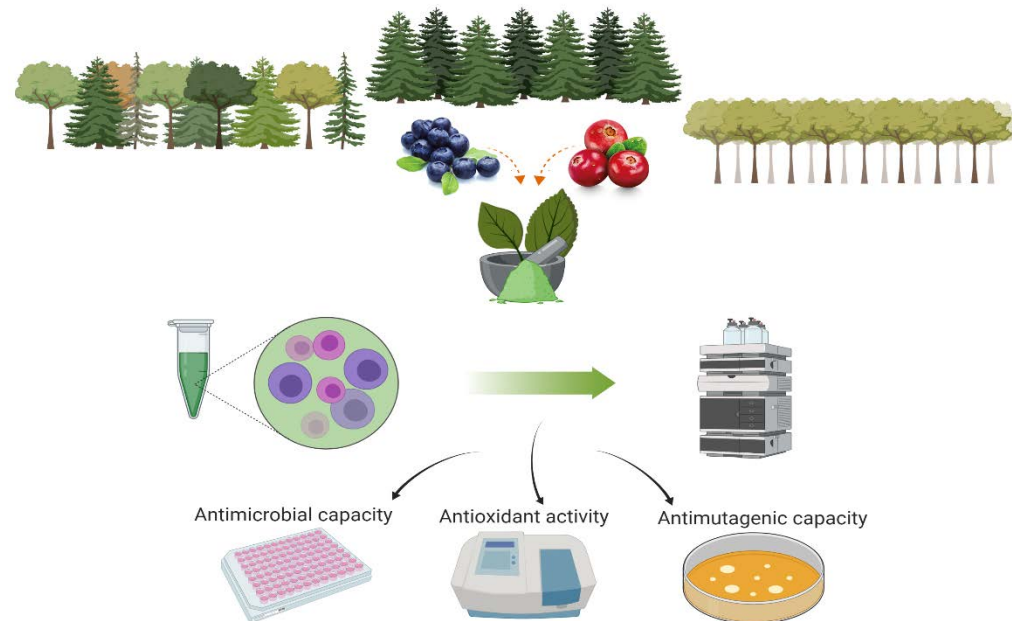


Compoziția chimică și activitățile biologice ale frunzelor de afin și merișor

Bianca Vodnar



Compușii fenolici prezenți în frunzele de afin-*Vaccinium myrtillus* L. și de merișor-*Vaccinium vitis-idaea* L.

1. Frunze de afin



2. Frunze de merișor



Întrebarea 1: Cunoașteți produse/suplimente alimentare care conțin frunze de afin sau de merișor?

Scop:

Identificarea și cuantificarea compușilor fenolici utilizând HPLC-DAD-ESI-MS și determinarea conținutului total de: compuși fenolici, flavonoide și antociani al frunzelor de afin și merișor și investigarea activităților lor antioxidante, antimicrobiene și antimutagenice.

Compoziția chimică și activitățile biologice ale frunzelor de afin și merișor

Materiale și metode

Materiale: frunze de afin și merișor din flora spontană, din trei habitate diferite (zona Turda, Smida, Borșa)



Metode:

- Extracția asistată cu ultrasunete, realizată cu etanol 40%;
- HPLC-DAD-ESI-MS -Analiza compoziției fenolice;
- Folin Ciocâlțeu - Conținutul total de compuși fenolici;
- Metoda spectrofotometrică - Conținutul total flavonoidic;
- Metoda spectrofotometrică UV-Vis – Conținutul total antocianic;
- DPPH - Activitatea antioxidantă;
- Metoda microdiluției – Activitatea antimicrobiană;
- Testul Ames – Activitatea antimutagenică.

Compoziția chimică și activitățile biologice ale frunzelor de afin și merișor

Rezultate și discuții

Compoziția fenolică a frunzelor de afin și merișor

Tabel. Conținutul compușilor fenolici din frunzele de afin și merișor determinat prin HPLC-DAD-ESI-MS și exprimat în mg/g.

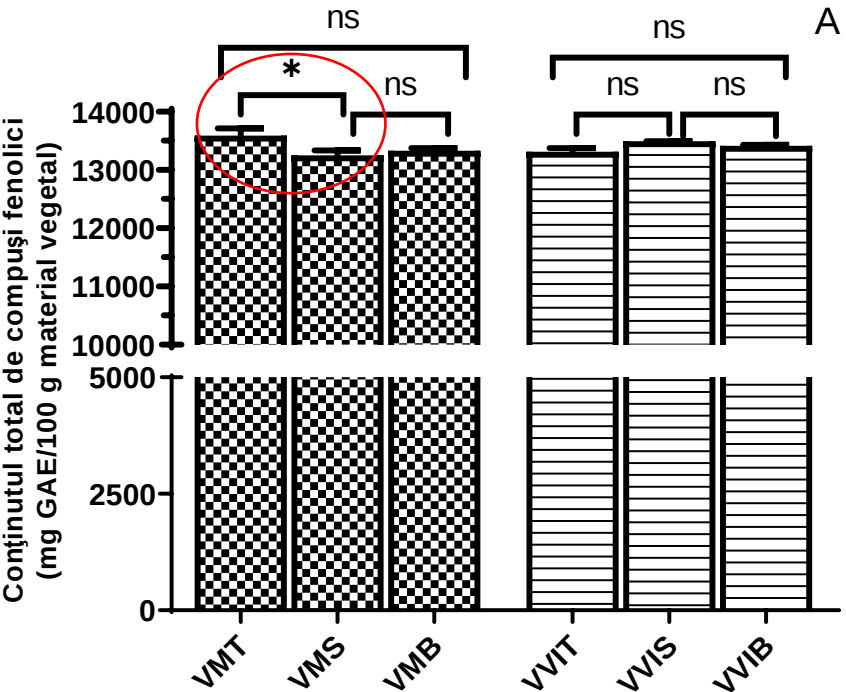
Compus fenolic		VMT	VMS	VMB	VVIT	VVIS	VVIB
Flavanoli	Galocatechina	7.59 ± 0.07 ^b	15.37 ± 0.14 ^a	4.84 ± 0.05 ^c	35.10 ± 0.24 ^b	46.81 ± 0.38 ^a	31.41 ± 0.21 ^c
	Epigallocatechina	n.d	6.56 ± 0.06	n.d	25.24 ± 0.72 ^b	35.97 ± 0.23 ^a	23.35 ± 0.61 ^c
	Catechina	9.87 ± 0.07 ^a	4.79 ± 0.07 ^c	5.38 ± 0.09 ^b	18.51 ± 0.21 ^b	21.57 ± 0.2 ^a	17.43 ± 0.18 ^b
	Epicatechina	4.31 ± 0.03 ^b	9.66 ± 0.08 ^a	n.d	n.d	n.d	2.78 ± 0.03
	Procianidin dimer I	n.d	n.d	n.d	6.38 ± 0.05 ^b	8.36 ± 0.06 ^a	6.27 ± 0.03 ^b
	Procianidin dimer II	12.68 ± 0.11 ^a	12.13 ± 0.12 ^a	8.70 ± 0.07 ^b	2.20 ± 0.05 ^b	4.23 ± 0.04 ^a	4.61 ± 0.03 ^a
	Procianidin trimer	21.84 ± 0.21 ^b	24.30 ± 0.72 ^a	10.09 ± 0.12 ^c	12.92±0.12 ^c	14.21±0.16 ^b	18.84±0.22 ^a
Acizi hidroxicina mici	Clorogenic	3.34 ± 0.03 ^c	3.85 ± 0.02 ^b	5.94 ± 0.05 ^a	0.79 ± 0.01 ^b	n.d	1.16 ± 0.01 ^a
	Feruloilquinic	55.37 ± 0.42 ^b	47.66 ± 0.39 ^c	59.65 ± 0.44 ^a	31.05 ± 0.18 ^b	24.61 ± 0.24 ^c	33.42 ± 0.37 ^a
	Caffeoilarbutin	n.d	n.d	n.d	6.45 ± 0.04 ^a	3.42 ± 0.02 ^c	5.14 ± 0.05 ^b
	Dicaffeoilquinic	5.01 ± 0.05 ^a	4.05 ± 0.04 ^b	n.d	1.77 ± 0.02 ^a	0.93 ± 0.01 ^b	1.74 ± 0.01 ^a
Flavonoli (derivați ai quercetinei)	Quercetin-rutinozidă (Rutina)	44.91 ± 0.21 ^b	42.34 ± 0.19 ^c	49.83 ± 0.63 ^a	18.61 ± 0.19 ^b	11.45 ± 0.10 ^c	21.88 ± 0.19 ^a
	Quercetin-glucozidă	1.42 ± 0.01 ^b	1.29 ± 0.01 ^c	2.37 ± 0.02 ^a	3.05 ± 0.03 ^a	2.23 ± 0.03 ^b	1.91 ± 0.02 ^c
	Quercetin-acetil-ramnozidă	18.60 ± 0.16 ^a	12.67 ± 0.10 ^c	15.47 ± 0.14 ^b	6.10 ± 0.04 ^b	1.71 ± 0.01 ^c	8.01 ± 0.07 ^a
	Quercetin-arabinozidă	1.55 ± 0.01 ^a	1.53 ± 0.01 ^a	1.39 ± 0.01 ^b	0.41 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.01 ^c	0.61 ± 0.01 ^a
	Quercetin-xilozidă	1.47 ± 0.01 ^b	1.30 ± 0.01 ^c	1.53 ± 0.01 ^a	0.45 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.01 ^c	0.62 ± 0.01 ^a
	Quercetin-diglucozidă	0.91 ± 0.01 ^c	1.42 ± 0.01 ^a	0.17 ± 0.01 ^b	3.11 ± 0.03 ^b	3.93 ± 0.05 ^a	1.12 ± 0.01 ^c
	Quercetina	3.69 ± 0.03 ^a	3.26 ± 0.04 ^b	1.16 ± 0.06 ^c	4.78 ± 0.04 ^a	3.31 ± 0.02 ^b	2.61 ± 0.02 ^c
Antociani	Cianidin-glucozidă	0.28 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.01 ^a	n.d	n.d	n.d	n.d
	Cianidin-arabinozidă	n.d	0.30 ± 0.01	n.d	n.d	n.d	n.d
	Cianidin-acetil-glucozidă	0.33 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.01 ^b	n.d	n.d	n.d	n.d

Valorile (media ± SD, mg/g, n=3) din același rând urmate de litere diferite (a-c) indică diferențele semnificative (p < 0.05) între cele trei habitate, pentru fiecare tip de specie (One-way ANOVA - Multiple comparison test -Tukey multiple range test (p = 0.05) - GraphPad Prism Version 8.0.1, Graph Pad Software, Inc., San Diego, CA, USA), n.d-nedetctat.

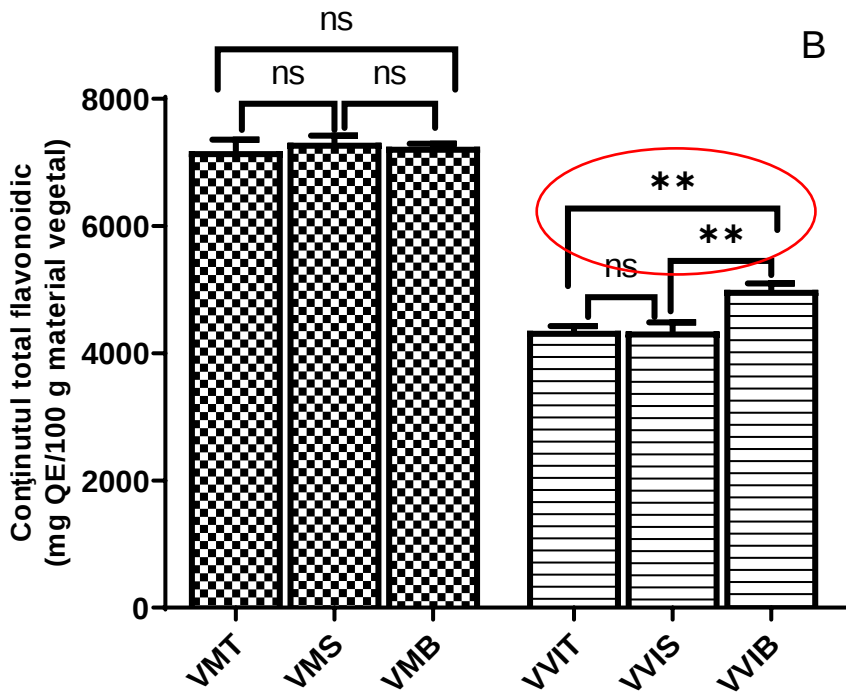
Compoziția chimică și activitățile biologice ale frunzelor de afin și merișor

Rezultate și discuții

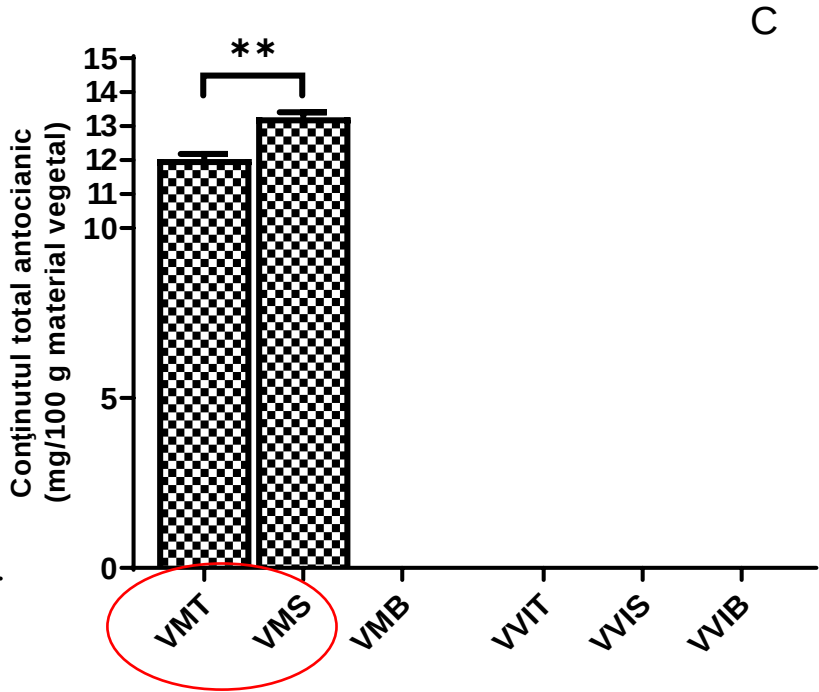
Conținutul total de compuși fenolici



Conținutul total flavonoidic



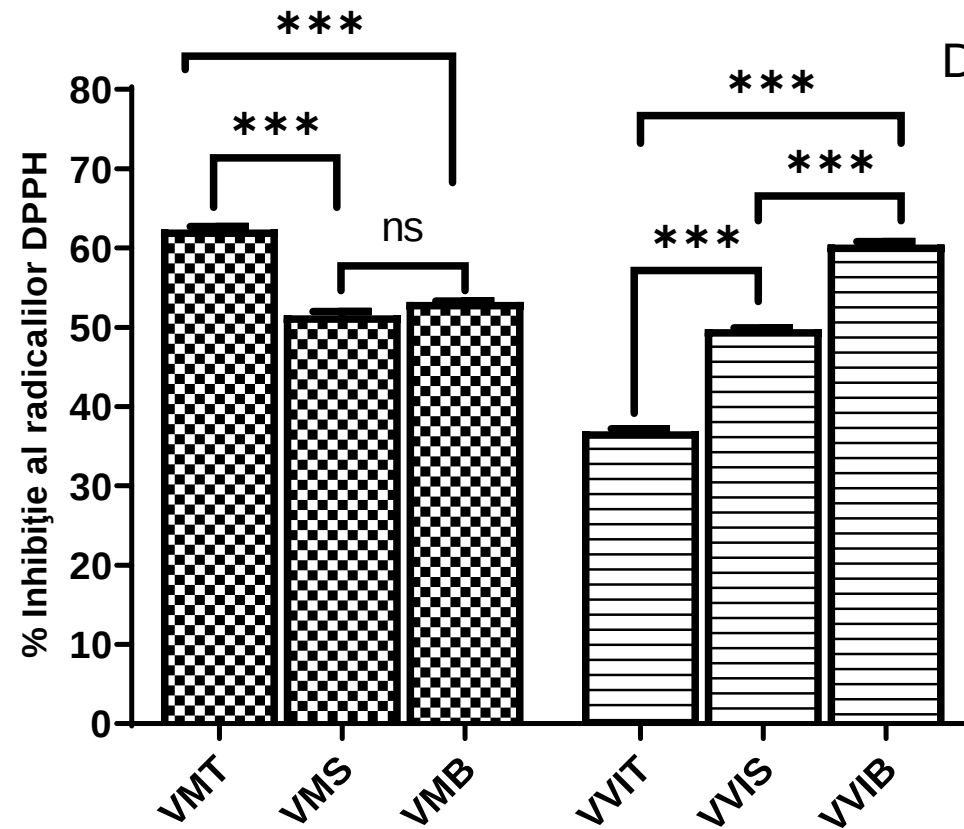
Conținutul total antocianic



Compoziția chimică și activitățile biologice ale frunzelor de afin și merișor

Rezultate și discuții

Activitatea antioxidantă DPPH



Frunzele de afin din zona Turda au prezentat cel mai mare procent de inhibiție al radicalilor DPPH (62.35%). În cazul frunzelor de merișor, cea mai puternică activitate antioxidantă a fost înregistrată de cele recoltate din zona Borșa (60.42%)

Compoziția chimică și activitățile biologice ale frunzelor de afin și merișor

Rezultate și discuții

Tabel. Concentrația minimă inhibitorie (MIC) a extractelor din frunzele de afin și merișor (mg/mL)

Activitatea antimicrobiană	Gram-pozitiv				Gram-negativ			Fungi		
	Probă	<i>S. aureus</i>	<i>E. fecalis</i>	<i>R. equi</i>	<i>E. coli enterotoxigen</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida zeylanoide s</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
					mg/mL					
	VMT	0.06	0.12	0.06	0.24	0.24	0.24	125	31.25	31.25
	VMS	0.12	0.24	0.06	0.48	0.12	0.24	125	62.5	31.25
	VMB	0.06	0.12	0.06	0.48	0.12	0.24	125	31.25	31.25
	VVIT	0.12	0.12	0.06	0.48	0.12	0.96	125	62.5	31.25
	VVIS	0.12	0.12	0.06	0.48	0.12	0.96	125	31.25	31.25
	VVIB	0.12	0.12	0.06	0.48	0.12	0.96	125	62.5	31.25
	Fluconazol μg/mL	-	-	-	-	-	-	15.62	7.81	15.62
Streptomicină μg/mL	0.03	0.06	0.06	0.12	0.06	0.06	-	-	-	

Fără activitate antifungică 8

Compoziția chimică și activitățile biologice ale frunzelor de afin și merișor

Rezultate și discuții

Tabel. Activitatea antimutagenică testată pe tulpinile *Salmonella typhimurium* TA98 și TA100

Probe	Numărul de revertanți			
	TA 98		TA100	
	Media ± S.D	Inhibiția %	Media ± S.D	Inhibiția %
Control negativ	9.25 ± 3.6 ^a		9.25 ± 2.4 ^a	
VMT	132 ± 3.2	31.95	198 ± 4.2	43.26
VMS	133 ± 4.4	31.44	201 ± 6.3	42.4
VMB	137 ± 3.6	29.38	202 ± 5.4	42.12
VVIT	144 ± 4.7	25.77	223 ± 2.6	36.1
VVIS	145 ± 2.1	25.25	245 ± 4.3	29.79
VVIB	144 ± 5.9	25.77	234 ± 7.9	32.95
4-NPD ^a	194 ± 3.3	-	-	-
NaN ₃ ^a		-	349 ± 15.22	-

Activitate moderată

Valorile în triplicat sunt exprimate ca medii ± SD

^a 4-NPD și NaN₃ reprezintă controalele pozitive pentru tulpinile *S. typhimurium* TA98 și TA100

Compoziția chimică și activitățile biologice ale frunzelor de afin și merișor

Concluzii

1. Acest studiu raportează o analiză calitativă a frunzelor de afin și merișor cu structuri propuse pentru **21 de compuși fenolici**.
2. **Grupul flavonoidelor** contribuie cu mai mult de jumătate la rezerva fenolică din frunze.
3. Extractele din frunze de afin și de merișor au prezentat **activități biologice semnificative** (antioxidantă, antimicrobiană și antimutagenică).
4. Toate aceste activități biologice susțin beneficiile de sănătate ale celor două categorii de frunze studiate din genul *Vaccinium* și stau la baza potențialei lor utilizări în diferite aplicații.
5. **S-au observat** diferențe distincte între cantitățile de flavanoli, flavonoli, acizi hidroxicinamici și antociani datorate **condițiilor derivate din habitat** (altitudine, expunere solară, interval de temperatura, etc).

Întrebarea 2: Ce beneficii prezintă produsele/suplimentele alimentare pe bază de frunze de afin sau de merișor?



Vă mulțumesc pentru atenție!