stanja, primjerice za blage spazme gastrointestinalnoga trakta, osjećaj napuhnutosti, flatulenciju i nedostatak teka. Upotrebljava se i za terapiju abdominalnih bolova s dijarejom te bolova uzrokovanih amenorejom ili dismenorejom. Zbog ugodnog mirisa, kora obiju vrsta cimeta rabi se kao sredstvo za poboljšanje okusa i mirisa farmaceutskih pripravaka i dodataka prehrani te kao začim u kulinarstvu (3).

Osim sastojaka eteričnog ulja, u posljednje vrijeme pažnju znanstvenika sve više privlače fenolni spojevi u kori kineskoga cimeta bogatoj fenolnim kiselinama, od kojih većinu čine cimetna, vanilinska, siringična i protokatehnična kiselina. Osim fenolnih kiselina, u drogi se mogu naći i derivati katehina (4). Tako su u kori kineskog cimeta pronađeni

C-glikozil β hidroksidihidroalkoni (8-C-glukozil(-)-epikatehin) i C-glikozilproantocijanidini (6-C-glukozilprocijanidin B2, 8-C-glukozilprocijanidin B2) (5), kao i fenolni aldehidi (kasiferaldehyd) te drugi fenolni spojevi (cinakasinol i dihidrocinakezid) (6).

Prema najnovijim istraživanjima, kora kineskog cimeta pojačava djelovanje inzulina i snižava povišene razine šećera u krvi. Primjerice, istraživanja su pokazala da je ekstrakt kore kineskog cimeta značajno povećao osjetljivost na inzulin, smanjio razinu lipida u serumu i jetri te utjecao na hiperglikemiju i hiperlipidemiju dijabetičnih miševa (7). Nadalje, istraživanja na štakorima pokazala su protektivni učinak kineskog cimeta na *nervus ischiadicus*. Naime, iako nije izazvao značajne promjene u razini glukoze u krvi, dodatak kineskog cimeta u prehrani štakora spriječio je razvoj dijabetičke neuropatije u eksperimentalnih životinja.

Istraživanje koje je pratilo učinak kineske formule Wu-Ling-San (koja sadržava i kineski cimet) pokazalo je da Wu-Ling-San smanjuje razinu glukoze te smanjuje štetne učinke glikozilacije na bubrege dijabetičnih štakora (9). Osim pozitivnog učinka na razinu glukoze u krvi dijabetičnih miševa, kineski je cimet pokazao povećanje razine reduciranog glutaciona te aktivnosti antioksidativnih enzima glutation S-transferaze, glutation peroksidaze, katalaze i superoksid dizmutaze u jetri (10).

U literaturi je opisano pet ispitivanja učinka obje vrste cimeta na pacijente oboljele od dijabetesa tipa 2 te tri studije na zdravim ispitanicima (ukupno N = 311). Od toga su dvije dijabetičke studije pokazale 18–29%-tno, odnosno 10,3%-tno ($p < 0,05$) smanjenje razine glukoze u krvi mjereno natašte (*fasting blood glucose*, FBG) u pacijenata koji su uzimali pripravke kore cimeta. Jedna studija na zdravim ispitanicima pokazala je smanjenje FBG za 8,4%, a druga je dokazala značajan učinak na test oralne podnošljivosti glukoze ($p < 0,05$) (11). Zanimljive su i dvije novije *in vitro* studije koje upućuju na antitumorsko djelovanje kore kineskog cimeta (12, 13).

Hiperglikemija i dislipidemija prisutne u dijabetesu mogu povećati stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva, inducirati upalni imuni odgovor te izazvati niz dijabetičkih komplikacija, poput kardiovaskularnih bolesti, nefropatije, neuropatije, retinopatije i drugih. Pokazalo se da prirodni antioksidansi, poput biljaka, njihovih ekstrakata te neki prirodni spojevi, mogu smanjiti oksidativni stres i tako usporiti razvoj diabetičkih komplikacija (14, 15). Stoga je cilj istraživanja bio ispitati hipoglikemijska i antioksidativna svojstva ekstrakta kore kineskog cimeta.

Materijali i metode

Pripravak kore cimeta darovala je tvrtka Belupo d.o.o. Za potrebe određivanja antioksidativne aktivnosti pripravak (5 g) je ekstrahiran tripot s po 10 mL metanola na ultrazvučnoj kupelji (Sonorex DK 156BP, Njemačka) na 40 °C tijekom 1 h. Nakon filtriranja, ekstrakti su spojeni, a dobivena otopina uparena pri sniženom tlaku. Ostatak je pohranjen na +4 °C do uporabe.

Ukupni fenoli određeni su spektrofotometrijski (Perkin Elmer Lambda 25 spectrophotometer, Perkin Elmer, USA) Folin-Ciocalteu kolorimetrijskom metodom prema Singletonu i sur. (16), ukupni flavonoidi određeni su prema Kumazawi i sur. (17), a količina

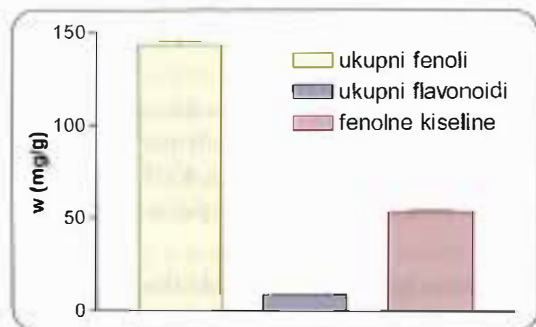
fenolnih kiselina određena je prema propisu za derivate hidroksicimetne kiseline (2b). Aktivnost hvatanja 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) slobodnog radikala i reduksijska snaga ekstrakata određena je prema (18), kelirajuća aktivnost prema (19), a obezbojenje emulzije s β -karotenom praćeno je prema (20). Antioksidativna aktivnost uspoređena je s aktivnošću butiliranog hidroksianisola (BHA), etilendiamintetraoctene kiseline (EDTA), askorbinske kiseline te kvercetina. Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina \pm SD, a uspoređeni primjenom *t*-testa ($p < 0,05$).

In vivo ispitivanja provedena su na štakorima soja Fischer kojima je dijabetes izazvan intraperitonealnim injiciranjem streptozotocina. Životinje u pokusu podijeljene su u dvije skupine po 6 životinja (dijabetični štakori i dijabetični štakori koji su dnevno dobivali 7 mg pripravka kore kineskog cimeta). Razvoj eksperimentalnog dijabetesa praćen je određivanjem glukoze u krvi. Razina glukoze u krvi određivana je prije i nakon *per os* uzimanja ispitivanog ekstrakta. U plazmi i eritrocitima mjereni su i neki od pokazatelja oksidativnoga stresa, kao što su razina lipidne peroksidacije (21), koncentracija karbонilnih proteina (22) i superoksidnog radikala (23).

Rezultati i rasprava

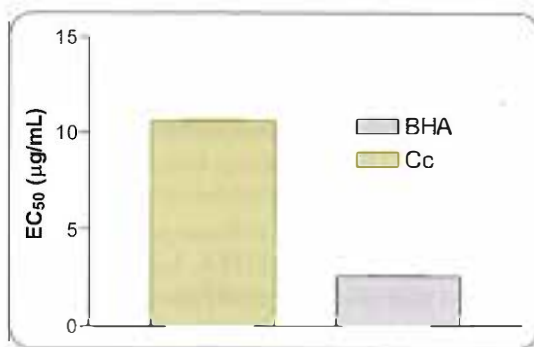
Ukupni sadržaj pojedinih vrsta fenolnih spojeva određen je spektrofotometrijski primjenom nekoliko metoda. Tako su ukupni polifenoli određeni reakcijom s Folin-Ciocalteu reagensom koji redukcijom s fenolnim spojevima daje plavo obojene produkte. Određivanje ukupnih flavonoida temeljilo se na njihovom svojstvu da keliraju aluminijeve ione, pri čemu su nastali žuto obojeni kelati. Određivanje fenolnih kiselina temeljilo se na svojstvu derivata hidroksicimetne kiseline da s nitrit-molibdatnim reagensom u lužnatom mediju daju obojeni kompleks. Rezultati određivanja fenolnih spojeva (ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina) prikazani su na grafu 1.

Istraživanja su pokazala da je ekstrakt kore kineskog cimeta bogat izvor fenolnih spojeva (oko 150 mg/g), od čega flavonoidi čine samo manji dio (< 10%), dok su fenolne kiseline prisutne u znatno većoj mjeri (> 30%). To je u skladu s litreaturnim podacima o sastavu fenola u kori kineskog cimeta, jer se zna da je to droga bogata fenolnim kiselinama. Na osnovi literaturnih podataka može se pretpostaviti i da većinu preostalih fenolnih spojeva čine kondenzirane trjeslovine (4).



Graf 1. Udio ukupnih fenola, flavonoida i fenolnih kiselina u ekstraktu kore kineskog cimeta.

Za ispitivanje antiradikalne aktivnosti rabljen je slobodni radikal DPPH. Svježe pripremljena otopina DPPH ima intenzivnu ljubičastu boju s apsorpcijskim maksimumom na 517 nm. Antioksidansi koji ulaze u reakciju s DPPH doniraju mu vodik ili elektron i pri tome ga prevode u bezbojni produkt 2,2-difenil-1-hidrazin ili slične supstituirane hidrazine. Pri tome iščezava intenzivna ljubičasta boja, što dovodi do pada apsorbanacije na 517 nm. Veći pad apsorbanacije odgovara većoj antiradikalnoj aktivnosti (20).

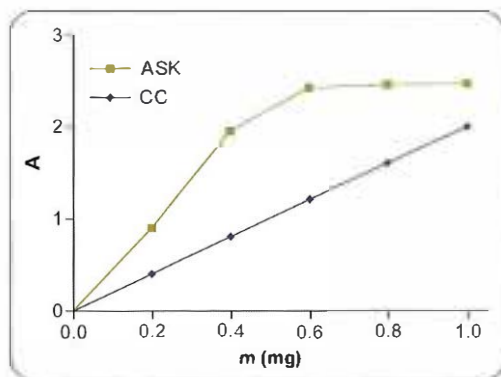


Graf 2. Antiradikalna aktivnost ekstrakta kore kineskog cimeta (Cc) i butiliranog hidroksianisola (BHA).

Graf 2. prikazuje aktivnost ekstrakta kore kineskog cimeta i BHA. Antiradikalna aktivnost izražena je kao EC₅₀, odnosno koncentracija koja izaziva 50%-tno smanjenje apsorbanacije DPPH u odnosu na otopinu bez antioksidansa. Stoga su tvari koje imaju manju EC₅₀ bolji hvatači slobodnih radikala. U ovom istraživanju kora kineskog cimeta pokazala je dobru antiradikalnu aktivnost. Ipak, ta je aktivnost nešto slabija od aktivnosti sintetskog antioksidansa, BHA.

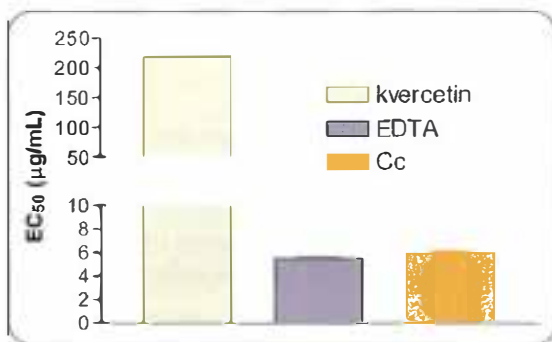
Ispitivanje redukcijske aktivnosti metoda je koja se temelji na prijelazu fericijanidnog kompleksa u reduciranu fero formu u prisutnosti antioksidansa. Pri tome žuta boja otopina uzoraka prelazi u različite nijanse zelene i plave, ovisno o redukcijskoj moći uzorka, a prisutnost nastalog kompleksa može se odrediti mjerenjem apsorbanacije na 700 nm. Veća apsorbanacija upućuje na veću redukcijsku snagu (20). Reducijska snaga kore cimeta uspoređena je s redukcijom snagom askorbinske kiseline (graf 3). U tom istraživanju ekstrakt kore kineskog cimeta pokazao je značajna reducirajuća svojstva, a njegova aktivnost linearno je ovisila o masi ispitivanog ekstrakta. I ekstrakt kore kineskog cimeta pokazao je tek nešto slabije djelovanje od askorbinske kiseline.

Pri ispitivanju kelirajuće aktivnosti ekstrakata dolazi do keliranja iona Fe²⁺ iz kompleksa s ferozinom u kompleks s biljnim kelatorom koji ne apsorbira na 562 nm. Sposobnost keliranja izražena je kao EC₅₀ vrijednost, odnosno koncentracija koja kelira 50% fero iona prisutnih u otopini. Stoga manja EC₅₀ upućuje na veću kelirajuću aktivnost. Kao pozitivna kontrola rabljeni su snažni (EDTA) i umjereno snažni (kvercetin) kelatori fero



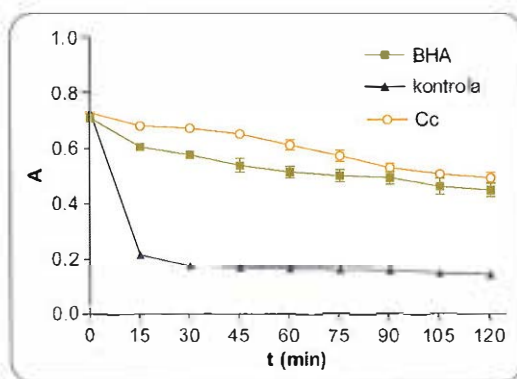
Graf 3. Redukcijska snaga ekstrakta kore kineskog cimeta (Cc) i askorbinske kiseline (ASK).

iona (graf 4). Ekstrakt kore kineskog cimeta pokazao se kao izvrstan kelator Fe^{2+} iona, a njegova aktivnost bila je jednaka aktivnosti EDTA. I aktivnost ekstrakta kore kineskog cimeta bila je znatno veća od aktivnosti flavonoida kvercetina.



Graf 4. Kelirajuća aktivnost ekstrakta kore kineskog cimeta (Cc), kvercetina i EDTA.

Pri ispitivanju antioksidativne aktivnosti s linoleinskom kiselinom i β -karotenom, dolazi do toplinom inducirane oksidacije linolenske kiseline. Odcjepljenjem vodika iz aktivne bis-alicil metilenske skupine, između dviju dvostrukih veza na C-11 linolenske kiseline, dolazi do formiranja pentadienil slobodnog radikala. Tako nastali aktivni radikal napada visoko nezasićene molekule β -karotena, koje gube svoje konjugirane dvostruke veze, a time i specifičnu narančastu boju. Ako u reakcijskoj smjesi nije prisutan antioksidans, reakcija se očituje brzim obezbojenjem β -karotena. Prisutnost antioksidansa može spriječiti ili usporiti proces razgradnje β -karotena neutralizacijom linoleatnog ili drugih slobodnih radikala koji nastaju u emulziji (20). Na grafu 5 prikazane su apsorbancije emulzije s ekstraktom kore kineskog cimeta, emulzije s BHA te emulzije kojoj nije dodan antioksidans.



Graf 5. Inhibicija degradacije β-karotena u emulziji s ekstraktom kore kineskog cimeta (Cc) ili butiliranom hidroksianisolum (BHA) te u emulziji bez dodanog antioksidansa (kontrola).

Ekstrakt kore kineskog cimeta pokazao se kao izvrstan antioksidans. Apsorbancija emulzije kojoj je dodan ekstrakt kore kineskog cimeta i nakon 120 minuta vrlo se malo smanjila (za oko 30%). Za razliku od toga, u emulziji u koju nije dodan antioksidans, apsorbancija se već nakon prvih 15 minuta smanjila za oko 70%. Osim toga, ekstrakt kore kineskog cimeta pokazao se kao znatno snažniji antioksidans u odnosu na BHA.

Istraživanja provedena na dijabetičnim štakorima pokazala su pozitivan utjecaj kore kineskog cimeta na razinu glukoze u krvi i neke od pokazatelja oksidativnog stresa u plazmi i eritrocitima štakora (tablica 1).

Tablica 1. Utjecaj ekstrakta kore kineskog cimeta na koncentraciju glukoze u krvi (G) i koncentraciju superoksidnog radikala (SOR) u krvnoj plazmi štakora.

	G ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SOR ($\mu\text{mol mL}^{-1}\text{min}^{-1}$)
Netretirani dijabetični štakori	27,7 ^K	3,6±0,4 ^P
Dijabetični štakori tretirani ekstraktom kore kineskog cimeta	22,9 ^K	3,2±0,3 ^P

koncentracija u: ^K – krvi, ^P – plazmi.

Čak i u vrlo maloj dozi od 7 mg, ekstrakt kore kineskog cimeta pokazao je pozitivan učinak na koncentraciju glukoze u krvi, glavni pokazatelj šećerne bolesti. Tako je razina glukoze u krvi štakora tretiranih ekstraktom kore cimeta smanjena za 21% u odnosu na netretirane životinje. Poznato je da visoka razina glukoze može izazvati povećano stvaranje slobodnih radikala kod dijabetičnih životinja. Ti radikali zatim izazivaju brojna oštećenja tkiva i organa, kao što su oštećenje bubrega, krvožilnog sustava, retine i živaca (14). U tom ispitivanju, ekstrakt kore kineskog cimeta pokazao je pozitivan učinak i na određene pokazatelje oksidativnih oštećenja. Primjerice, koncentracija superoksidnog radikala u plazmi štakora smanjena je za 13% u odnosu na netretirane dijabetične štakore.

Tablica 2. Utjecaj ekstrakta kore kineskog cimeta na koncentraciju karboniliranih proteina (KP) i lipidnu peroksidaciju (LP) u plazmi i eritrocitima štakora.

	KPP (nmol mL ⁻¹)	LP ^P (μmol mL ⁻¹)	KPE ^E (nmol g ⁻¹)	LP ^P (μmol g ⁻¹)
Netretirani dijabetični štakori	31,5±3,8 ^P ;	5,8±0,8 ^P ;	4,1±0,9 ^E	78,4±8,0 ^E
Dijabetični štakori tretirani ekstraktom kore kineskog cimeta	28,1±2,9 ^P ;	4,3±0,9 ^P ;	3,7±0,8 ^E	69,8±7,0 ^E

koncentracija u: ^P – plazmi, ^E – eritrocitima, izražena po gramu hemoglobina.

Reaktivni su kisikovi spojevi jedan od glavnih uzroka lipidne peroksidacije. Slobodni radikali reagiraju s nezasićenim masnim kiselinama u membrani stanica, pri čemu nastaje malondialdehid i drugi aldehidi. Takve promjene u strukturi staničnih membrana mijenjaju njihovu propusnost i fluidinost, što u konačnici dovodi do brže razgradnje staničnih proteina (24). Količina karbonilnih proteina još je jedan važan pokazatelj oksidativnog stresa kod ljudi i životinja (25). I količina karbonilnih proteina u plazmi i eritrocitima životinja koje su dobivale ekstrakt kore kineskog cimeta smanjena je za 12%, odnosno 11% u odnosu na netretirane životinje. Najveće poboljšanje primijećeno je u smanjenju lipidne peroksidacije. Tako se količina malondialdehida, aldehida čija je prisutnost u plazmi mjerilo razine lipidne peroksidacije, u eritrocitima smanjila za 11%, a u plazmi čak za 35%. Iz svega toga može se zaključiti da je ekstrakt kore kineskog cimeta potencijalno korisno sredstvo za suzbijanje simptoma i posljedica šećerne bolesti tipa 2.

Zaključak

Utvrđeno je da ekstrakt kore kineskog cimeta ima snažno antioksidativno djelovanje. Također, razina glukoze u krvi štakora koji su uzimali ekstrakt kore kineskog cimeta je niža u odnosu na netretirane dijabetične štakore. Nadalje, utvrđeno je i smanjenje pojedinih pokazatelja oksidativnog stresa poput razine superoksidnog radikala te lipidne peroksidacije u plazmi i eritrocitima pokusnih životinja. Rezultati istraživanja upućuju na to da bi ekstrakt kore kineskog cimeta mogao biti djelotvoran u snižavanju razine glukoze u krvi te koristan kao pomoćna terapija pri šećernoj bolesti tipa 2.

Literatura- References

1. M. Blumenthal, A. Goldberg, J. Brinckmann, Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs, American Botanical Council, 2000, 68.
2. European Pharmacopoeia 6th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2008. a) 3707; b) 2839.
3. WHO monographs on selected medicinal plants, World Health Organization, Geneva 1999, 95.
4. I. A. Khan, E. A. Abourashed, Leung's Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics, 3rd Edition, Wiley and Sons, Hoboken, 2010, 196.

5. Ø. M. Andersen, K. R. Markham, *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*, Taylor and Francis, Boca Raton, 2006, 873.
6. M. N. Tran, I. Lee, T. H. Do, H. Kim, B. Min, K. Bae, *J. Nat. Prod.* **72** (2009) 1205.
7. S. H. Kim, S. Y. Choung, *Arch. Pharm. Res.* **33** (2010) 325.
8. S. Bahceci, M. U. Aluclu, N. Canoruc, M. Bahceci, M. Akkus, S. Baran, D. Gokalp, M. E. Akbalik, *Neurosci.* **14** (2009), 338.
9. I. M. Liu, T. F. Tzeng, S. S. Liou, C. J. Chang, *J. Ethnopharmacol.* **124** (2009) 211.
10. H. K. Sung, H. H. Sun, Y. C. Se, *BioFactors* **26** (2006) 209.
11. S. Kirkham, R. Akilen, S. Sharma, A. Tsiami, *Diabetes Obes. Metab.* **11** (2009) 1100.
12. H. K. Kwon, J. S. Hwang, J. S. So, C. G. Lee, A. Sahoo, J. H. Ryu, W. K. Jeon, B. S. Ko, C. R. Im, S. H. Lee, Z. Y. Park, S. H. Im, *BMC Cancer* **10** (2010), Art. No. 392.
13. S. J. Koppikar, A. S. Choudhari, S. A. Suryavanshi, S. Kumari, S. Chattopadhyay, R. Kaul-Ghaneekar, *BMC Cancer* **10** (2010), Art. No. 210.
14. R. Rahimi, S. Nikfar, B. Larijani, M. Abdollahi, *Biomed. Pharmacother.* **59** (2005) 365.
15. A. Dembinska-Kiecl, O. Mykkänen, B. Kiec-Willk, H. Mykkänen, *Brit. J. Nutr.* **99** (2008) ES109.
16. V. L. Singleton, R. Orthofer, R. M., Lamuela-Raventos, *Meth. Enzymol.* **299** (1999) 152.
17. S. Kumazawa, T. Hamasaka, T. Nakayama, *Food Chem.* **84** (2004) 329.
18. G. C. Yen, H. Y. Chen, *J. Agric. Food Chem.* **43** (1995) 27.
19. E. A. Decker, B. Welch, *J. Agric. Food Chem.* **38** (1990) 674.
20. R. Amarowicz, R. B. Pegg, P. Rahimi-Moghadam, B. Barl, J. A. Weil, *Food Chem.* **84** (2004) 551.
21. H. Ohkawa, N. Ohisi, K. Yagi, *Anal. Biochem.* **95** (1979) 351.
22. R. L. Levine, N. Wehr, J. A. Williams, E. R. Stadtman, E. Shacter, *Methods Mol. Biol.* **99** (2000) 15.
23. K. Koyama, R. Takatsuki, M. Inou, *Methods Enzymol.* **233** (1994) 338.
24. B. Halliwell, *Biochem. Pharm.* **49** (1995) 1341.
25. E. J. Henriksen, *Free Rad. Bio. Med.* **40** (2006) 3.

Primljeno 20. rujna 2010.