

Određivanje osobina i antioksidativne aktivnosti ekstrakata lista leske

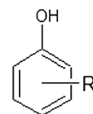
Ispitivan je sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativni potencijal metanolnog, etanolnog, acetonskog i etil-acetatnog ekstrakta lista leske (*Avellana Corylus*), kao i upotrebljivost ovih rastvarača kao ekstragenata. Ukupni sadržaj fenola i flavonoida kao i antioksidativna aktivnost ispitani su primenom spektrofotometrijskih metoda. Antioksidativna aktivnost određena je ispitivanjem redukcionne moći i sposobnosti zaustavljanja procesa lipidne peroksidacije na modelu β -karotena. Rezultati su pokazali da je list leske bogat izvor fenolnih jedinjenja, pa stoga i njegovi ekstrakti poseduju visok antioksidativni potencijal. Takođe, ispitivanje je pokazalo da acetonski ekstrakt sadrži najviše kako flavonoida, tako i ostalih fenola, da etanolni ekstrakt ispoljava najveću redukcionu moć, a metanolni najveću sposobnost zaustavljanja lipidne peroksidacije, dok se pokazalo da je etil-acetatni ekstrakt najsiromašniji flavonoidima i ostalim fenolnim jedinjenjima, pa stoga skoro i da ne ispoljava redukcionu moć i u značajno manjoj meri zaustavlja proces lipidne peroksidacije u odnosu na sve ostale ispitivane ekstrakte.

Uvod

Pri metaboličkim procesima koji se svakodnevno odvijaju u organizmu dolazi do stvaranja slobodnih radikala, čestica koje imaju nesparene elektrone, zbog čega su izuzetno hemijski nestabilni, pa vrlo lako stupaju u hemijske reakcije kako bi „pridobili” nedostajući elektron. Međutim, molekul koji je u ulozi elektron-donora i sam postaje slobodni radikal.

Najčešće su molekuli kojima slobodni radikali oduzimaju elektron važni molekuli za funkcionisanje ćelije, te na ovaj način postojanje slobodnih radikala dovodi do gubitka funkcije ovih molekula i ubrzava proces starenja ćelija. Stoga se danas sve više traga za supstancama koje će predati svoj elektron slobodnim radikalima, a da im se pri tome stabilnost ne naruši. Takva jedinjenja nazivaju se antioksidansi. Među najaktivnije antioksidanse ubrajaju se fenoli i flavonoidi.

Fenolna jedinjenja su najrasprostranjeniji sekundarni metaboliti u biljkama. Šematski se njihova opšta struktura može prikazati na sledeći način (slika 1):



Slika 1. Opšta strukturalna formula fenola

Figure 1. General structural formula of phenol

U svojoj strukturi fenolna jedinjenja sadrže aromatični prsten sa jednom ili više fenolnih grupa. Upravo je postojanje fenolne grupe ono što olakšava fenolima da posle doniranja elektrona ne postanu slobodni radikali. Naime, atom kiseonika iz fenolne grupe zbog velike elektronegativnosti privlači delokalizovane π -elektrone iz benzenovog prstena, pri čemu se stvara centar negativnog naelektrisanja, što olakšava ovim jedinjenjima da otpuste jedan elektron, a da se njihova stabilnost pri tome ne naruši.

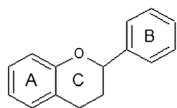
Flavonoidi su prisutni u svim organima biljaka, najčešće kao pigmenti. Osnovni strukturalni skelet flavonoida čini 15 atoma ugljenika u osnovnoj strukturi

Nataša Diklić (1994), Apatin, Prigrevačka 5, učenica 2. razreda Gimnazije „Nikola Tesla” u Apatinu

Natalija Arsić, (1994), Beograd, Dr Ivana Ribara 162/32, učenica 2. razreda Prve beogradske gimnazije

MENTOR:
dipl. inž. Marija Radojković, istraživač saradnik, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

(C6-C3-C6) od kojih devet pripada benzopiranskom prstenu (benzenov prsten A, kondenzovan sa piranskim prstenom C). Ostalih šest C-atoma čine benzenov prsten (B) povezan sa benzopiranskim prstenom na ugljenikovom atomu C2 (flavoni, dihidroflavoni, flavonoli, katehini, flavani i antocijanidini), C3 (izoflavonoidi) i C4 (4-fenil-kumarini). Sistem koji čine A i C prsten naziva se benzo-1-piran-4-hinon (slika 2).



Slika 2. Osnovni strukturalni skelet flavonoida

Figure 2. General structural skeleton of flavonoids

Zbog svoje široke rasprostranjenosti, flavonoidi su najbolje ispitani sekundarni metaboliti biljaka. Ispoljavaju brojna povoljna dejstva, kao što su anti-inflamatorno, antialergijsko, analgetičko, antibakterijsko, antivirusno i antimikotičko (Havsteen 2002).

Ranije su se radi upotrebe u komercijalne svrhe farmaceutske ili kozmetičke industrije najviše koristili sintetički antioksidansi. Međutim, dokazano je da su neki od njih štetni po zdravlje ljudi. Zbog toga se počelo tragati za prirodnim antioksidansima koji će u što većoj meri uspešno zameniti veštačke. Pošto biljke predstavljaju izvor prirodnih antioksidanasa, u poslednjih nekoliko godina sve se više ispituju antioksidativne osobine raznovrsnih biljaka.

Leska (*Avellana Corylus*) je višegodišnja biljka iz porodice Corylaceae. Delovi leske koji se najviše koriste u komercijalne svrhe su sam plod, njegov perikarp i kožica, i seme. Dokazano je da su svi delovi lešnika i seme bogati izvori kako fenola, tako i brojnih proteina, minerala (kalijuma, kalcijuma, magnezijuma, selen) i vitamina (Alasalvar i sar. 2003; Kornsteiner i sar. 2006), te da su potencijalno pogodni za upotrebu u izradi dijetetskih ili kozmetičkih proizvoda. Ranija istraživanja samog lišća leske vršena su u cilju određivanja organohlornih pesticida (Barriada-Pereira i sar. 2004), sadržaja hormona (Andres i sar. 2002), policikličnih aromatičnih ugljovodonika (Howsam i sar, 2000), slobodnih poliamina (Rey i sar. 2005), fenolnog sastava (Amaral i sar. 2005), kao i određivanja antioksidativnih osobina njihovog vodenog ekstrakta (Oliveira i sar. 2007), ali

do sada nisu vršene analize antioksidativnih karakteristika metanolnog, etanolnog i acetonskog ekstrakta.

Cilj ovog rada jeste određivanje osobina i antioksidativne aktivnosti ekstrakata lista leske, kao i određivanje zavisnosti antioksidativne aktivnosti od primenjenog ekstragensa.

Materijal i metode

U radu su korišćene supstance čistoće p. a. Biljni materijal potiče iz Velikog sela u okolini Loznice, osušen je prirodnim putem, isitnjen laboratorijskim mlinom i prosejan kroz sito veličine otvora 1.5 mm. Spektrofotometrijska merenja rađena su na spektrofotometru CECIL CE 2021, Great Britain.

Priprema ekstrakata

Osušeni i isitnjeni biljni materijal maceriran je svakim od četiri ekstragensa (smešama metanol/voda, etanol/voda i aceton/voda (70/30, v/v) i čistim etil-acetatom) u odnosu 1:15 (m/v), tokom 24 h. Radi što efikasnije ekstrakcije aktivnih materija iz biljnog materijala primenjena je trostuka maceracija.

Ispitivanje hemijskog sastava

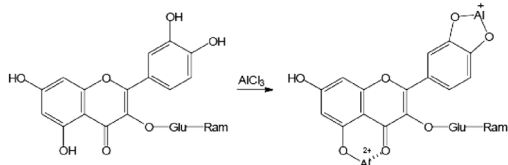
Određivanje ukupnih fenolnih jedinjenja u ekstraktima (Metoda po Folin-Ciocalteu). Metod po Folin-Ciocalteu zasniva se na merenju redukcionne sposobnosti fenolnih jedinjenja, čijom disocijacijom nastaje proton i fenoksidni anjon koji redukuje Folin-Ciocalteu-ov reagens (FCR) do plavo obojenog jona (fenol-MoW₁₁O₄₀)⁴⁻. Intenzitet obojenosti srazmeran je koncentraciji fenolnih jedinjenja (Mitrović 2008).

Reakcioni sistem je dobijen mešanjem 0.1 mL ekstrakta, 7.9 mL destilovane vode, 0.5 mL FCR (Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu) i 1.5 mL 20% (m/m) rastvora natrijum-karbonata (Merk-Alkaloid). Slepa proba pripremljena je mešanjem 8 mL destilovane vode, 0.5 mL FCR i 1.5 mL 20% natrijum-karbonata. Nakon inkubacije u trajanju od 2 h izmerena je apsorbancija na 750 nm. Kao standard korišćena je galna kiselina (Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu).

Na osnovu izmerenih apsorbanci ispitivanih rastvora ekstrakata izračunavana je koncentracija ukupnih fenolnih jedinjenja za svaki uzorak, odnosno sadržaj ukupnih fenola sračunatih na galnu kiselinu (izražena preko miligrama galne kiseline kao ekvi-

valenta (GA) po jednom gramu čistog biljnog materijala (D)).

Određivanje ukupnih flavonoida u ekstraktima (Metoda po Markam-u). Ova spektrofotometrijska metoda zasniva se na kompleksiranju flavonoida sa aluminijum(III)-jonima (slika 3).



Slika 3. Struktura rutina i njegovog kompleksa sa aluminijumom

Figure 3. Structure of rutin and its complex with aluminium

Dobijeni ekstrakti su upareni na vakuum uparivaču i rastvoreni u rastvoru za ekstrakciju (metanol : voda : sirćetna kiselina (Zorka Šabac); 14 : 5 : 1 v/v/v) u odnosu 1 : 1 (v/v). U 5 mL ekstrakta dodato je 1 mL destilovane vode i 2,5 mL reagensa $AlCl_3$ (dobijenog mešanjem 133 mg $AlCl_3 \times 6H_2O$ (Merk) i 400 mg CH_3COONa (Euro Hemija)). Slepа probа pripremljena je mešanjem 6 mL rastvora za ekstrakciju i 2,5 mL $AlCl_3$ reagensa. Apsorbanca je merena nakon pripremanja reakcione smeše na talasnoj dužini od 430 nm. Kao standard korišćen je rutin (Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu).

Na osnovu kalibracione krive rutina, kao standarda, izračuna se ukupni sadržaj flavonoida, izražen preko miligrama rutina kao ekvivalenta (R) u gramu droge (D).

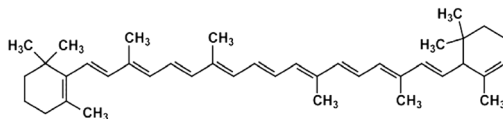
Određivanje antioksidativnih karakteristika

Određivanje redukcione moći (Metod po Oyaizu). U 1 mL rastvora ekstrakata različitih koncentracija dodato je 1 mL 0,2 M natrijum-fosfatnog (Fluka A. G.) pufera (pH = 6,6) i 1 mL 1% kalijum-heksacijanoferata(III) (Merk). Smeša je inkubirana na 50°C 20 min. Nakon dodatka 1 mL 10% (m/m) trihlorosirćetne kiseline (Centrohem), smeša je centrifugirana na 2000 obrtaja 10 minuta. Jedan mililitar ove smeše je pomešan sa 1 mL destilovane vode i 0,2 mL 0,1% (m/m) gvožđe(III)-hlorida (Zorka Šabac).

Nakon 10 minuta izmerena je apsorbanca na 700 nm. Kao standard upotrebljen je vitamin C (Centrohem).

Koncentracija ekstrakta koja ima apsorbanca u 0,5 (EC_{50}) i redukuje 50% prisutnih Fe^{3+} jona u Fe^{2+} jone izračuna se sa grafika apsorbanca u zavisnosti od koncentracije ekstrakta i izražava se kao masena koncentracija biljnog materijala.

Određivanje sposobnosti zaustavljanja lipidne peroksidacije. Sposobnost inhibicije lipidne peroksidacije ispitivana je na modelu β -karotena. Ova metoda je jedna od *in vitro* metoda koja je najbliža *in vivo* uslovima zbog čega se vrlo često koristi za određivanje sposobnosti zaustavljanja lipidne peroksidacije. Do oksidacije β -karotena dolazi zbog raskidanja dvostruke veze, što dovodi do gubitka hromofore. Dodatkom antioksidansa u sistem sprečava se apstrakcija vodonika iz dialilnih metilenskih grupa linolne kiseline, čime se direktno sprečava oksidacija β -karotena (slika 4) (Kennedy i Liebler 1991; Tsuchihashi i sar. 1995).



Slika 4. Strukturna formula β -karotena

Figure 4. Structural formula of β -carotene

Rastvor β -karotena pripremljen je rastvaranjem 2 mg β -karotena (Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu) u 10 mL hloroforma (Lahner). Dva mililitra rastvora β -karotena ispipetirano je u balon od 100 mL. Nakon što je hloroform otparen na 40°C na vakuum uparivaču, u balon je dodato 40 mg linolne kiseline (Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu), 400 mg emulgatora Tween-a 80 (Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu). Zatim je uz mešanje balon dopunjen vodom do crte. Alikvoti (5 mL) ove emulzije su dodati u epruvete koje sadrže po 0,2 mL ekstrakata lista leske različitih koncentracija. Izmerena je početna apsorbanca uzorka na 470 nm. Uzorak je inkubiran na 50°C u vodenom kupatilu. Apsorbanca je očitana i nakon 2 sata. Kontrola sadrži 0,2 mL vode i 5 mL emulzije β -karotena i linolne kiseline. Slepа probа pripremljena je

mešanjem 40 mg linolne kiseline i 400 mg Tween-a 80 u balonu od 100 mL, koji je dopunjen destilovanom vodom do crte. Kao standard korišćen je butil-hidroksitoluen (BHT) (Centochem).

Brzina degradacije β -karotena u uzorku izračuna se prema jednačini:

$$V = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{A_0}{A_k}$$

gde je A_0 apsorbanca na početku analize, A_k apsorbanca nakon dva sata, a $t = 120$ min.

Na osnovu dobijene brzine degradacije β -karotena izračunat je procenat antioksidativne aktivnosti (AOA) prema sledećoj formuli:

$$AOA(\%) = \frac{V_k - V_u}{V_k} \times 100\%$$

gde je V_k brzina degradacije u kontroli, a V_u brzina degradacije β -karotena u uzorku.

Koncentracija ekstrakta potrebna da inhibira degradaciju β -karotena 50% u odnosu na kontrolu (EC_{50}) izračunata je sa grafika procenta antioksidativne aktivnosti u odnosu na koncentraciju ekstrakta i izražena je preko masene koncentracije droge.

Rezultati i diskusija

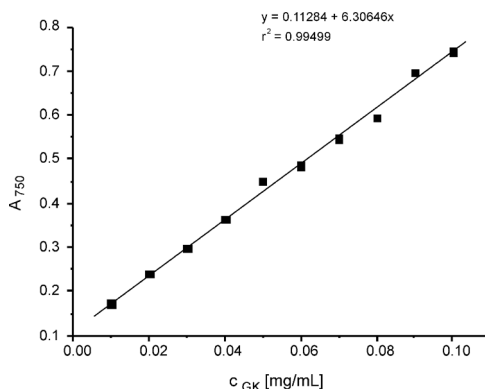
Ispitivanje hemijskog sastava

Određivanje ukupnih fenolnih jedinjenja u ekstraktima. Na osnovu podataka koji su prikazani na slici 5. izračunate su koncentracije fenola izražene preko galne kiseline kao ekvivalenta prikazane u tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u ispitivanim ekstraktima

Vrsta ekstrakta	Koncentracija fenola [mg GK /g D]
Etanolni ekstrakt	17 ± 3
Metanolni ekstrakt	18 ± 2
Acetonski ekstrakt	25 ± 4
Etil-acetatni ekstrakt	–

Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u ekstraktima različitih rastvarača zavisi od prirode rastvarača, ali i prirode ekstrahovanih materija. Ovi rezultati pokazuju da je primenom acetona kao ekstragensa



Slika 5. Zavisnost apsorbanca uzoraka od koncentracije galne kiseline

Figure 5. Absorbance of samples as a function of gallic acid concentration

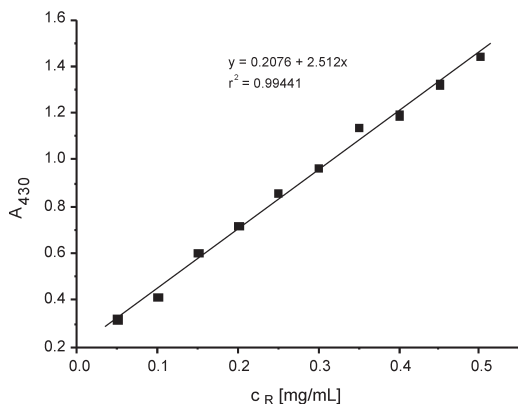
ekstrahovana najveća količina fenola iz droge, dok koncentracija fenola u etil-acetatnom ekstraktu nije određena zbog prisustva izuzetno male količine ekstrahovanih fenolnih jedinjenja, što je i očekivano, s obzirom na polarnost rastvarača.

Određivanje ukupnih flavonoida u ekstraktima. Na osnovu kalibracione krive rutina kao standarda, prikazane na slici 6, izračunate su koncentracije flavonoida u već pripremljenim ekstraktima i te vrednosti date su u tabeli 2.

Tabela 2. Sadržaj flavonoida u ispitivanim ekstraktima

Vrsta ekstrakta	Koncentracija flavonoida [mg R /g D]
Etanolni ekstrakt	9.9 ± 0.2
Metanolni ekstrakt	3.057 ± 0.009
Acetonski ekstrakt	11.2 ± 0.1
Etil-acetatni ekstrakt	2.84 ± 0.17

Na osnovu vrednosti koje su prikazane u tabeli 1. i 2. uočava se razlika u ekstrahovanoj količini fenola i flavonoida iz lista leske. Najviše flavonoida sadrži acetonski ekstrakt, a najmanje etil-acetatni, što je u skladu sa već dobijenim rezultatima sadržaja ukupnih fenola. Velika efikasnost ekstrakcije flavonoida acetona, osim njihove slične polarnosti, pretpostavlja se da potiče i od moguće reakcije među njima – flavonoida kao nukleofila i acetona kao elektrofila. Sa



Slika 6. Grafik zavisnosti apsorbance uzorka od koncentracije rutina

Figure 6. Absorbance of samples as a function of rutin concentration

druge strane, pokazano je da je prisutna značajno veća količina flavonoida u etanolnom nego u metanolnom ekstraktu, što nije u skladu sa rezultatima sadržaja ukupnih fenola u ova dva ekstrakta. Međutim, ako se u obzir uzme polarnost, moguće je objasniti zašto se pokazalo da je etanol podesniji rastvarač flavonoida od metanola.

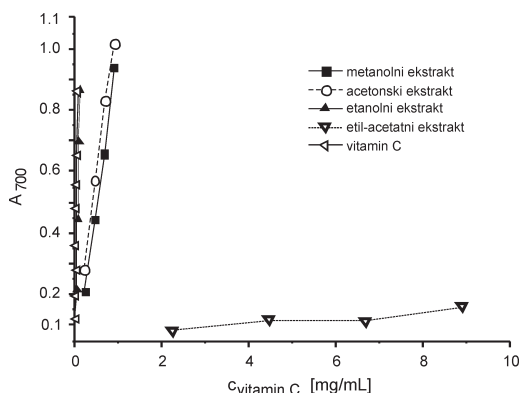
Odnos ukupne količine ekstrahovanih materija i udeo flavonoida je prikazan u tabeli 3. i pokazuje da fenolni sastav ekstrakata obuhvata i neflavonoidne grupe jedinjenja.

Tabela 3. Udeo flavonoida u fenolnim jedinjenjima

Vrsta ekstrakta	Udeo flavonoida (%)
Etanolni ekstrakt	58.8
Metanolni ekstrakt	17.2
Acetonski ekstrakt	45.8
Etil-acetatni ekstrakt	–

Određivanje antioksidativnih karakteristika

Određivanje redukcionne moći. EC₅₀ vrednosti za uzorke i standard prikazane su u tabeli 4 i određene su na osnovu grafika apsorbance u zavisnosti od koncentracije droge, odnosno vitamina C kao standarda (slika 7).



Slika 7. Grafik zavisnosti apsorbance uzoraka i standarda od koncentracije droge i vitamina C

Figure 7. Absorbance of samples and standard as a function of drug and vitamin C concentration

Pokazano je da redukciona moć uzoraka raste se porastom koncentracije ekstrakta i standarda u njima. Svi uzorci su pokazali manju redukcionu moć od vitamina C. Etanolni ekstrakt je pokazao najjaču redukcionu moć, najbližnju vitaminu C, iako je EC₅₀ vrednost uzorka sa etanolnim ekstraktom značajno veća od EC₅₀ vrednosti standarda.

Tabela 4. EC₅₀ vrednosti za uzorke i standard

Uzorak	EC ₅₀ (mg/mL)
Etanolni ekstrakt	0.072
Metanolni ekstrakt	0.497
Acetonski ekstrakt	0.398
Etil-acetatni ekstrakt	–
Standard (Vitamin C)	0.031

Određivanje sposobnosti zaustavljanja lipidne peroksidacije. Step en inhibicije lipidne peroksidacije određen je za sve vrste ekstrakta osim za etil-acetatni ekstrakt, zbog nemešanja etil-acetatnog sloja sa emulzijom β-karotena i linolne kiseline sa Tween-om 80.

Dobijene EC₅₀ vrednosti za ispitane uzorke prikazane su u tabeli 6. i njihovim poređenjem uočava se neznatna razlika među uzorcima, što može upućivati na činjenicu da su jedinjenja iz različitih frakcija, koja su odgovorna za inhibiranje oksidacije lipida, slične strukture. Ovim ispitivanjem utvrđeno

Tabela 5. Procenat antioksidativne aktivnosti uzoraka u lipidnom model-sistemu

Vrsta ekstrakta	Koncentracija ekstrakta		
	0.0555 mg/mL	0.111 mg/mL	2.222 mg/mL
Metanolni ekstrakt	27.631	39.757	53.234
Etanolni ekstrakt	21.405	46.270	60.144
Acetonski ekstrakt	14.499	40.694	57.288
Etil-acetatni ekstrakt	–	–	–

je da aktivne komponente iz svih ispitivanih ekstrakata imaju manju sposobnost zaustavljanja lipidne peroksidacije (EC_{50} uzorka $\gg EC_{50}$ standarda) od upotrebljenog standarda BHT.

Tabela 6. EC_{50} vrednosti za uzorke i standard

Vrsta ekstrakta	EC_{50} (mg/mL)
Metanolni ekstrakt	1.593
Etanolni ekstrakt	1.637
Acetonski ekstrakt	1.814
Etil-acetatni ekstrakt	–
Standard (BHT)	0.050

Upoređujući dobijene rezultate sa rezultatima istraživanja antioksidativnih karakteristika vodenih ekstrakata ploda leske (Oliveira i sar. 2008), može se zaključiti da je list bogatiji fenolnim jedinjenjima, kao i da ima veću redukcionu moć i sposobnost zaustavljanja lipidne peroksidacije. U poređenju sa antioksidativnim osobinama vodenog ekstrakta lista tri različite vrste leske (Oliveira i sar. 2007), može se zaključiti da etanolni ekstrakt ispoljava značajnije veću redukcionu moć od sve tri vrste, što nije slučaj sa metanolnim i acetonskim, kao i da i metanolni i etanolni i acetonski ekstrakt poseduju veću moć zaustavljanja procesa lipidne peroksidacije na modelu β -karotena u odnosu na dve od tri ispitivane vrste leske, što nam pokazuje da se lišće leske može uspešno iskoristiti kao izvor prirodnih antioksidanasa.

Zaključak

Dobijeni podaci pokazuju da količina ekstrahovane materije zavisi kako od droge, tako i od upotrebljenog ekstragensa. Rezultati su pokazali da je upotreba smeše aceton/voda najpogodnija za ekstra-

hovanje kako flavonoida, tako i većine ostalih fenolnih jedinjenja, etanol/voda ekstragens čiji ekstrakt ispoljava najveću redukcionu moć, dok smeša metanol/voda daje ekstrakt čija je sposobnost zaustavljanja lipidne peroksidacije najveća. Očekivano, pokazano je i da je ekstrakt dobijen ekstrakcijom biljnog materijala čistim etil-acetatom najsiromašniji i flavonoidima i ostalim fenolima, da skoro i ne pokazuje redukcionu moć, kao i to da u najmanjoj meri zaustavlja proces lipidne peroksidacije. U nameri da se u što većoj meri sintetički antioksidansi zamene prirodnim, svi ekstrakti korišćeni u ovom ispitivanju, osim etil-acetatnog, mogu se iskoristiti za dalja ispitivanja radi potencijalne upotrebe u komercijalne svrhe farmaceutske ili kozmetičke industrije.

Literatura

- Alasalvar C., Shahidi F., Liyanapathirana C. M., Ohshima T. 2003. Turkish tumbul hazelnut (*Corylus avellana* L.). 1 Compositional characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 3790.
- Amaral J.S., Andrade P.B., Ferreres F., Pinheiro C., Santos A., Valentao P. 2005. Phenolic of hazel (*Corylus avellana* L.) leaves cultivars grown in Portugal. *Natural Product Research*, **19**: 157.
- Andres H., Fernandez B., Rodriguez A., Rodriguez R. 2002. Phytohormone contents in *Corylus avellana* and their relationship to age and other developmental processes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **70**: 173.

- Barriada-Pereira M., Fernandez-Fernandez E., Gonzalez-Castro M. J., Lopez-Mahia P., Muniategui-Lorenzo S., Prada-Rodriguez D. 2004. Determination of 21 organochlorine pesticides in tree leaves using solid-phase extraction clean-up cartridges. *Journal of Chromatography A*, **1061**: 133.

- Contini M., Baccelloni S., Massantini R, Anelli G. 2008. Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chemistry*, **110**: 659.
- Havsteen B. H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*, **96**: 67-202.
- Howsam M., Ineson P., Jones K. C. 2000. PAHs associated with the leaves of three deciduous tree species. I – Concentrations and profiles. *Environmental Pollution*, **108**: 413.
- Kornsteiner M., Wagner K.H., Elmalfa I. 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry*, **98**: 381.
- Kennedy T. A., Liebler D. C. 1991. Peroxy radical oxidation of β -carotene: formation of β -carotene epoxides. *Chemical Research in Toxicology*, **4**: 290.
- Mitrović B. 2008. Ekstrakcija i analiza različitih vrsta suvih pečuraka. Diplomski rad. Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad
- Oliveira I., Sousa A., Morais S. J., Ferreira C. F. R. I., Bento A., Estevinho L., Pereira A. 2008. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, **46**: 1801.
- Oliveira I., Sousa A., Valentao P., Andrade B. P., Ferreira C. F. R. I., Ferreres F., Bento A., Seabra R., Estevinho L., Pereira J. A. 2007. Hazel (*Corylus avellana* L.) leaves as source of antimicrobial and antioxidative compounds. *Food Chemistry*, **105**: 1018.
- Rey M., Diaz-Sala C., Rodriguez R. 1998. Free polyamine content in leaves and buds of hazelnut (*Corylus avellana* L. cv. Negret) trees subjected to repeated severe pruning. *Scientia Horticulturae*, **76**: 115.
- Tsuchihashi H., Kigoshi M., Iwatsuki M., Niki, E. 1995. Action of beta-carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, **323** (1): 137.

Nataša Diklić and Natalija Arsić

Determination of Characteristics and Antioxidant Activity of the Extracts From Hazel Leaf (*Avellana Corylus* L.)

The aim of this study was to determine the content of polyphenolic compounds and antioxidant potential of methanol, ethanol, acetone and ethyl acetate extract of hazel leaf, as well as the determination of their dependence on the applied solvent. The total content of phenols and flavonoids and antioxidant activity were examined using spectrophotometric methods. Antioxidant activity was determined by examining the reducing power and the ability to inhibit process of lipid peroxidation using the β -carotene linoleate model system. The results showed that the hazel leaf is a rich source of polyphenolic compounds, and hence its extracts have high antioxidant potential. Also, the testing showed that acetone extract contains the most flavonoids and other polyphenols, that ethanol extract exhibits the highest reducing power and methanol the greatest ability to inhibit process of lipid peroxidation, while it was shown that ethyl acetate extract is the poorest in flavonoids and other phenolic compounds, and therefore almost not demonstrating reducing power and significantly less inhibits the process of lipid peroxidation in relation to all other extracts tested. ☺