

# Utjecaj konzumacije kakaa na parametre oksidacijskog stresa

---

**Ninković, Marija**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:359675>

*Rights / Prava:* [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-21**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Nutricionizam**

**MARIJA NINKOVIĆ**

7472/N

**UTJECAJ KONZUMACIJE KAKAA NA PARAMETRE  
OKSIDACIJSKOG STRESA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Modul :** Kemija i biokemija hrane

**Mentor :** prof. dr. sc. Irena Landeka Jurčević

**Zagreb, 2020.**

**Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski studij Nutricionizam  
Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda  
Laboratorij za kemiju i biokemiju hrane**

**UTJECAJ KONZUMACIJE KAKAA NA PARAMETRE OKSIDACIJSKOG STRESA**

***Marija Ninković, 0108079478***

**Sažetak:** Mnoga istraživanja pokazuju kako su zrno kakaa i čokolade s visokim udjelom kakaa bogate biološki aktivnim sastojcima, polifenolima, koji imaju antioksidacijska svojstva. Antioksidansi reguliraju nastajanje slobodnih radikala zbog svoje sposobnosti stabilizacije ili deaktivacije radikala, a takvo antioksidacijsko svojstvo pokazuje značajan utjecaj na određene parametre oksidacijskog stresa, što je i dokazano sustavnim pregledom intervencijskih studija. Meta-analiza provedenih intervencijskih studija pokazala je kako konzumacija kakaa ima utjecaja na serumske razine malondialdehida, jednog od najčešće korištenih parametara oksidacijskog stresa, kao i na razinu 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$ . Zbog dokazanih učinkovitih utjecaja konzumacije kakaa na parametre oksidacijskog stresa, kakao se smatra funkcionalnom hranom jer pokazuje blagotvorne učinke na ljudsko zdravlje, održavajući zdravlje kardiovaskularnog sustava te smanjujući rizik od najčešćih kroničnih bolesti današnjice kao što su dijabetes i karcinom.

**Ključne riječi:** kakao, polifenoli, antioksidansi, parametri oksidacijskog stresa

**Rad sadrži:** 25 stranica, 3 slike, 3 tablice, 37 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** prof. dr. sc. Irena Landeka Jurčević

**Rad predan:** 01. rujan, 2020.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Undergraduate studies Nutrition**  
**Department of Food Quality Control**  
**Laboratory for Chemistry and Biochemistry**

### IMPACT OF CONSUMPTION CACAO ON MARKERS OF OXIDATIVE STRESS

*Marija Ninković, 0108079478*

**Abstract:** Many researches show that cacao beans and chocolate with high content of cacao are rich in biologically active ingredients, polyphenols, that have antioxidant properties. Antioxidants regulate the formation of free radicals due to their ability to stabilize or deactivate radicals, and such antioxidant properties show a significant impact on the markers of oxidative stress, as evidenced by systematic review intervention studies. A meta-analysis of intervention studies showed that cocoa consumption had an effect on serum levels of malondialdehyde, common used marker of oxidative stress, as well as with 8-iso-prostaglandin F<sub>2α</sub>. Due to the proven effects of cocoa consumption on the oxidative stress parameter, cocoa is used as a functional food because it has beneficial effects on human health, maintaining cardiovascular health and reducing the risk of today's most common chronic diseases such as diabetes and cancer.

**Keywords:** cacao, polyphenols, antioxidants, markers of oxidative stress

**Thesis contains:** 25 pages, 3 figures, 3 table, 37 references

**Original in:** Croatia

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** PhD. Irena Landeka Jurčević, Full professor

**Thesis delivered:** September 1<sup>th</sup>, 2020

## **SADRŽAJ**

<b>1.0. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2.0. TEORIJSKI DIO</b>	<b>2</b>
2.1. KAKAO ( <i>Theobroma cacao</i> L.)	2
2.1.1. Kemijski sastav kakaa	5
2.2. LIPIDI	7
2.2.1. Kolesterol	7
2.2.2. Triglicerid	8
2.3. OKSIDACIJSKI STRES	8
2.3.1. Lipidna peroksidacija	9
2.3.2. Slobodni radikali	9
2.4. ANTIOKSIDACIJSKA ZAŠTITA	10
2.4.1. Antioksidansi	11
2.5. PARAMETRI OKSIDACIJSKOG STRES	11
2.5.1. Malondialdehi	12
2.5.2. Glutation	13
2.5.3. Superoksid dismutaza	14
2.5.4. Katalaza	15
2.5.5. Karbonilirani proteini i napredni oksidirani proteinski proizvodi (AOPP)	15
2.6. ANTIOKSIDANSI U KAKAU	16
2.7. UTJECAJ KONZUMACIJE KAKAA NA PARAMETRE OKSIDACIJSKOG STRESA	17
2.8. UTJECAJ KAKAA NA ZDRAVLJE	19
<b>3.0. ZAKLJUČAK</b>	<b>20</b>
<b>4.0. LITERATURA</b>	<b>21</b>

## 1.0. UVOD

Kakao (*Theobroma cacao* L.) je važan višegodišnji usjev na kojemu se temelji uspješna svjetska industrija čokolade.

„Kakao“ kao takav jest sušeno i fermentirano masno sjeme stabla kakaovca, a izraz „kakao“ koristi se i za kakao prah, odnosno suhi prah dobiven mljevenjem sjemenki kakaia i uklanjanjem kakao maslaca iz krute tvari kakaia.

Smatra se primjerom funkcionalne hrane jer sadržava polifenole koji pokazuju pozitivno djelovanje na više funkcija u ljudskom organizmu, a neke od prisutnih biološki aktivnih komponenti direktno djeluju i na određene parametre oksidacijskog stresa. Također, konzumiranje kakaia i njegovih proizvoda pokazuje blagotvoran učinak na smanjenje krvnog tlaka, a djeluje i na prevenciju razvoja dijabetesa tipa 2 povećanjem izlučivanja inzulina i regulacijom apsorpcije glukoze u krvi.

Svakako je važno napomenuti kako proizvodnja raznih derivata kakaia može smanjiti udio polifenola za čak 90% pa se preporučuje konzumirati kakao u obliku praha ili tamnu čokoladu koja sadrži visok udio kakaia radi osiguranja antioksidacijske sposobnosti koju polifenoli pružaju.

Cilj ovog rada je istražiti utjecaj konzumacije kakaia na parametre oksidacijskog stresa.

## 2.0. TEORIJSKI DIO

### 2.1. KAKAO (*Theobroma cacao* L.)

Kakao (*Theobroma cacao* L.) je važan višegodišnji usjev na kojemu se temelji uspješna svjetska industrija čokolade (slika 1).

Plod kakaovca raste na zimzelenom stablu u tropskim šumama, odnosno u vlažnoj klimi s mnogo padavina. Stablo se mora nalaziti u sjenci visokih stabala. Ovo "čokoladno drvo" svi bismo voljeli imati u svom vrtu, ali u našim krajevima, nažalost, ne uspijeva. Najpogodnija temperatura za razvoj je između 25 i 35 °C. Nagađalo se da je divlji kakaovac rastao sve od jugoistočnog Meksika do rijeke Amazona, dok novija istraživanja pokazuju da je ipak stigao s tropskih područja Amazona, a poslije se raširio sve do Sjeverne Amerike.



**Slika 1.** Drvo kakaovca ((Anonymous 1, 2020)

Danas najbolje uspijeva u ravničarskim područjima ispod Anda te oko rijeka Amazon i Orinoco. A kako se proširio svijetom? Kristof Kolumbo donio je sjeme kakaovca na španjolski dvor, a nešto kasnije španjolski osvajač Hernando Cortez 1519. probao je na dvoru kralja

Montezume "gorku vodu". Kad se desetak godina kasnije vratio u Španjolsku, sa sobom je donio i čokoladni napitak nazvan "cho-co-lah-tay".

Godine 1615. taj se napitak prvi put pojavio na kraljevskom vjenčanju u Francuskoj, a 1662. godine doputovao je, pod nazivom "chocolata", u Englesku. Čokolada kakvu poznajemo danas je novijeg datuma, i to zahvaljujući Nizozemcu Conradu J. van Houtenu, koji je 1828. godine patentirao hidrauličnu presu, koja je mrvila zrna kakaovca iz kojeg nastaje kakao prah.

Riječ kakao potiče od astečkog naziva za kakaovac "cacahuatl". Kakaovac je prvo uspijevao u Srednjoj Americi. Kakaovac može narasti do pet ili šest metara u visinu, a raste vrlo brzo. Krupni plodovi u obliku krastavaca u početku su zeleni, a kad sazriju i dobiju smeđu boju, spremni su za branje. U plodu je šezdesetak sjemenki u pet redova.



**Slika 2.** Zrna kaka (Anonymus 2, 2020)

Poznato je oko 20 botaničkih varijeteta kakaovca, ali tri najzastupljenija su: *Criollo* („domaći“), *Forastero* i *Trinitario* koji je hibrid *Criolla* i *Forastera*.

*Criollo* je najcjenjeniji botanički varijetet kakaovca, blagog je okusa i arome, a slabe gorčine te se koristi u proizvodnji čokolade visoke kakvoće. *Forastero* je gorkastoga i kiselkastog okusa, slabije izraženoga mirisa i arome, a koristi se u proizvodnji čokolade srednje do fine kakvoće. *Trinitario* objedinjuje senzorske karakteristike *Criolla* te čvrstoću, izdržljivost i iskorištenje *Forastera*, bogat je kakaovim maslacem te je osnova fine čokolade.

Kakaovo zrno obavijeno je ljuskom, a u unutrašnjosti se nalazi endosperm koji se sastoji od dva sloja kotiledona između kojih se nalazi klica (slika 2). Upravo je kotiledon tehnološki interesantan jer sadržava pigmentne stanice u kojima su sadržani tanini, kao što su katehini, zatim pigmenti leukocijanidini i antocijani te purini kao što su teobromin i kafein. Sve navedene



tvori pokazuju određeno djelovanje na naš organizam. Nadalje, kotiledon sadržava i rezervne stanice u kojima je kakaova mast, škrob i aleuronski sloj u kojemu se nalaze proteini, fosfati i mineralne tvari.

Kvaliteta kakovih zrna ovisi o genetskim osobinama, a varira prema klimatskim uvjetima, primjeni agrotehničkih mjera, uvjetima fermentacije, sušenju, skladištenju i transportiranju.

U svježem zrnu kakaa najzastupljeniji polifenolni spoj je epikatehin, s prosječnom količinom od 21 do 43 mg epikatehina  $g^{-1}$  odmašćenoga uzorka kaka (Jalil i Ismail, 2008).

Procesiranje zrna kaka utječe na sadržaj polifenola pa tako tijekom fermentacije polifenoli difundiraju sa staničnom tekućinom iz skladišnih stanica te se podvrgavaju oksidaciji, i neenzimatskoj oksidaciji i oksidaciji kataliziranoj polifenol-oksidadom, polimerizaciji i reakciji s proteinima. Tijekom sušenja dolazi do dodatnog gubitka polifenola, poglavito zbog reakcija neenzimskog posmeđivanja (Misnawi i sur., 2004).

Prženje kakaovih zrna također rezultira značajnim gubitkom polifenola, prvenstveno onih termolabilnih, kao i oksidacijom epikatehina i katehina do kinona koji se potom može kompleksirati s aminokiselinama i proteinima te polimerizirati s drugim polifenolima (Li i sur., 2012).

Pri proizvodnji čokolade mora se voditi računa o kvaliteti zrna kaka ako se želi postići kvalitetan proizvod. Stoga je izbor kakao zrna – prvi i najvažniji korak u proizvodnji.

Svježe ubrana zrna kaka moraju se sušiti kako bi potaknuli proces fermentacije. Zrna se najčešće ostavljaju na suncu pokrivena lišćem banane.

U prvoj fazi zrna kaka se čiste kako bi se uklonio vanjski sloja zrna i neželjene nečistoće. Sljedeća faza je prženje kakao zrna. Prženjem se razvija specifičan okus koji utječe na buduću okus čokolade. Nakon prženja zrno se drobi u drobilici gdje se odvaja ljuska i klica od jezgre. Tako izdrobljena jezgra se zove kakao lom. Kakao lom se melje na veličinu 130 microns, pri čemu sav kakao maslac prirodno prisutan u lomu izlazi vani te nastaje tekuća kakao masa. Mljevenje je onaj proces gdje nestaju kakao zrna i nastaje kakao masa!

Daljnjom obradom u ovom postupku se dobivaju dva najpoznatija produkta: čvrsta kakao masa i tekući kakao maslac. Kakao maslac je nezamjenjiv i široko primjenjivan o čijem postotku u budućoj čokoladi ovisi specifičan okus.

Končiranje i temperiranje je nezaobilazni dio procesa. Čokolada se pri određenim temperaturama u posebno oblikovanim posudama i mješalicama miješa kako bi izgubila na gorčini i dobila na što zaglađenijoj teksturi. Što je dugotrajniji proces končiranja čokolada je u pravilu bolja.

Temperiranje je postupak koji čokoladu čini sjajnom, zaglađenom, topljivom i specifično lomljivom na dodir. U ovoj završnoj fazi se dodaju i razni dodaci poput lješnjaka, badema, groždica, mrvljenog keksa ovisno o ukusu potrošača.

S obzirom kako su svi navedeni procesi obrade kakao zrna potrebni za razvijanje prepoznatljive kakao arome, u današnje vrijeme se pokušavaju provoditi na način koji će omogućiti što je bolje moguće održavanje sadržaja polifenola uz postizanje zadovoljavajuće arome.

### 2.1.1. Kemijski sastav kakaa

Kemijski sastav kakaa je vrlo složen zbog različitog sastava endosperma, ljuske i klice, kako je i prikazano u Tablici 1.

Proteini čine najmanji udio osnovnih sastojaka kakaovih proizvoda. Njihovom hidrolizom ne smiju nastati amini jer bi došlo do razvoja nepoželjne arome. Međutim, određena količina peptida i amina je poželjna radi oblikovanja kakaove i čokoladne arome. Nadalje, proteini mliječnih dijelova, kao što su kazein i proteini sirutke, pridonose reološkim svojstvima mliječne čokolade.

**Tablica 1.** Kemijski sastav zrna kakaa

	ENDOSPERM	LJUSKA	KLICA
Voda	5	12	5
Masti	50-55	1-2	2,5-3,5
Proteini	11,8-14	12-15	24,5
Teobromin	1,2	1-2	1,5
Kafein	0,2	0,2	0,2
Škrob	6	3	-
Celuloza	9	27	4
Pentozani	1,5	7	-
Pektini	-	8	-
Šećeri	1	-	-
Taninske tvari	6	1	-
Organske kiseline	1,2-1,5	-	-
Mineralne tvari	2,6-4	5,5-12,4	5,7-6,9

Udio masti veći je nego kod drugih sjemenki te u endospermu iznosi čak 61%. U Tablici 2. prikazan je prosječni udio masnih kiselina u trigliceridima kaka.

**Tablica 2.** Prosječni sastav masnih kiselina u zrnu kaka (Goldoni, 2004)

VRSTA MASNIH KISELINA	%
palmitinska kiselina	23-30
stearinska kiselina	32-37
oleinska kiselina	30-37
linolna kiselina	2-4
linolenska kiselina	0,3
laurinska kiselina	0,1

Mnogobrojna istraživanja pokazala su kako stearinska kiselina, iako zasićena, ne uzrokuje povećanje razine serumskog kolesterola, a oleinska kiselina čak pokazuje potencijalno koristan utjecaj na razinu kolesterola u krvi.

Od biološki aktivnih sastojaka u zrnu kaka zastupljeni su: polifenoli, metilksantini, biogeni amini, vitamini i mineralne tvari.

Od metilksantina prisutni su teobromin koji čini 3,7% bezmasne suhe tvari kakaova zrna te kafein koji čini 0,2% bezmasne suhe tvari kakaova zrna. Karakterizira ih stimulirajuće djelovanje na središnji živčani sustav, vazodilatirajuće djelovanje, bronhodilatirajuće djelovanje i diuretičko djelovanje.

Polifenoli, široko rasprostranjeni sekundarni biljni metaboliti, nalaze se u pigmentnim stanicama kotiledona. Čine 12-18% suhe mase zrna kaka, od čega 60% odgovara monomernim oblicima katehinu i epikatehinu te oligomernim flavanolima. Najzastupljeniji monomerni flavanol je (-)-epikatehin s udjelom do 35%, a potom ga slijede (+)- katehin i procijanidin B2 (Rusconi i Conti, 2010).

Polifenolni sastav kakaovog zrna ovisi o: varijetetu kakaovca, geografskom podrijetlu, uvjetima uzgoja te o zrelosti kakaovih plodova (Badrie i sur., 2015). Udio i sastav polifenolnih spojeva smanjuje se tijekom procesa prerade kakaova zrna koji se naziva fermentacija te tijekom proizvodnje čokolade procesima prženja, valcanja i končiranja.

Tanini su zastupljeni s otprilike 6%, a značajni su za boju i aromu kaka. Mogu biti produkti katehina ili produkti kondenzacije hidroksiliranih flavan diola i flavan triola. Iz proantocijanidina u kiseloj sredini nastaju antocijanidini i antocijani, od kojih je najzastupljeniji cijanidin, crveni pigment kakaova zrna (Badrie i sur., 2015.)

## **2.2. LIPIDI**

Lipidi jesu skupina bioloških makromolekula koja obuhvaća: trigliceride, fosfolipide, glikolipide, sterole i vitamine topljive u mastima. Navedena kemijski raznovrsna skupina spojeva pokazuje zajedničko svojstvo netopljivosti u vodi te topljivost u organskim otapalima kao što su: kloroform, alkoholi, eteri i ugljikovodici. Zbog navedenog svojstva u krvi se prenose u kompleksu s proteinima, odnosno apolipoproteinima.

Razlikujemo jednostavne ili neutralne lipide, složene ili polarne lipide, pratioce lipida i derivate lipida.

Jednostavni ili neutralni lipidi skladište su energije i termički izolator, a obuhvaćaju masti i ulja.

Složeni ili polarni lipidi sastojci su staničnih membrana i fiziološki su aktivni, a u navedenu grupu spadaju: fosfolipidi, glikolipidi i lipoproteini.

Derivati lipida spojevi su dobiveni hidrolizom jednostavnih i složenih lipida: masne kiseline, glicerol i drugi alkoholi.

Pratioci lipida su spojevi niske energetske, ali visoke biološke vrijednosti: steroli, vitamini topljivi u mastima, boje, klorofili i terpeni.

Lipidi su hranjive tvari s najmanjim sadržajem kisika, zbog čega sadrže najviše energije, čak 37,7-39,7 kJ/g.

### **2.2.1. Kolesterol**

Kolesterol je lipidna alifatska molekula jako važna za ljudski organizam jer je bitna strukturna komponenta svih staničnih membrana i vanjskoga sloja plazme lipoproteina. Sintetizira se u mnogim tkivima iz acetyl-CoA te se u konačnici eliminira iz tijela u žuč ili u žučne soli. Karakterističan je za životinjske stanice, a krvlju se prenosi pomoću lipoproteina niske gustoće, odnosno pomoću LDL-a.

Njegova povećana koncentracija u organizmu može dovesti do razvoja ateroskleroze te kardiovaskularnih bolesti, ali i smanjena koncentracija također može biti štetna, iz čega se zaključuje kako propusnost membrane mora biti točno određena jer, ako je previše kolesterola, stanične membrane propuštaju i ono što ne treba, a ako je premalo kolesterola, neće proći molekule koje su potrebne stanicama.

Prehranom si osiguravamo oko 20% kolesterola, dok se 80% sintetizira u jetri, zbog čega se više pažnje treba usmjeriti na hranu koja utječe na sintezu kolesterola, nego na samu hranu koja je bogata kolesterolom.

U krvi može biti prisutan u obliku kompleksa LDL-a ili u obliku kompleksa HDL-a. LDL, odnosno lipoproteini niske gustoće, takozvani je „loš kolesterol“ te je jedan od najvažnijih čimbenika rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti. Glavni su nosioci kolesterola u cirkulaciji. Osjetljivi su na oksidaciju te je upravo oksidacijska modifikacija LDL-a povezana s patogeneom ateroskleroze. Oksidirani LDL nastaje kada LDL uništavaju slobodni radikali. Porast oksidacije LDL-a povezan je s niskom bioraspoloživosti dušikova oksida te s visokom proizvodnjom reaktivnih kisikovih vrsta u arterijskom zidu (Jaramillo Flores, 2019).

HDL, odnosno lipoproteini visoke gustoće, najgušće su i najmanje čestice lipoproteina koje su zadužene za transport kolesterola iz perifernog tkiva u jetru. Nazivamo ga još „dobrim kolesterolom“.

### **2.2.2. Trigliceridi**

Trigliceridi su esteri trovalentnog alkohola glicerola i masnih kiselina. Prikadna su zaliha energije jer su reducirani i pohranjuju se u gotovo bezvodnom obliku.

U sisavaca je glavno mjesto nakupljanja triglicerida citoplazma adipoznih stanica. Adipozne stanice specijalizirane su za sintezu i pohranu triglicerida te za njihovu mobilizaciju kao gorivih molekula koje se potom krvlju upućuju prema ostalim tkivima.

Većinu lipida uzimamo upravo u obliku triglicerida koji se moraju razgraditi do masnih kiselina kako bi se mogli apsorbirati u crijevnom epitelu, a razgradnju kataliziraju enzimi lipaze koje izlučuje gušterača. Razgradnja triglicerida je nužna jer zbog svoje prevelike hidrofobnosti ne mogu proći kroz membranu, odnosno taložili bi se između dvosloja fosfolipida u membrani, zbog čega bi membrana enterocita promijenila svojstva.

### **2.3. OKSIDACIJSKI STRES**

Oksidacijski stres je metaboličko stanje organizma uzrokovano neravnotežom između proizvodnje i akumulacije reaktivnih vrsta kisika (engl. reactive oxygen species) te reaktivnih vrsta dušika (engl. reactive nitrogen species) u stanicama i tkivima, kao i zbog narušene sposobnosti organizma da ih razgrad (Sies i Jones, 2007).

Do oksidacijskog stresa može doći i nakon konzumacije hrane pa govorimo o postprandijalnom oksidacijskom stresu jer se konzumiranjem namirnica s velikom količinom

ugljikohidrata i masti u cirkulacijskoj krvi povećava koncentracija slobodnih masnih kiselina, triglicerida i glukoze, što dovodi do povećanog prijenosa elektrona kroz mitohondrijski respiratorni lanac, čime se ubrzava proizvodnja superoksida (Mehrabani i sur., 2019).

Oksidacijski stres oštećuje membrane, lipide, proteine, lipoproteine i nukleinske kiseline. Višak hidroksilnog radikala i peroksinitrita uzrokuje lipidnu peroksidaciju, s posljedičnim oštećenjima stanične membrane i lipoproteina. Nadalje, proteini se djelovanjem kisikovih radikala podvrgavaju različitim konformacijskim modifikacijama koje mogu utjecati na oštećenje ili čak i gubitak njihove enzimske aktivnosti. Oksidacija nukleinskih kiselina mutagena je i može dovesti do različitih modifikacija DNA kao što su jednolančani i dvolančani lomovi ili kovalentno povezivanje s proteinima. Većina tih DNA modifikacija direktno su povezane s karcinogenezom, starenjem te s neurodegenerativnim, kardiovaskularnim i autoimunim bolestima.

Živčane stanice posebno su osjetljive na oksidacijski stres jer se ne dijele pa akumuliraju oksidacijska oštećenja tijekom cijeloga života. Osim toga, visoko su i specijalizirane i relativno velike pa zahtijevaju i veću metaboličku aktivnost kako bi osigurale dovoljnu količinu energije za svoje funkcije, a upravo je veća mitohondrijska aktivnost povezana s povećanim stvaranjem kisikovih radikala (Birben i sur., 2012).

### **2.3.1. Lipidna peroksidacija**

Lipidna peroksidacija je oksidacijsko oštećenje lipida koje se u stanici javlja uslijed djelovanja slobodnih radikala. Tijekom tog procesa dolazi do vezanja slobodnih radikala za dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina te se aktivira lančana reakcija u kojoj nastaju novi oblici slobodnih radikala i razgradnih produkata oksidacije, a završetak reakcije teoretski se događa kada nastanu lipidni razgradni produkti: lipidni alkoholi i aldehidi (Catala, 2009).

Posljedice kaskade reakcija jesu: smanjenje fluidnosti membranskih lipida, inaktivacija membranskih enzima i receptora, stvaranje citotoksičnih karbonilnih spojeva, aterosklerotska oštećenja te nespecifična propusnost za ione, pogotovo kalcijeve ione.

### **2.3.2. Slobodni radikali**

Slobodni radikali su molekule koje imaju nespareni elektron, zbog čega su izuzetno reaktivni jer nastoje popuniti valentnu orbitalu i time postići stabilnu elektronsku konfiguraciju.

Stvaraju se u tijelu normalnim fiziološkim procesima kao što je proces dobivanja energije u stanicama u kojem dolazi do reakcije glukoze s kisikom kako bi se dobila energija

kroz redoks reakcije u mitohondrijima. Međutim, nastaju i kao rezultat vanjskih čimbenika (izloženost stresu, izloženost ionizirajućem zračenju, pretjerana izloženost UV-zračenju, zagađeni zrak) te kao posljedica loših životnih navika (pušenje, pohana i pržena hrana, neumjerena količina suhomesnatih proizvoda).

Reaktivne vrste kisika biokemijski su najznačajniji slobodni radikali čija povećana količina dovodi do oksidacijskog stresa, zbog čega nastaju oksidacijska oštećenja, smrt stanice, oštećenja tkiva i različite bolesti.

Tri glavne reaktivne vrste kisika koje su od fiziološkog značaja su: superoksidni anion ( $O_2^-$ ), hidroksilni radikal ( $\bullet OH$ ) i vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ). Superoksidni anion nastaje dodavanjem jednog elektrona molekuli kisika, što je posredovano ili nikotin adenin dinukleotid fosfat oksidazom, ili ksantin oksidazom, ili mitohondrijskim sustavom za prijenos elektrona. Djelovanjem superoksid dismutaze superoksid se konvertira u vodikov peroksid.

Vodikov peroksid također nastaje djelovanjem ksantin oksidaze, oksidaze aminokiselina i NAD(P)H oksidaze u peroksisomima trošenjem molekularnog kisika u metaboličkim reakcijama.

Hidroksilni radikal je najreaktivniji od navedenih reaktivnih vrsta kisika koji može oštetiti proteine, lipide, ugljikohidrate i DNA. Značajan je i po tome što može započeti lipidnu peroksidaciju preuzimanjem elektrona od polinezasićenih masnih kiselina.

## **2.4. ANTIOKSIDACIJSKA ZAŠTITA**

Ljudski organizam posjeduje brojne antioksidanse koji stabiliziraju neravnotežu nesparenih elektrona i neutraliziraju potencijalno štetno djelovanje slobodnih radikala, a da pri tome ne postanu sami nestabilni. Možemo ih podijeliti u dvije kategorije: antioksidacijski enzimi (superoksid dismutaza, katalaza, glutation peroksidaza, glutation transferaza, tioredoksin, peroksiredoksin) i neenzimski antioksidansi (glutacion,  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -tokoferol, askorbinska kiselina).

Antioksidacijski enzimi nastaju u stanicama te razgrađuju manje aktivne vrste kisikovih radikala u nenabijene neaktivne molekule. Najvažniji antioksidacijski enzimi u našem organizmu su:

- superoksid dismutaza (SOD),
- katalaza (CAT) i
- glutation peroksidaza (GSH-Px).

Neenzimski antioksidansi podrazumijevaju brojne jednostavne ili složene molekule koje pretvaraju nezasićene, vrlo aktivne molekule slobodnih radikala u zasićene, inaktivne oblike koji ne predstavljaju opasnost za ljudski organizam. Najpoznatiji od njih su:

- vitamin C (askorbinska kiselina),
- vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol),
- glutation,
- mokraćna kiselina,
- lipoična kiselina,
- karotenoidi,
- flavonoidi.

#### **2.4.1. Antioksidansi**

Antioksidansi reguliraju nastajanje slobodnih radikala zbog svoje sposobnosti stabilizacije ili deaktivacije radikala. Mogu ili nastajati u stanici pa govorimo o endogenim antioksidansima kao što su glutation i superoksid dismutaza ili se u organizam unose hranom ili u obliku vitaminskih i sličnih suplemenata, što su egzogeni antioksidansi, od kojih su najpoznatiji: vitamini C, A ( $\beta$ -karoten), i E te mineral selen koji sudjeluje u radu enzima koji obnavlja vitamin E.

Antioksidansi onemogućuju stvaranje novih slobodnih radikala u organizmu, uništavaju stvorene radikale te popravljaju stanična oštećenja nastala djelovanjem slobodnih radikala.

#### **2.5. PARAMETRI OKSIDACIJSKOG STRESA**

Laboratorijske markere oksidacijskog stresa možemo podijeliti u tri glavne kategorije:

1. Reaktivne vrste kisika,
2. Produkti oksidacijskog oštećenja (DNA/RNA, lipidi i proteini) i
3. Antioksidansi

Reaktivne vrste kisika medijatori su oksidacijskog stresa koji direktno oštećuju stanične strukture. U organizmu su fiziološki najznačajniji superoksidni anion ( $O_2^-$ ), hidroksilni radikal ( $\cdot OH$ ) i vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ). S obzirom na svoju specifičnu strukturu relativno se lako određuju u živim stanicama. Međutim, klinički značaj mjerenja njihove koncentracije u stanicama je malen, s obzirom da izmjerena vrijednost ne odražava objektivni stupanj oksidacije već samo ukazuje na postojanje oksidacijskog potencijala stanica (Thérond i sur.,



2000). Zato je mjerenje reaktivnih kisikovih molekula važno u nekim stanjima i bolestima, najčešće nasljednim, kod kojih postoji sumnja na smanjenu oksidacijsku sposobnost stanica.

Puno precizniji uvid u stupanj oksidacijskog stresa dobije se mjerenjem razine oštećenja DNA/RNA, peroksidacije lipida i oksidacije/nitracije proteina.

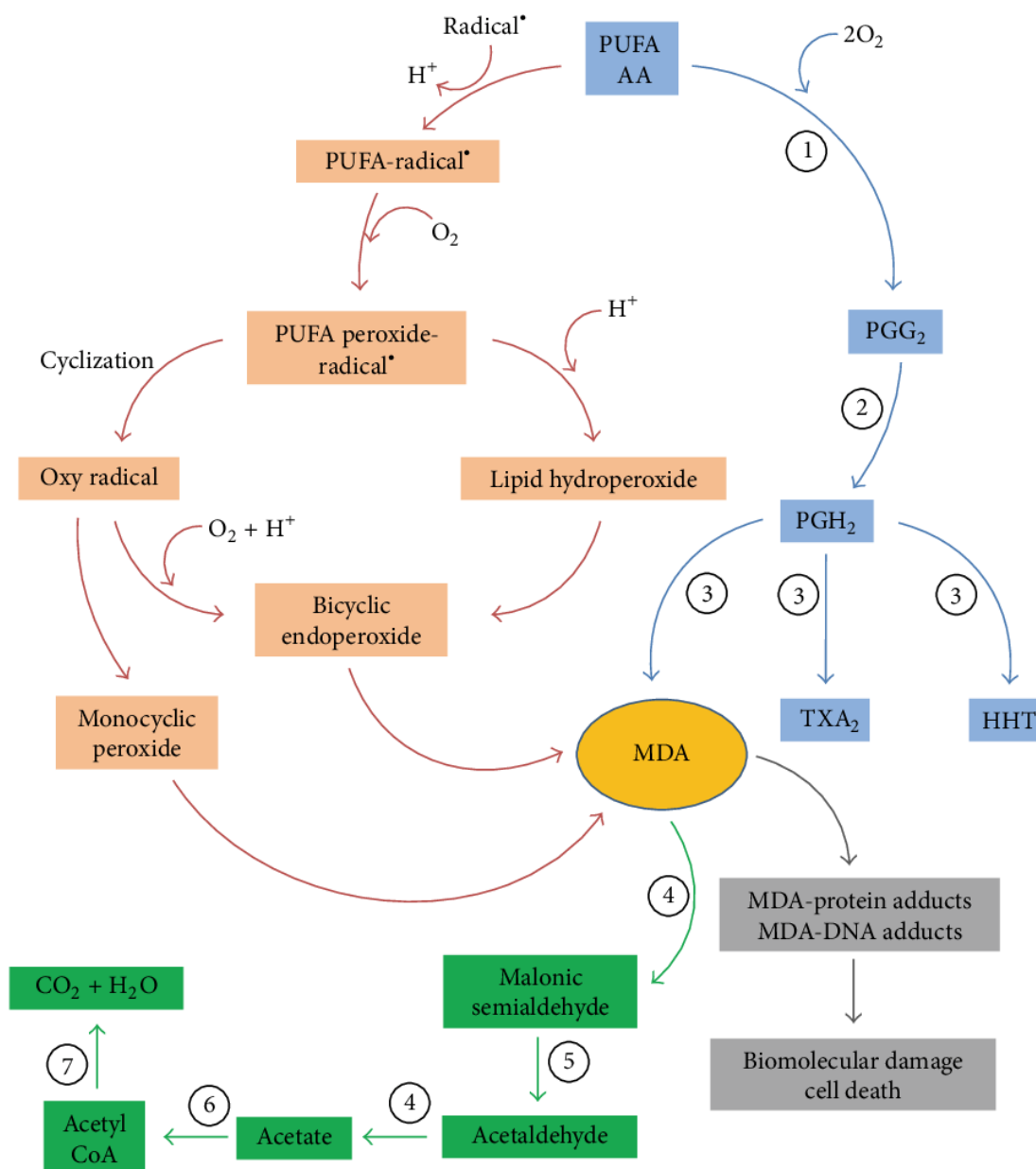
Tako je 8-hidroksideoksigvanozin (8-OHdG) najčešće korišten marker oštećenja DNA oksidacijskim stresom. Malondialdehid (MDA) najčešće je korišten marker oštećenja lipida oksidacijskim stresom, a ujedno i jedan od najčešće korištenih markera u procjeni oksidacijskog stresa općenito. Pored malondialdehida, u markere peroksidacije lipida ubrajaju se i: 4-HNA, 8-izoprostan, lipidni hidroperoksidi (LPO) i oksidirani LDL. Najčešći markeri oksidacijskog oštećenja proteina jesu karbonilirani proteini i 3-nitrotirozin.

Određivanjem koncentracije antioksidansa dobiva se uvid u antioksidacijski kapacitet i sposobnost organizma da se bori protiv oksidacijskog stresa. Ukupni antioksidacijski kapacitet uzorka najčešće se određuje mjerenjem sposobnosti antioksidansa da inaktiviraju reaktivne vrste kisika. Međutim, kako bi se dobio precizniji uvid u stanje antioksidacijskog sustava često je neophodno odrediti koncentracije pojedinačnih antioksidacijskih markera u koje ubrajamo: glutation, omjer aktivnog i oksidiranog glutationa, glutation-S-transferaza, glutation peroksidazu, superoksid dismutazu, katalazu, tiol, askorbinsku kiselinu.

### **2.5.1. Malondialdehid**

Malondialdehid (MDA), najčešće korišten biomarker oksidacijskog stresa, jedan je od glavnih produkata lipidne peroksidacije (Marrocco i sur., 2017).

Polinezasićene masne kiseline posebno su podložne oksidaciji zbog prisutnih dvostrukih veza u lancima masnih kiselina. Radikali  $O_2^-$  i  $OH^-$  reagiraju s metilenskim skupinama u područjima dvostrukih veza stvarajući konjugirane diene, lipidne peroksilne radikale i hidroperoksidi koji dalje propagiraju lančane reakcije (slika 3). U prisustvu prijelaznih metala hidroperoksidi stvaraju aldehide, kao što je malondialdehid, alkene i alkenale koji reagiraju s tiobarbituratnom kiselinom, dajući ružičasti talog koji se može izmjeriti kolorimetrijski i fluorimetrijski (Marrocco i sur., 2017).



**Slika 3.** Nastanak i metabolizam malondialdehida (Ayala i sur., 2014)

### 2.5.2. Glutation

Glutation je glavni topljivi antioksidans uključen u mnoge biološke procese, među kojima ubrajamo i unutarstaničnu ulogu u detoksikaciji ksenobiotika i reaktivnih vrsta kisika. Tripeptid je (L-g-glutamil-L-cisteinil-glicin) sa sulfhidrilnom skupinom koja je donor elektrona u reakcijama sa slobodnim radikalima, čime ih nastoji stabilizirati, dok se ona oksidira u disulfidni oblik te takvim procesom štiti stanicu od oksidacijskog stresa (Xiong i sur., 2001).

Unutarstanična koncentracija glutationa kreće se u rasponu od 0,5 do 10,0 mmol L<sup>-1</sup>, ovisno o tipu stanice. Smatra se tiolnim puferom stanice koji ima ulogu održavanja tiolnoga redoks sustava pomoću enzima glutation reduktaze.

Koenzim je za razne enzime, među ostalim i za glutation-peroksidazu koji predstavlja ključni zaštitni učinak protiv oksidacijskog stresa. Navedeni enzim prevodi glutation u oksidirani oblik (GSSG), koji je nastao kao posljedica stvaranja reaktivnih kisikovih oblika, u reducirani oblik glutationa (GSH).

Dostupne su brojne metode za određivanje koncentracije reduciranog glutationa (GSH) i glutation disulfida (GSSG), a izbor prikladne metode ovisi o prirodi uzorka, dostupnoj opremi, kao i potrebi određivanja koncentracije glutation disulfida (GSSG). U oksidacijskom stresu omjer GSH/GSSG smanjen je u staničnim odjeljcima

Jedan od karakterističnih procesa u oksidacijskom stresu u kojem sudjeluje glutation je S-glutationilacija, posttranslacijska modifikacija u kojoj dolazi do modifikacije redoks osjetljive skupine proteina (Antelmann i Helmann, 2011).

### **2.5.3. Superoksid dismutaza**

Superoksid dismutaza (SOD) je intracelularni antioksidacijski enzim, prisutan u svih aerobnih organizama, koji skuplja superoksidne radikale u stanici te katalizira reakciju dismutacije dva superoksidna radikala i dva protona, proizvodeći vodikov peroksid i molekularni kisik. Mehanizam se odvija u dva koraka. U dvije polu-reakcije superoksid dismutaza reagira s jednom po jednom molekulom superoksidnog radikala. U prvoj polu-reakciji uzima jedan proton i tako se reducira uz nastanak O<sub>2</sub>, dok se u drugoj polu-reakciji ponovno oksidira uz nastanak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Miler, 2004).

Međutim, i vodikov peroksid posjeduje visoki reaktivni oksidacijski potencijal pa će i njegovo prekomjerno nakupljanje biti štetno za ljudski organizam, zbog čega se višak detoksificira, za što su odgovorni enzimi katalaza i glutation peroksidaza. Superoksid dismutaza pripada skupini metaloenzima, a u ljudi postoje tri vrste: citosolna dismutaza CuZnSOD, mitohondrijska dismutaza MnSOD te izvanstanična dismutaza EC-SOD.

Smatra se kako CuZnSOD i MnSOD djeluju kao „čistači“ (engl. scavengers) u organizmu stvorenih superoksidnih radikala.

Za određivanje aktivnosti enzima najčešće se primjenjuju neizravne metode koristeći različite detektorske molekule kao što su: citokrom C, nitroblue tetrazolij, luminol, lucigen, pirogalol, nitrit, adrenalin ili p-jodonitrotetrazolijum (Goldstein i sur., 1996).

#### **2.5.4. Katalaza**

Katalaza (CAT) je intracelularni enzim koji se uglavnom nalazi u peroksisomima, a katalizira pretvorbu reaktivnih molekula vodikovog peroksida do vode i molekularnog kisika. Pritom, veže NADPH kao redukcijski ekvivalent kako bi se spriječila oksidacijska inaktivacija enzima vodikovim peroksidom dok se on reducira do vode.

Katalaze eukariota su homotetramerni enzimi s hem skupinom u aktivnom mjestu. Hem skupina u katalazi, za razliku od one u hemoglobinu, sadržava željezo u stabilnijem feri obliku ( $\text{Fe}^{3+}$ ).

Dva glavna načina određivanja aktivnosti katalaze su ispitivanje smanjenja koncentracije vodikovog peroksida (Aebi, 1984) ili određivanje pojave kisika. Smanjenje koncentracije vodikovog peroksida prati se mjerenjem apsorbanije na 240 nm. Oslobođanje kisika moguće je odrediti kisikovom elektrodom ili polarografijom.

Blagi oksidacijski stres povećava aktivnost i ekspresiju katalaze, ali višak  $\text{O}_2^-$  ju može inhibirati, stoga aktivnost katalaze ovisi o vrsti tkiva i procesa. U ljudi je povećana aktivnost katalaze karakteristična za bolesti jetre, gušterače i hemolitičke bolesti, dok je smanjena aktivnost zapažena kod onkoloških bolesnika i dijabetičara.

#### **2.5.5. Karbonilirani proteini i napredni oksidirani proteinski proizvodi (AOPP)**

Karbonilirani proteini važan su biokemijski marker oksidacije proteina. Karbonilne skupine u proteine mogu se uvesti reakcijama s aldehidima nastalima u procesu lipidne peroksidacije ili reaktivnim karbonilnim derivatima nastalima reakcijom reducirajućih šećera ili njihovih oksidacijskih produkata s aminokiselinskim ostatkom lizina.

Najčešće korištena metoda za određivanje karboniliranih proteina u plazmi je spektrofotometrijska metoda bazirana na uporabi 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH). Plazma se prvo tretira s DNPH, a potom se deprotonizira. Karbonilirani proteini određuju se na 370 nm, a njihova se koncentracija izražava se u  $\text{nmol mg}^{-1}$  u odnosu na serumski goveđi albumin izmjeren na 280 nm (Levine i sur., 1990).

Eliminacija ovakvih modificiranih proteina odvija se putem proteozomalnih i lizosomalnih degradacijskih procesa.

Napredni oksidirani proteinski proizvodi ili AOPP (engl. advanced oxidation protein products) naziv je za derivate oksidiranih proteina, posebice albumina, a sve češće se opisuje kao biomarker oksidacijskih oštećenja. Nastaju tijekom oksidacijskog stresa, putem aktiviranja kloriranih oksidansa, uglavnom hipoklorne kiseline i kloramina. Ljudski albumin glavni je

multifunkcionalni protein seruma podvrgnut izmjenama u patološkim uvjetima. Neuravnotežen odnos oksidansa i antioksidansa rezultira izraženim oksidacijskim stresom i povećanim stvaranjem AOPP molekula.

## 2.6. ANTIOKSIDANSI U KAKAU

Polifenoli čine otprilike 12% do 18% suhe mase zrna kaka, od čega gotovo 60% odgovara monomernim oblicima katehinu i epikatehinu te oligomernim flavanolima. Najzastupljeniji monomerni flavanol je (-)-epikatehin, s udjelom do 35%, a potom ga slijede (+)-katehin i procijanidin B2 (Rusconi i Conti, 2010).

Flavanoli su sekundarni metaboliti koji pripadaju skupini flavonoida. Dijeles opću kemijsku strukturu koja uključuje dva prstena, A i B, povezana kroz tri ugljikova atoma koji tvore oksigenirani heterociklički prsten C. Flavanoli također posjeduju hidroksilne skupine vezane na prstenima A, B i C, a upravo su navedene skupine povezane sa smanjenjem markera oksidacijskog stresa. Kao i kod ostalih bioaktivnih komponenti, mehanizmi flavanola i procijanidina u velikoj mjeri ovise o njihovoj bioraspoloživosti u ciljanom tkivu (Braicu i sur., 2011).

Prisutnost šećera i ulja povećava bioraspoloživost polifenola, dok proteini s druge strane smanjuju bioraspoloživost polifenola iz zrna kaka (Tomas-Barberan, 2012).

Nadalje, općenito vrijedi da, što je polifenol manji, veća će biti njegova koncentracija u krvi te će biti veća mogućnost dopremanja polifenola do ciljnoga organa u tijelu (Cooper i sur., 2008).

Prirodni kakao sadrži najvišu razinu antioksidacijske sposobnosti te najveći udio ukupnih polifenola i procijanidina, dok se razine navedenih parametara smanjuju u čokoladi za kuhanje i pečenje, tamnim čokoladama, mliječnoj čokoladi i čokoladnim sirupima (Miller i sur., 2009).

Polifenolni ekstrakti iz kakaovog praha, koji sadrže monomerne flavanole, dimere i trimere procijanidina, štite humane jetrene stanice od oksidacijske osjetljivosti modulacijom koncentracije glutaciona i reaktivnih kisikovih vrsta te modulacijom proizvodnje malondialdehida i antioksidacijske aktivnosti enzima tako što smanjuju stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta, a povećavaju aktivnost antioksidacijskih enzima: glutation-peroksidaze i glutation-reduktaze (Martin i sur., 2008; Martin i sur., 2010).

Flavonoidi prisutni u kakau pokazuju snažnu antioksidacijsku aktivnost osiguravajući zaštitu od oksidacije i pomažući u sprječavanju razvoja bolesti uzrokovanih oksidacijskim stresom. Općenito, antioksidacijsku aktivnost flavonoida možemo proučavati *in vitro* i *in vivo*.

Promatrajući *in vitro*, može se reći kako ekstrakti različitih derivata kakaa pokazuju snažnu antioksidacijsku aktivnost koja je proporcionalna sadržaju flavonoida u ekstraktima derivata kakaa (Lee i sur., 2003).

Jedan od glavnih metabolita epikatehina, 3'-O-metilepikatehin, pokazuje zaštitno djelovanje protiv stanične smrti uzrokovane oksidacijskim stresom. Nadalje, kvercetin je značajan jer uklanja reaktivne kisikove vrste, inhibira ksantin-oksidadu te inhibira lipidnu peroksidaciju *in vitro*.

Flavan-3-oli ili kateholi, najraširenija skupina flavonoida, poznati su po tome što neutraliziraju slobodne radikale te smanjuju rizik od razvoja karcinoma. Epikatehin, koji spada u skupinu flavan-3-ola moćan je inhibitor oksidacije lipida u plazmi zahvaljujući sposobnosti vezanja polifenola za lipoproteine niske gustoće (Vinson i sur., 2006).

Promatrajući *in vivo*, konzumacija kakaa s visokim udjelom procijanidina i epikatehina povećava antioksidacijski kapacitet plazme te smanjuje sadržaj produkata oksidacije lipida u ljudskoj plazmi (Wang i sur., 2000).

## **2.7. UTJECAJ KAKAA NA PARAMETRE OKSIDACIJSKOG STRESA**

Sustavni pregled intervencijskih studija objavljena u radu kojeg su napisali Mehrabani i sur. uključivala je 48 studija provedenih do ožujka 2019. godine, a 16 njih uključeno je u meta-analizu, čime su se objedinili rezultati relevantnih klinički ispitivanja radi procjene potencijalnih učinaka konzumacije kakaa i njegovih proizvoda na markere oksidacijskog stresa, uključujući ukupnu razinu oksidacijskog stresa ili antioksidacijskog kapaciteta (engl. ferric-reducing antioxidant power), oksidirani lipoproteini male gustoće (oksidirani LDL), malondialdehid (MDA) i 8-izo-prostagladnin-F2 $\alpha$  u odrasloj populaciji. Pritom se je koristila internetska baza podataka: PubMed, Cochrane-ova biblioteka, Science Direct, Scopus, Google scholar i ISI Web of Science (WoS) do ožujka 2019. godine, a starosna dop ispitanika i status populacije nisu bili ograničeni (Mehrabani i sur., 2019).

FRAP (engl. ferric-reducing antioxidant potencijal) je spektrofotometrijska metoda koja je direktan test totalne antioksidacijske snage, a temelji se na sposobnosti antioksidansa koji reduciraju željezo iz feri (trovalentni) u fero (dvovalentni) oblik.

TRAP (engl. total reactive antioxidant potential) metoda mjeri sposobnost antioksidansa da onesposobe slobodne radikale donirajući im vodikov atom.

Upravo porast statusa FRAP-a i TRAP-a predstavlja antioksidacijsku snagu određenog spoja ili kemikalije.

U provedenim studijama obuhvaćena je različita ciljna populacija:

- 26 studija provedeno je na zdravim ispitanicima
- 3 studije provedene su na bolesnicima s dijabetesom tipa 2 i akutnom hiperglikemijom
- 3 studije provedene su na pušačima
- 2 studije provedene su na bolesnicima s bezalkoholnim steatohepatitisom
- 2 studije provedene su na starijoj populaciji
- 3 studije provedene su na bolesnicima sa zatajenjem srca
- 3 studije provedene su na pretilim ispitanicima te ispitanicima s prekomjernom tjelesnom masom
- 3 studije provedene su na hiperkolesteremičarima
- po 1 studija provedena je za svaku od sljedećih bolesti: hipertenzija, metabolički sindrom i hemodijaliza

U 27 provedenih istraživanja ispitanici su konzumirali čokoladu, u 16 studija kakao, a u 4 provedene studije konzumirali su i čokoladu i kakao.

Skupna procjena modela sa slučajnim učinkom pokazala je kako konzumacija kakaa značajno smanjuje serumsku razinu malondialdehida.

Nadalje, skupna procjena modela sa slučajnim učinkom pokazala je kako konzumacija čokolade značajno smanjuje razinu 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$ . Međutim, između studija došlo je do značajne heterogenosti jer kada je meta-analiza bila podgrupirana prema zdravstvenom stanju ispitanika, rezultat je ostao značajan za nezdravu skupinu.

Skupna procjena modela s fiksnim učinkom pokazala je kako konzumacija čokolade ne može značajno promijeniti niti FRAP niti TRAP.

Na osnovu navedenog zaključuje se kako potrošnja kakaa značajno smanjuje serumsku razinu malondialdehida i 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$  koji nastaje neenzimskom peroksidacijom arahidonske kiseline u membranama fosfolipida, ali ne utječe na ostale markere oksidacijskog stresa (Mehrabani i sur., 2000).

Ograničenja u provedenoj studiji jesu različita primijenjena doza kakaa u provedenim studijama, različiti načini konzumacije kakaa (npr. mlijeko s kakaom može utjecati na apsorpciju flavanola iz kakaa, što može oslabiti antioksidacijska svojstva kakaa), neinformiranost o genetskoj varijabilnosti među ispitanicima.

Kakao ima utjecaja i na kontrolu metabolizma kolesterola pa tako danas znamo kako polifenoli prisutni u kakau i čokoladi inhibiraju oksidaciju LDL kolesterola za čak 75% (Cooper i sur., 2008), dok s druge strane uzrokuje porast razine HDL kolesterola ili takozvanog „dobrog“ kolesterola. Istraživanja su pokazala kako će se razina HDL-a povećati u slučaju konzumacije

kakaa i derivata kakaa u trajanju duljem od tri tjedna, što se očituje prosječnim porastom u iznosu od 1,8 mg dL<sup>-1</sup> (Hooper i sur., 2012).

Porast koncentracije HDL-a za 1,0 mg dL<sup>-1</sup> smanjuje rizik od koronarnih bolesti srca za 2%-3% te smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti i smrtnosti za 3,7%-4,7% (Gordon i sur., 1989).

Prema kriterijima za dijagnozu metaboličkog sindroma, najčešći poremećaji metabolizma lipida uključuju povišenu razinu triglicerida u plazmi i nisku razinu HDL-a. Metabolički sindrom dislipidemija čak uključuje i porast ukupnog kolesterola, hilomikrona, LDL-a i VLDL-a. Određena epidemiološka istraživanja dokazala su izravnu vezu između unosa namirnica bogatih polifenolima te smanjenje predispozicije za razvoj dislipidemije. Upravo su oligomerni procijanidini iz kakaova praha glavne komponente odgovorne za inhibiciju crijevne apsorpcije kolesterola i žučnih kiselina smanjenjem topljivosti micelnog kolesterola (Mellor i sur., 2010).

## 2.8. UTJECAJ KAKAA NA ZDRAVLJE

Konзумiranje kakaa i njegovih proizvoda ima blagotvoran učinak na smanjenje krvnog tlaka te u prevenciji dijabetesa tipa 2 povećanjem izlučivanja inzulina i regulacijom apsorpcije glukoze u krvi.

**Tablica 3.** Rezultati meta-analiza kojima su se procjenjivali učinci konzumacije kakaa na krvni tlak (Santos i Macedo, 2018)

Autori	Broj studija	Broj analiziranih pojedinaca	Količina polifenola ili derivata (mg dl <sup>-1</sup> )	Trajanje (tjedni)	Srednja vrijednost za dijastolički krvni tlak (mmHg)	Srednja vrijednost za sistolički krvni tlak (mmHg)
Hooper i sur., 2012.	42	1297	50 do 100 epikatehina	0-18	-1,60	-1,50
Ried i sur., 2012.	20	856	30 do 1080 flavonola	2-18	-2,77	-2,20
Ried i sur., 2010.	15	578	30 do 1000 flavonola	2-18	-3,16	-2,02
Desch i sur., 2010.	10	297	6,8 do 902 flavonola	2-18	-4,52	-2,50
Taubert i sur., 2007.	5	97	213 do 500 polifenola	2	-4,70	-2,80



Kao što je prikazano u tablici 3, unos kaka a i njegovih derivata može smanjiti sistolički i dijastolički krvni tlak, a za navedeno djelovanje prvenstveno su zaslužni flavonoidi prisutni u kakau.

Epidemiološke i kliničke studije potvrđuju kako je redovita konzumacija kaka ova praha i/ili tamne čokolade povezana s padom sistoličkoga krvnog tlaka, i to za 3,2 mmHg do 5,8 mmHg te s padom dijastoličkoga krvnog tlaka za 2,0 mmHg do 3,3 mmHg, kao i s poboljšanjem vaskularne endotelne funkcije kod skupine pacijenata koji boluju od određene kardiovaskularne bolesti, ali i kod onih s višestrukim čimbenicima rizika (Bauer i sur., 2011).

Flavonoidi mogu uzrokovati i vazodilataciju, opuštajući mišićne stijenke krvnih žila, što izaziva povećanje protoka krvi te smanjenje sistemskog vaskularnog otpora. Epikatehin potiče vaskularno opuštanje djelujući na endotel i povećanje razine dušikovog oksida (Chen i sur., 2002).

Pored blagotvornog učinka na sniženje krvnog tlaka i poboljšanja lipidnog profila, konzumacija kaka a i derivata s visokim udjelom kaka a može i smanjiti rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti, kao što su koronarna bolest srca, atrijska fibrilacija, zatajenje srca i moždani udar.

Predloženi dnevni unos kaka a je 20 grama do 40 grama kako bi se osiguralo blagotvorno djelovanje na kardiovaskularni sustav (Santos i Macedo, 2018).

Međutim, važno je naglasiti kako konzumacija ovakve funkcionalne hrane nikako nije zamjena za terapiju lijekovima bolesnicima koji pate od hipertenzije i dislipidemije.

Flavonoidi također pokazuju zaštitno djelovanje protiv karcinoma, a mehanizmi koji sudjeluju u ovom zaštitnom učinku javljaju se u različitim fazama karcinogeneze, u fazama inicijacije i promocije tumora, kao i u napredovanju i metastaziranju (Lamuela-Raventós i sur., 2005).

Polifenoli prisutni u kakau pokazuju antimutagena svojstva u testovima koji se obično provode radi detekcije potencijalnoga mutagenog svojstva određene kemijske supstance, kao što je Ames-ov test.

Pored blagotvornog djelovanja na kardiovaskularni sustav i zaštitnog djelovanja protiv karcinoma, dokazalo se je kako konzumacija veće količine flavonoida prisutnih u kakau smanjuje rizik od razvoja demencije kod starijih osoba (Commenges i sur., 2000). Oksidacijski stres je inače povezan s gubitkom neurona kod neurodegenerativnih bolesti.

### **3.0. ZAKLJUČAK**

Kakao se smatra funkcionalnom hranom jer sadržava polifenole koji, iako nisu esencijalna komponenta ljudske prehrane, ipak imaju važnu ulogu u očuvanju zdravlja zbog dokazanih antioksidacijskih sposobnosti katehina i procijanidina prisutnih u kakau i njegovim derivatima.

Dosadašnja istraživanja pokazala su kako je konzumacija kakaa povezana sa smanjenjem krvnog tlaka te sa smanjenim rizikom od kardiovaskularnih bolesti, razvoja šećerne bolesti, ali i karcinoma tako što unos kakaa djeluje na parametre oksidacijskog stresa, prvenstveno na smanjenje malondialdehida, 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$ , ali i oksidiranog LDL kolesterola, poznatijeg kao „loš kolesterol“.

Međutim, od velike je važnosti naglasiti kako proizvodnja raznih derivata kakaa danas dostupnih na tržištu može značajno smanjiti udio polifenola pa se preporučuje konzumirati kakao u obliku praha ili tamnu čokoladu koja sadrži visok udio kakaa radi osiguranja antioksidacijske sposobnosti koju polifenoli pružaju.

S druge strane, nije preporučljivo konzumirati bijelu čokoladu i mliječnu čokoladu koje su lišene polifenola u velikoj mjeri, a sadrže dodane šećere.

#### 4.0. LITERATURA

- Aebi H. (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* **105**: 121-126.
- Anonymous 1, (2020) Drvo kakaovca, <<http://www.putokaz.me/herbarijum/2891-najsladjje-drvo-na-svijetu-kakaovac>>. Pristupljeno 25. srpnja 2020.
- Anonymous 2, (2020) Zrna kaka, <<https://www.zdravljeizprirode.hr/proizvod.php?id=61>>. Pristupljeno 25. srpnja 2020.
- Antelmann H., Helmann J. D. (2011) Thiol-based redox switches and gene regulation. *Antioxidants & Redox Signaling* **14**: 1049-1063.
- Badrie N., Bekele F., Sikora E., Sikora M. (2015) Cocoa agronomy, quality, nutritional, and health aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **55**: 620-659
- Bauer S. R., Ding E. L., Smit L. A. (2011) Cocoa Consumption, Cocoa Flavonoids, and Effects on Cardiovascular Risk Factors: An Evidence-Based Review. *Current Cardiovascular Risk Reports* **5**: 120–127.
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. (2012.) Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organisation Journal* **5**: 9-19.
- Braicu C., Irimie A., Berindan Pilecki V., Balacescu O., Neagoe I. (2011) The Relationships Between Biological Activities and Structure of Flavan-3-Ols. *International Journal of Molecular Sciences* **12**: 9342–9353.
- Catala A. (2009) Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chemistry and Physics of Lipids* **157**: 1-11.
- Chen Z. W., Yao X. Q., Chan F. L., Lau C. W., Huang Y. (2002). (-)-Epicatechin induces and modulates endothelium-dependent relaxation in isolated rat mesenteric artery rings. *Acta Pharmacologica Sinica* **23**: 1188–1192.
- Commenges D., Scotet V., Renaud S., Jacqmin-Gadda H., Barberger-Gateau P., Dartigues J. F. (2000). Intake of flavonoids and risk of dementia. *European Journal of Epidemiology* **16**: 357–363.
- Cooper K. A., Donovan J. L., Waterhouse A. I., Williamson G. (2008) Cocoa and health: a decade of research. *British Journal of Nutrition* **99**: 1–11.
- Desch S., Schmidt J., Kobler D., Sonnabend M., Eitel I., Sareban M., Rahimi K., Schuler G., Thiele H. (2010) Effect of cocoa products on blood pressure: systematic review and meta-analysis. *American Journal of Hypertension* **23**: 97-103.
- Goldoni L. (2004) Tehnologija konditorskih proizvoda, I. dio: Kakao proizvodi i proizvodi slični čokoladi, Kugler, Zagreb

- Goldstein S., Squadrito G. L., Pryor W. A., Czapski G. (1996) Direct and indirect oxidations by peroxyxynitrite, neither involving the hydroxyl radical. *Free Radical Biology and Medicine* **21**: 965-974.
- Gordon D. J., Probstfield J. L., Garrison R. J., Neaton J. D., Castelli W. P., Knoke J. D. (1989) High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. *Four prospective American studies* **79**: 8-15.
- Hooper L., Kay C., Abdelhamid A., Kroon P. A., Cohn J. S., Rimm E. B., Cassidy A. (2012) Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *American Journal of Clinical Nutrition* **95**: 740-751.
- Jaramillo Flores M. E. (2019) Cocoa Flavanols: Natural Agents with Attenuating Effects on Metabolic Syndrome Risk Factors. *Nutrients* **11**: 751-783.
- Lamuela-Raventós R. M., Romero-Pérez A. I., Andrés-Lacueva C., Tornero A. (2005) Health Effects of Cocoa Flavonoids. *Food Science and Technology International* **11**: 159-176.
- Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J., Lee C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 7292–7295.
- Levine R. L., Williams J. A., Stadtman E. R., Shacter E. (1994) Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology* **233**: 346-357.
- Li Y., Feng Y., Zhu S., Luo C., Ma J., Zhong F. (2012) The effect of alkalization on the bioactive and flavor related components in commercial cocoa powder. *Journal of Food Composition and Analysis* **25**: 17–23.
- Marrocco I., Altieri F., Peluso I. (2017) Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* <https://doi.org/10.1155/2017/6501046>
- Mehrabani S., Arab A., Mohammadi H., Amani R. (2019) The effect of cocoa consumption on markers of oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of interventional studies. *Complementary Therapies in Medicine* **48**: 102-240.
- Mellor D. D., Sathyapalan T., Kilpatrick E. S., Beckett S., Atkin S. L. (2010) High-cocoa polyphenol-rich chocolate improves HDL cholesterol in Type 2 diabetes patients. *Diabetic Medicine* **27**: 1318–1321.
- Misnawi S. J., Jamilah B., Nazamid S. (2004) Effect of polyphenol concentration on pyrazine formation during cocoa liquor roasting. *Food Chemistry* **85**: 73–80.
- Ried K., Sullivan T. R., Fakler P., Frank O. R., Stocks N. P. (2012) Effect of cocoa on blood pressure. Cochrane Database Systemic Review doi: 10.1002/14651858.CD008893.pub2.

- Ried K., Sullivan T., Fakler P., Frank O. R., Stocks N. P. (2010) Does chocolate reduce blood pressure? A meta-analysis. *BMC Medicine* **8**:1-11.
- Rusconi M., Conti A. (2010) Theobroma cacao L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacol. Res.* 61: 5–13.
- Rusconi M., Conti A. (2010) Theobroma cacao L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research* **61**: 5–13.
- Santos H. O., Macedo R. C. O. (2018) Cocoa-induced (Theobroma cacao) effects on cardiovascular system: HDL modulation pathways. *Clinical Nutrition ESPEN* **27**: 10-15.
- Sies H., Jones D. (2007) Encyclopedia of Stress. 2 izdanje. Academic Press.
- Taubert D, Roesen R, Schomig E. (2007) Effect of cocoa and tea intake on blood pressure: a meta-analysis. *Archives of internal medicine* **167**: 626-634.
- Théron P., Bonnefont-Rousselot D., Davit-Spraul A., Conti M., Legrand A. (2000) Biomarkers of Oxidative Stress: An Analytical Approach. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* **3**: 373-384.
- Tomas-Barberan F. A. (2012) Types, food sources, consumption and bioavailability of dietary polyphenols nutrinsight. Proceedings of the Symposium 11th Nutrition Conference, Kraft Foods
- Wang J. F., Schramm D. D., Holt R. R., Ensunsa J. L., Fraga C. G., Schmitz H. H., Keen C. L. (2000) A dose response effect from chocolate consumption on plasma epicatechin and oxidative damage. *The Journal of Nutrition* **130**: 2115–2119.
- Xiong Y., Joachim D. U., Uys J. D., Townsend D. M. (2011.) S-Glutathionilation: from molecular mechanisms to health outcomes. *Antioxidants Redox Signaling* **15**: 233-270.

### **Izjava o izvornosti**

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

---

Marija Ninković