

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

ODJEL ZA BIOLOGIJU

Diplomski znanstveni studij biologije

Seada Marić

UTJECAJ EKOLOŠKI PRIHVATLJIVIH TRETMANA NA
ANTIOKSIDATIVNU AKTIVNOST PLODOVA JAGODA
TIJEKOM SKLADIŠTENJA

Diplomski rad

Osijek, 2013.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Odjel za biologiju

Diplomski znanstveni studij biologije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

UTJECAJ EKOLOŠKI PRIHVATLJIVIH TRETMANA NA ANTIOKSIDATIVNU AKTIVNOST PLODOVA JAGODA TIJEKOM SKLADIŠTENJA

Seada Marić

Rad je izrađen: Odjel za biologiju, Osijek

Mentor: Dr.sc. Ivna Štolfa, **docent**

Sažetak:

Brojna istraživanja pokazala su da su plodovi jagoda bogati fenolnim spojevima te imaju antioksidativno i antiproliferativno djelovanje. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kako ekološki prihvatljivi tretmani otopinom salicilne kiseline, otopinom koloidnog srebra i ozonom utječu na antioksidativnu aktivnost plodova jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) sorte Albion tijekom 7 dana skladištenja na 4°C. Koncentracija askorbinske kiseline, fenolnih spojeva te ukupna antioksidativna aktivnost u plodovima jagoda određeni su spektrofotometrijski. U plodovima jagoda tretiranim otopinom salicilne kiseline, otopinom koloidnog srebra i ozonom, ukupna koncentracija askorbinske kiseline i antioksidativna aktivnost bili su veći nego u kontrolnim plodovima, što pokazuje da ovi tretmani povoljno djeluju na očuvanje kvalitete i nutritivne vrijednosti plodova jagoda tijekom skladištenja. Tretman otopinom salicilne kiseline ima najbolji učinak, jer je rezultirao značajnim porastom koncentracije askorbinske kiseline, fenola i ukupne antioksidativne aktivnosti u plodovima jagoda.

Broj stranica: 49

Broj slika: 15

Broj tablica: 3

Broj literaturnih navoda: 166

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: jagode, fenoli, askorbinska kiselina, antioksidativna aktivnost

Datum obrane: 19.04.2013.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Dr.sc. Elizabeta Has Schön, **izv.prof.**

2. Dr.sc. Ivna Štolfa, **doc.**

3. Dr.sc. Janja Horvatić, **izv.prof.**

Rad je pohranjen u:

Knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

BASIC DOCUMENTATION CARD

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek

MS thesis

Department of Biology

Graduate Study of Biology

Scientific Area: Natural science

Scientific Field: Biology

THE IMPACT OF ENVIRONMENTALLY FRIENDLY POSTHARVEST TREATMENTS ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF STRAWBERRY FRUITS DURING STORAGE

Seada Marić

Thesis performed at: Department of Biology, Osijek

Supervisor: Dr.sc. Ivna Štolfa, assistant prof.

Short abstract:

Numerous studies have shown that strawberries are rich in phenolic compounds, and have antioxidant and antiproliferative activities. The aim of this study was to determine how environmentally friendly postharvest treatments with salicylic acid solution, colloidal silver solution and ozone, affect the antioxidant activity of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Albion) during 7 days of storage at 4 °C. The content of ascorbic acid, total phenols and antioxidant activity of strawberry fruits were determined spectrophotometrically. In strawberry fruits treated with salicylic acid solution, colloidal silver solution and ozone, the total content of ascorbic acid and antioxidant activity value were higher than in control fruits, which indicates that these treatments are useful for preserving fruit quality and nutritional value during storage. The treatment with salicylic acid solution has the best effect, because during storage, there was a significant increase in the content of ascorbic acid, phenols and antioxidant activity.

Number of pages: 49

Number of figures: 15

Number of tables: 3

Number of references: 166

Original in: Croatian

Key words: strawberries, phenols, ascorbic acid, antioxidant activity

Date of the thesis defence: 19 April 2013

Reviewers:

1. Dr.sc. Elizabeta Has Schön, associate prof.

2. Dr.sc. Ivna Štolfa, assistant prof.

3. Dr.sc. Janja Horvatić, associate prof.

Thesis deposited in:

Library of Department of Biology, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Zahvaljujem se mentorici doc.dr.sc. Ivni Štolfa što mi je omogućila izradu ovog diplomskog rada, također zahvaljujem i na stručnom vodstvu, savjetima i pomoći tijekom pisanja.

Roditeljima Radi i Adeli Marić i sestri Saneli hvala na velikoj podršci tijekom cijelog studija.

Od srca veliko hvala dragim prijateljima.

1. UVOD.....	1
1.1. JAGODA	1
1.1.1. Osnovne karakteristike jagoda	1
1.1.2. Hranidbena i zdravstvena vrijednost	4
1.1.3. Uzgoj jagoda.....	5
1.1.4. Skladištenje jagoda	6
1.1.4.1. Salicilna kiselina	7
1.1.4.2. Koloidno srebro.....	9
1.1.4.3. Ozon.....	10
1.2. ASKORBINSKA KISELINA	11
1.2.1. Struktura askorbinske kiseline	12
1.2.2. Funkcije askorbinske kiseline	13
1.2.3. Askorbinska kiselina u jagodama	14
1.3. FENOLNI SPOJEVI	14
1.3.1. Struktura i kemijska svojstva fenolnih spojeva	14
1.3.2. Funkcija fenolnih spojeva	16
1.3.3. Fenolni spojevi u jagodama	17
1.4. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST.....	18
1.4.1. Antioksidativna aktivnost jagoda	19
1.5. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	19
2. MATERIJALI I METODE.....	20
2.1. MATERIJALI.....	20
2.2. METODE RADA.....	20
2.2.1. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline.....	21
2.2.2. Određivanje koncentracije fenolnih spojeva.....	21
2.2.3. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti.....	22
2.2.4. Statistička obrada podataka	22
3. REZULTATI	23
3.1. UKUPNA KONCENTRACIJA ASKORBINSKE KISELINE	23
3.2. UKUPNA KONCENTRACIJA FENOLNIH SPOJEVA	24
3.3. UKUPNA ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST.....	26
4. RASPRAVA.....	27
5. ZAKLJUČCI	32
6. LITERATURA	33

1. UVOD

1.1. JAGODA

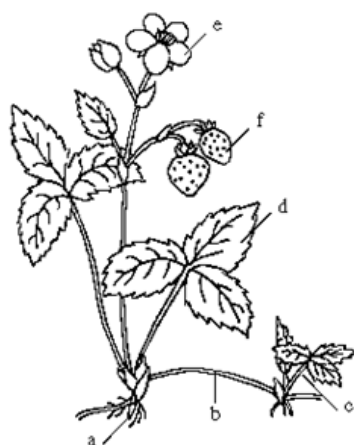
1.1.1. Osnovne karakteristike jagoda

Jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) je grmolika, zeljasta, višegodišnja biljka (Slika 1). Pripada porodici *Rosaceae*. Prve godine, nakon jesenske sadnje, daje najkvalitetniji prirod plodova i najviše mladih sadnica. Korijen jagoda je vlasast. Najviše raste u proljeće, te od početka srpnja do kraja kolovoza. List je trodijelan (Slika 2). Cvijet je promjera 2,5 do 3 cm; dvospolan, ima 10 do 16 čašićnih listića i 5 do 8 latica. Plodovi jagoda bogati su vitaminom C i fenolima te imaju jako antioksidativno djelovanje. Jagoda je većinom samoplodna. Rast jagode počinje u proljeće pri temperaturi od 5 °C, a 14 do 20 dana nakon listanja, u travnju, počinje cvatnja i traje 10 do 25 dana, što ovisi o sorti jagoda i vremenskim uvjetima. Otprilike mjesec dana nakon cvatnje počinje berba, koja traje, ovisno o sorti i vremenskim uvjetima, jedan do tri tjedna.



Slika 1. Prikaz jagode (*Fragaria x ananassa* Duch.)

(WEB 1)



Slika 2. Morfologija jagode. a) korijen; b) vriježa; c) mlada biljka; d) trodjelni list s peteljkom; e) cvijet bijele boje; f) plod

(WEB 2)

Kultivirano je više od 2000 sorti jagode. One su nastale od 6 vrsta: europska skupina (4 vrste) od *F. vesca* i *F. moschata*; zapadnoamerička skupina (18 vrsta) od *F. chiloensis* i *F. platypetala*; istočnoamerička skupina (8 vrsta) *F. virginiana*, te azijska skupina (17 vrsta) od *F. orientalis*. Jagode su rasprostranjene po cijeloj Europi, Aziji te Sjevernoj i Južnoj Americi. Kao zeljasta, višegodišnja, stalnozeleno, ali ne zimzelena, niskogrmolika biljka, jagoda je svrstana u porodicu *Rosaceae* (Tablica 1). Sistematičari su do danas opisali 47 vrsta divljih jagoda svrstanih prema broju kromosoma u 4 skupine: pet diploidnih (2n), dvije tetraploidne (4n), jedna heksaploidna (6n) i četiri oktoploidne (8n), a samo ih je dvanaest od većeg značenja.

Tablica 1. Sistematika jagode (*Fragaria x ananassa* Duch.)

TAKSONOMIJA	
CARSTVO	Plantae
RAZRED	Dicotyledonae
RED	Rosales
PORODICA	Rosaceae
ROD	<i>Fragaria</i>
VRSTA	<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.

Sorta jagode Albion (*Fragaria x ananassa* cv. *Albion*) dobivena je u Americi 1997. godine na Sveučilištu u Kaliforniji, a u proizvodnji je od 2004. godine. Rezultat je križanja sorti Diamante i Cal 94.16-1 Primarni cilj stvaranja ove sorte bio je zamijeniti sortu Diamante u komercijalnoj proizvodnji. Sorta Albion se ubraja u najpopularnije sorte jagode mjesečarki. Plod je izduženog oblika tamno crvene boje (Slika 3). Meso ploda je čvrsto i izraženo slatko. Berba traje od lipnja pa sve do kraja listopada. Sorta je neutralnog dana, morfološki slična sorti Diamante, ali plodovi su kvalitetniji, tamnije obojeni, i otporniji na bolest uzrokovanu parazitskom gljivicom *Phytophthora cactorum*; slična je sorti Aromas, ali s dužim, kvalitetnijim, čvršćim i bolje obojenim plodovima (Shaw i Larson, 2006). Zbog čvrste teksture plodova, ova je sorta jagode pogodna za svježju upotrebu, za preradu i skladištenje.



Slika 3. Sorta jagode Albion

(WEB 3)

1.1.2. Hranidbena i zdravstvena vrijednost

Jagode su dobar izvor vitamina C i polifenola, kao što su flavonoidi i elaginska kiselina (Hannum, 2004). Nutritivna vrijednost jagoda velika je, uglavnom zbog visokog sadržaja askorbinske kiseline (Sanz i sur., 1999); (Tablica 2). Prema istraživanju Zhang i sur. (2008), ekstrakti plodova jagoda imaju antioksidativnu i antiproliferativnu aktivnost *in vitro*. Seeram i sur. (2006) dokazali su antikancerogen učinak ekstrakta jagoda. Biološka aktivnost fitokemikalija u jagodama uključuje regulaciju i modulaciju genske ekspresije i substaničnih signalnih putova u staničnoj proliferaciji, angiogenezi i apoptozi (Seeram i sur., 2006). Također, Hannum i sur. (2004) dokazali su njihov antikancerogen učinak te da prehrana bogata jagodama usporava starenje mozga.

Tablica 2. Kemijski sastav plodova jagode na izražen na 100 g svježeg ploda
(USDA National Nutrient Database)

sastojak	jedinica	
Energija	kcal	32
Voda	g	90,95
Proteini (ukupno)	g	0,67
Masti (ukupno)	g	0,39
Ugljikohidrati (ukupno)	g	7,68
Dijetalna vlakna	g	2,0
Vitamin E	mg	0,29
Vitamin B ₁	mg	0,024
Vitamin B ₂	mg	0,022
Vitamin B ₃	mg	0,386
Vitamin B ₆	mg	0,047
Folna kiselina	µg	24
Vitamin C	mg	58,8
Vitamin E	mg	0,29
Vitamin K	µg	2,2
Natrij	mg	1
Kalij	mg	153
Kalcij	mg	16
Fosfor	mg	24
Magnezij	mg	13
Željezo	mg	0,41
Cink	mg	0,14
Zasićene masne kiseline	mg	15
Mononezasićene masne kiseline	mg	43
Polinezasićene masne kiseline	mg	155

1.1.3. Uzgoj jagoda

Koliko će se godina nasad jagoda gospodarski iskorištavati, ovisi o namjeni, pogodnosti tla, klimi i načinu uzgoja. S obzirom na učestalost donošenja ploda, jagode mogu biti jednorodne (daju plod jednom u godini; u svibnju ili lipnju) i stalnorađajuće (mjesečarke; daju plod od sredine svibnja do prvih mrazeva u jesen). Jagoda se može zasaditi kao monokultura (glavna i jedina kultura) ili kao međukultura. Uzgoj jagode kao međukulture ima dosta nedostataka: uzgojem jagode, u kombinaciji s nekom drugom vrstom voća, često nastaju veliki problemi u zaštiti biljaka od štetnika i u održavanju kvalitete tla. Uzgoj jagoda kombiniran s povrćem uzrokuje još teže probleme zbog povećane opasnosti od napada virusa, *Nematoda* i ostalih uzročnika bolesti.

U monokulturi, nasadi jagoda mogu biti jednogodišnji, dvogodišnji, trogodišnji i višegodišnji. Nasadi za svježju potrošnju često se podižu svake godine. Kod jednogodišnjih nasada plodovi su krupniji i kvalitetniji, a u prvoj godini znatno su smanjeni troškovi suzbijanja korova, bolesti, i štetočina, pa je i ekonomski učinak veći. Trogodišnji i višegodišnji nasadi nisu preporučljivi za tržišnu proizvodnju jagoda. Ipak, najprihvatljiviji je dvogodišnji nasad. Danas se plodovi jagoda većinom proizvode na otvorenom polju. Osim na otvorenom, jagode se mogu uzgajati i u zatvorenim prostorima.

Danas, u proizvodnji jagoda za opskrbu tržišta svježim voćem, koriste se plastični tuneli, plastenici i staklenici raznih oblika i dimenzija. Plastični tuneli dugački su 25 do 50 m, a visoki su 0,5 do 1,7 m. U plastičnim tunelima, proizvodnja je sigurnija i nasad je zaštićen od zimskih i kasnih proljetnih mrazova. Taj oblik nasada najlakše je podići i održavati. Iako je jeftiniji, daje jednako dobre rezultate kao nasadi u plastenicima i staklenicima. Plastenici služe za ranu, sigurnu, visokokvalitetnu proizvodnju jagoda. Raznih su veličina, što ovisi o njihovoj namjeni. Koristi se plastika debljine 0,4 do 0,5 mm, te je potrebno postaviti sustav za natapanje i crnu plastičnu foliju na tlo, a pojačati zaštitu od štetočina i bolesti. Ulaganja u plastenike su veća, ali je proizvodnja sigurnija i isplativija. Staklenici imaju jednaku namjenu kao i plastenici, skuplji su za izradu i rijetko se podižu samo za proizvodnju jagode. U novije vrijeme sve više se širi sustav uzgoja jagoda izvan tla (uzgoj jagoda u supstratu). Ovaj sustav primjenjuje se u plastenicima, gdje se na metalne nosače, na visini od 1,20 m iznad tla, postavljaju vrećice sa supstratom, u koje se sade presadnice jagoda. Kao supstrat koristi se mješavina treseta i perlita u različitim omjerima. Veliku važnost u ovom sustavu uzgoja ima fertirigacija. U svaku vrećicu sa supstratom ulazi po jedna cjevčica koja dovodi hranjivu otopinu. Prednosti ovog tipa uzgoja su: mogućnost dobivanja vrlo visokog prinosa, plodovi su

vrlo krupni, sjajni i ujednačeni, radovi oko održavanja nasada su olakšani (berba) ili potpuno izbjegnuti i smanjena je upotreba sredstava za zaštitu.

Jagode se u staklenicima i plastenicima mogu saditi okomitim načinom uzgoja. Taj uzgoj jagoda sličan je uzgoju u hidroponima, ali se hranjiva otopina ne reciklira. Hranidba se obavlja tekućim hranjivim otopinama. Prednosti okomitog uzgoja su: visoka iskorištenost prostora u stakleniku, ušteda gnojiva, zaštitnih sredstava i troškova natapanja, plodovi su izuzetno čisti, bez onečišćenja tlom i bolje obojenosti.

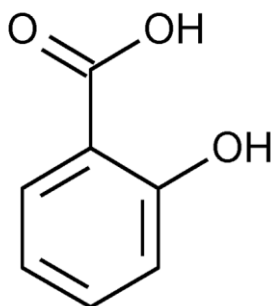
1.1.4. Skladištenje jagoda

Skladištenje voća učinkovit je način za održavanje kvalitete plodova nakon berbe. Kao i ostalo voće, jagode se mogu konzumirati „in natura“, što daje prednost potrošačima jer nema prehrambenih gubitaka. S druge strane, svježe voće ima vrlo kratak rok trajanja zbog osjetljivosti na napade gljivica i ostalih patogena te zbog omekšavanja uslijed sazrijevanja (Han i sur., 2005). Također, povišene temperature mogu utjecati, ne samo na rok trajanja plodova jagoda, već i na njihovu nutritivnu vrijednost, sadržaj topljivih šećera, vitamina C i antioksidativnih spojeva. Zbog visokog stupnja metaboličke aktivnosti kvaliteta plodova jagoda naglo pada nakon berbe (Olias i sur., 2000). S druge strane, plodovi jagoda ne nastavljaju dozrijevati nakon branja, stoga moraju biti ubrani kad su potpuno zreli i najkvalitetniji (Kader, 2001). Kako bi se izbjegli gubici vezani uz skladištenje jagoda, i drugog voća, koriste se razni tretmani tijekom skladištenja, kao što su niske temperature ili visoka koncentracija CO₂, kao i kontrolirana atmosfera ili kombinacija oba tretmana (Gil i sur., 1997; Pelayo i sur., 2003; Allende i sur., 2007). Kontrolirana atmosfera ima veliku primjenu u kontroli propadanja plodova uslijed skladištenja, ali atmosfera obogaćena sa CO₂ i s niskom koncentracijom O₂ može negativno utjecati na koncentraciju ukupne askorbinske kiseline i antocijanina, prehrambenu vrijednost i boju ploda (Holcroft i Kader, 1999). Obična skladišta nisu prikladna za čuvanje jagoda, jer se u njima ne može postići prikladna temperatura, a u takvim uvjetima plod se čuva samo jedan dan. Temperature od oko 0 °C smatraju se najboljim za skladištenje jagoda jer ne uzrokuju velike promjene u kvaliteti plodova (Cordenunsi i sur., 2005). Prema istraživanju Piljac-Žegarec i Šamec (2011), plodovi jagoda skladišteni pri 4 °C, zadržali su kvalitetu, u prosjeku 9 dana više nego plodovi skladišteni pri 25 °C. Uz navedeno, plod jagoda može se čuvati i smrznut. Plod, upakiran u posude od stakla, limenke, kartonske kutije s voštanom prevlakom ili u bačve, unosi se u

prostorije gdje je temperatura od $-23,3^{\circ}$ do $-18,9^{\circ}$ °C. Brzo smrzavanje ploda u kartonskim kutijama traje nekoliko sati, u drugim manjim posudama 24-30 sati, a u bačvama oko 5 dana. Nakon smrzavanja, plod se čuva na temperaturi od oko -18° °C i nižoj i može se držati godinu i više dana (Volčević, 2008). Dokazano je, da nutritivne promjene smrznute hrane ovise o vremenu skladištenja. Različita istraživanja pokazala su da je koncentracija askorbinske kiseline podložna promjenama tijekom postupka smrzavanja voća i povrća. Sahari i sur. (2004) su istraživali činak vrlo niskih temperatura na promjene koncentracije askorbinske kiseline u plodovima smrznutih jagoda, pri čemu je dokazano da se smrzavanjem koncentracija askorbinske kiseline smanjuje.

1.1.4.1. Salicilna kiselina

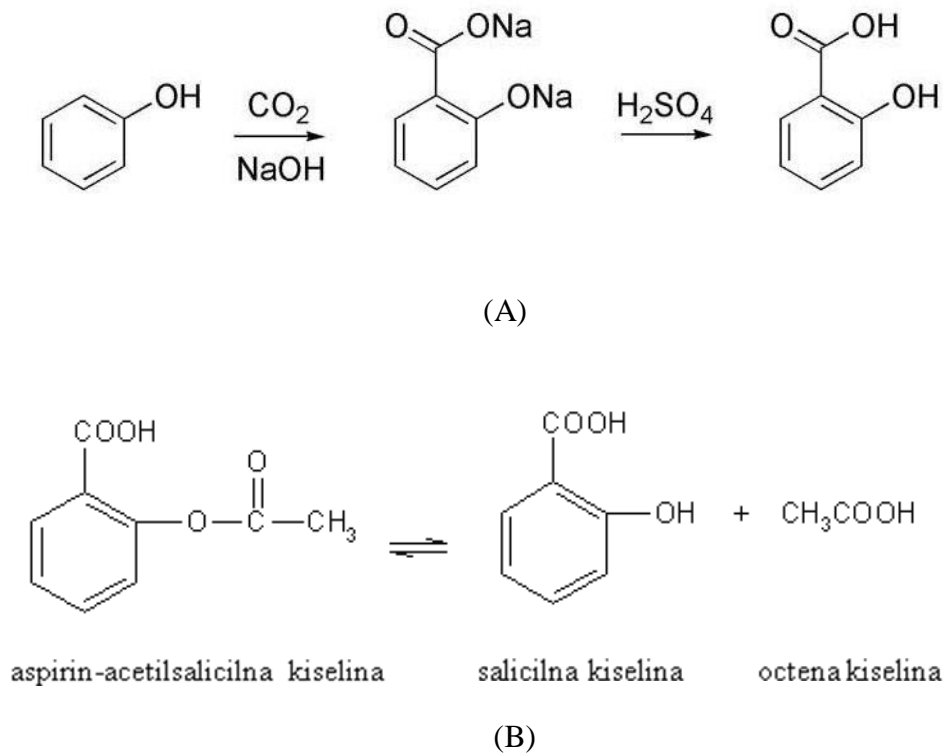
Salicilna kiselina je fenolni fitohormon ($C_6H_4(OH)COOH$) i javlja se u obliku bezbojnih kristala (Slika 4). Endogeni je regulator biljnog rasta i utvrđeno je da utječe na širok spektar metaboličkih i fizioloških odgovora u biljkama te tako izravno utječe na njihov rast i razvoj (Raskin, 1992).



Slika 4. Struktura salicilne kiseline

(WEB 4)

Sintetizira se na dva načina: biosintezom iz aminokiseline fenilalanina: reakcijom natrijevog fenolata sa CO_2 , pri visokom tlaku (100 atm) i temperaturi (390 K) pri čemu nastaje natrijev salicilat (tzv. Kolbe-Schmittova reakcija); zakiseljavanjem nastalog produkta sulfatnom kiselinom, dobije se salicilna kiselina (Slika 5A). Drugi način sinteze je hidrolizom aspirina (acetilsalicilne kiseline) ili metil-salicilata jakom kiselinom ili bazom (Slika 5B) (Popova i sur., 1997).



Slika 5. Načini sinteze salicilne kiseline:

(A) Kolbe-Schmittova reakcija (WEB 5)

(B) Hidroliza aspirina (WEB 6)

Salicilna kiselina je uključena u mnoge procese u biljkama. Utvrđeno je da ima ključnu ulogu u regulaciji rasta i razvoja biljaka, staničnoj signalizaciji, interakciji s drugim organizmima te u odgovorima na različite okolišne stresne čimbenike (Enyedi i sur, 1992; Alvarez, 2000; Raskin, 1992). Nadalje, utječe na prinos voćnih vrsta, glikolizu, inducira cvjetanje (Klessig i Malamy, 1994), inhibira klijanje inhibirajući sintezu abscizinske kiseline, ima ulogu u transportu iona (Harper i Balke, 1981), može se prenijeti sa jedne biljke na drugu, pomoću hlapljivog estera salicilne kiseline, metil salicilata (Taiz i Zeiger, 2002). Salicilna kiselina važan je dio signalnog puta koji je induciran brojnim biotičkim i abiotičkim stresnim čimbenicima. Osim što povećava otpornosti biljaka na bolesti, može regulirati odgovore biljaka na širok raspon čimbenika oksidativnog stresa (Shirasu i sur., 1997). Salicilna kiselina i njezini derivati, mogu sami posredovati u prilagodbi biljaka na okolišni stres, a mogu

aktivirati druge stanične metabolite u regulaciji odgovora na stres uzrokovan okolišnim čimbenicima (Yordanova i sur., 2007). Dokazano je da salicilna kiselina također sprječava omekšavanje plodova banana i kivija tijekom zrenja (Zhang i sur, 2003). Shafiee i sur. (2010) dokazali su da tretman salicilnom kiselinom plodova jagoda sorte Camarosa poslije branja povećava čvrstoću plodova, smanjuje njihovo propadanje i gubitak težine te održava konstantan sadržaj vitamina C.

Salicilna kiselina aktivira askorbat peroksidazu, što povećava antioksidativnu sposobnost i sadržaj askorbinske kiseline u voću (Wang i sur., 2006). Tretman salicilnom kiselinom sjemenki i sadnica ječma, pri niskoj koncentraciji ($1 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$), povećava antioksidativnu sposobnost i otpornost biljaka stres budući da sprječava degradaciju vitamina C (Wisniewska i Chelcowski, 1999). Postoji puno podataka o povećanju otpornosti biljaka uslijed djelovanja salicilne kiseline na stresne uvjete uzrokovane ultraljubičastim zračenjem, sušom, povećanim salinitetom (Shakirova i sur., 2003), toksičnošću teških metala (Metwally i sur., 2003) i visokom temperaturom (Dat i sur., 1998).

1.1.4.2. Koloidno srebro

Srebro je snažan prirodni antibiotik koji se koristi već tisućama godina. Koristi se u obliku metalnog srebra, srebrnog nitrata, srebrnog sulfadiazina, za liječenje opekline, rana i nekih bakterijskih infekcija (Klasen, 2000; Landsdown, 2002). Prije korištenja antibiotika, srebro se koristilo kao dezinfekcijsko sredstvo u medicini. Henry Crooks je bio prvi koji je dokazao da je koloidno sredstvo izuzetno baktericidno, a s druge strane i posve bezopasno za ljudsko zdravlje. Dokazano je i da srebro potiče rast tkiva i zacijeljivanje rana. Zabilježen je i utjecaj srebra na stanice raka (Franco-Molina i sur., 2010). Oni su dokazali da koloidno srebro ima antitumorsko djelovanje, inducirajući apoptozu stanica raka dojke, te može biti potencijalno alternativno sredstvo u liječenju raka dojke. Međutim, 1940. godine, nakon što je uveden penicilin, korištenje srebra za liječenje bakterijskih infekcija je smanjeno (Demling i DeSanti, 2001). FDA je 1999. u SAD-u zabranila upotrebu koloidnog srebra.

Razvojem nanotehnologije, metali se moduliraju u nano veličine, što mijenja njihova kemijska, fizikalna i optička svojstva. Nano materijali pojavili su se kao nova antimikrobna sredstva zbog svog visokog površinskog područja volumnog omjera te jedinstvenih kemijskih i fizikalnih svojstava (Kim i sur., 2007). Ionsko koloidno srebro je najjači antiseptik koji se dobiva stvaranjem iona srebra u procesu elektrolize srebrenih elektroda uronjenih u

destiliranu vodu. Netoksično je sredstvo koje pokazuje visoku sposobnost u eliminaciji mikroorganizama (bakterija, virusa i gljivica) (Rostami i sur., 2009). Djeluje na više od 600 mikroorganizama (Abdi i sur., 2008). Toksično je za većinu bakterija, jer je samo nekoliko sojeva otporno na srebro (Slawson i sur., 1992; Klaus i sur., 1999). Sposobnost nano-srebra je u oslobađanju sitnih čestica srebra i tako je u sposobnosti uništiti ne samo bakterije i gljivice, nego i viruse (Sondi i Salopek-Sondi, 2004).

Mehanizam inhibitornog djelovanja iona srebra na mikroorganizme djelomično je poznat. Čestice nano-srebra otpuštaju ione srebra (Ag^+) polako i Ag^+ mogu uništiti staničnu strukturu mikroorganizama (Lubick, 2008). Smatra se da DNA gubi sposobnost replikacije i stanični proteini postaju inaktivirani na Ag^+ tretman (Feng i sur., 2000). Osim toga, također pokazano da se Ag^+ veže na funkcionalne skupine proteina, što rezultira denaturacijom proteina (Spadaro i sur., 1974). Dokazano je da je elektrostatska privlačnost između negativno nabijenih bakterijskih stanica i pozitivno nabijenih nanočestica ključna za djelatnost nanočestica kao baktericidnog materijala (Stoimenov i sur., 2002). Dosada nije utvrđeno djelovanje srebra na skladištenje voća, a moglo bi imati pozitivan učinak zbog dokazanog antimikrobnog djelovanja (Rostami i sur., 2009).

1.1.4.3. Ozon

Ozon je visoko reaktivna molekula koja ima baktericidno, fungicidno i antivirusno djelovanje. Dokazano je baktericidno i fungicidno djelovanje ozona (Kim i sur., 1999; Palou i sur., 2002). Po kemijskom sastavu ozon je alotropska modifikacija kisika. Zbog svoje strukture, vrlo je snažan oksidans. Nestabilan je, i u atmosferi ima kratko vrijeme poluraspada. Može oksidirati mnoge organske spojeve, posebice one s fenolnim prstenovima ili nezasićenim vezama u njihovoj strukturi. Ozon je danas u širokoj upotrebi u industriji za sterilizaciju i izbjeljivanje. Dokazano je da je koristan u dezinfekciji vode (Nickols i Varas 1992; White 1992; Rice 1999). Značajne prednosti ozona u vodi su da brzo razgrađuje kisik, ne ostavljajući ostatke, i za razliku od hipoklorita, ima veću djelotvornost protiv bakterija, virusa i gljivičnih spora (White, 1992). Za razliku od klora kao sredstva za pročišćavanje bazena i vode, ozon ne radi otrovne spojeve s organskim molekulama i ne zaostaje u vodi nakon sterilizacije. Dokazano je da je koristan i za preradu hrane (Graham i sur., 1997). Ozon također ima potencijalnu uporabu kao insekticid, a posebno za skladištenje proizvoda (Erdman, 1980). Primjenom ozona, moguće je razaranje etilena (Dickson i sur., 1992). Etilen

utječe na sazrijevanje plodova. Zreli plodovi oslobađaju etilen koji ubrzava sazrijevanje nezrelih plodova, ako su zajedno skladišteni. U istraživanju koje su proveli Skog i Chu (2001), tretman ozonom u koncentracijama 0,4 ml L⁻¹ je značajno smanjio razinu etilena u skladištima gdje su se nalazili plodovi jabuka i krušaka. Korištenje ozona također se preporučuje za smanjenje propadanja i produljenje razdoblja skladištenja povrća: mrkve (Liew i Prange 1994) i voća: grožđe (Sarig i sur., 1996).

1.2. ASKORBINSKA KISELINA

Askorbinska kiselina ili vitamin C jedan je od najviše zastupljenih antioksidanasa prisutnih u jagodama (Vicente i sur., 2006). Najveći izvor askorbinske kiseline je raznoliko voće i povrće (Tablica 3). Prisutna je u biljnim tkivima tijekom aktivnog rasta i razvoja, a njezin sadržaj je promjenljiv ovisno o vrsti i sorti. Agrumi i krumpir su najvažniji izvori vitamina C (Ball, 1998). Sadržaj askorbinske kiseline u voću i povrću može biti pod utjecajem različitih čimbenika kao što su genotipske razlike, klimatski uvjeti prije branja, zrelost i načini branja, kao i postupci poslije branja (Lee i Kader, 2000). Mehaničke ozljede mogu dovesti do ubrzanog gubitka vitamina C (Lee i Kader, 2000).

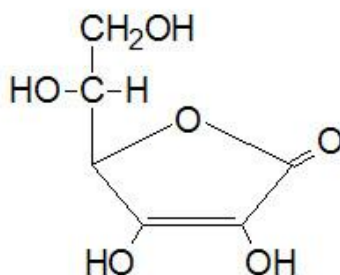
Tablica 3. Sadržaj askorbinske kiseline u svježem povrću i voću

POVRĆE I VOĆE	mg/100 g svježe tvari
Šipak	2000
Crni ribiz	200
Crvena paprika	190
Peršin	130
Kivi	90
Brokula	90
Crveni ribiz	80
Jagoda	60
Naranča	60
Limun	40
Kelj	30
Rajčica	10
Banana	9
Jabuka	6

1.2.1. Struktura askorbinske kiseline

Askorbinska kiselina glavni je biološki aktivni oblik, ali L-dehidroaskorbinska kiselina (DHA), oksidacijski produkt, također pokazuje biološku aktivnost.

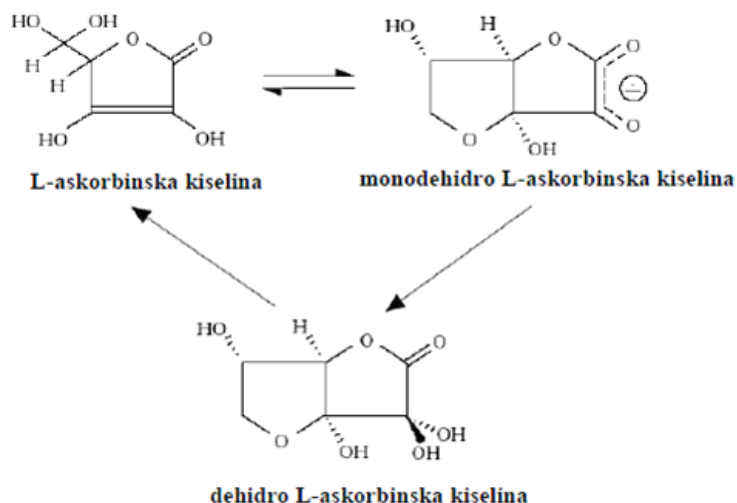
L-askorbinska kiselina (Slika 6) je oksolakton sa šest C-atoma, strukturom sličan glukozi i ostalim heksozama.



Slika 6. Prikaz strukture askorbinske kiseline

(WEB 7)

Reverzibilno se oksidira u monodehidroaskorbatni radikal, koji se zatim disproporcionira do askorbinske i dehidroaskorbinske kiseline (Slika 7). Budući da je dehidroaskorbinska kiselina nestabilna pri pH većem od 7, potrebno je održavati askorbinsku kiselinu u reducirajućem obliku kako bi se spriječio njen gubitak (Smirnoff, 1996).



Slika 7. Struktura i međusobni odnosi askorbinske kiseline i njenih oksidiranih oblika (Smirnoff, 1996)

1.2.2. Funkcije askorbinske kiseline

Askorbinska kiselina je esencijalni vitamin koji se nalazi u voću i povrću. Ima brojne biološke aktivnosti u ljudskom organizmu kao što su inhibicija karcinogeneze i sprječavanje nastanka kardiovaskularnih bolesti te stimulacija imunološkog sustava (Simon, 1992; Lee i Kader, 2000). Važna funkcija askorbinske kiseline je njeno antioksidativno djelovanje, pri čemu je L-askorbinska kiselina jedan od glavnih antioksidanasa. Uklanja molekule slobodnih reaktivnih kisikovih (*Reactive Oxygen Species*, ROS) i dušikovih (*Reactive Nitrogen Species*, RNS) jedinica dajući 1 ili 2 elektrona pri čemu nastaje slabo reaktivni askorбил-radikal. Ukoliko je povećan broj slobodnih radikala u odnosu na količinu antioksidanasa, dolazi do pojave oksidativnog stresa. S obzirom da slobodni radikali oštećuju nukleinske kiseline, proteine i masti, oksidativni stres utječe na razvoj kardiovaskularnih bolesti, hipertenziju, kronične upalne bolesti i dijabetes, a upravo L-askorbinska kiselina zaustavlja lančane reakcije oštećenja. Također, askorbinska kiselina štiti LDL oblik kolesterola od oksidacije i na

taj način djeluje u prevenciji bolesti srca i krvnih žila (Ghosh i sur., 1996; Padayatty i sur., 2003).

Vitamin C ima važnu ulogu u održavanju vitamina E u aktivnom obliku, tako što reducira tokoferoksilni radikal koji nastaje oksidacijom vitamina E. Ova dva vitamina djeluju sinergistički; vitamin E djeluje kao primarni antioksidans, a radikal koji nastaje reagira s vitaminom C, te se regenerira vitamin E (Tanaka i sur., 1997).

1.2.3. Askorbinska kiselina u jagodama

Jagode su bogate askorbinskom kiselinom (Cordenunsi i sur., 2002; Hannum, 2004; Robards i sur., 1999). Prema istraživanju Da Silva Pinto i sur. (2008a), prosječna koncentracija askorbinske kiseline u plodovima jagoda iznosi oko 82 mg/100 g svježe tvari, a može varirati ovisno o sortama. Askorbinska kiselina pokazatelj je svježine voća (Sanz i sur., 1999), u istraživanjima se koristi kao kvalitativni indikator (Rosen i Kader, 1989).

1.3. FENOLNI SPOJEVI

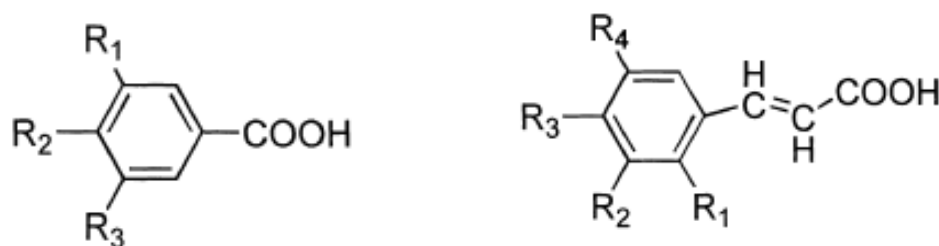
Fenoli su najzastupljeniji sekundarni metaboliti u biljnim stanicama i imaju brojne funkcije (Dai i Mumper, 2010). Mnoštvo fenolnih spojeva prisutno je u bobičastom voću, uključujući flavanole (kempferol, kvercetin, miricetin) i fenolne kiseline (elaginska, galna, p-hidroksibenzojeva, ferulinska, kavina, p-kumarinska kiselina), ali postoje velike razlike među vrstama bobičastog voća, s obzirom na njihov fenolni profil (Häkkinen i sur., 1999).

1.3.1. Struktura i kemijska svojstva fenolnih spojeva

Biljni fenoli su heterogena skupina spojeva, od kojih su neki topivi samo u organskim otapalima, neki u vodi, a neki su netopivi polimeri. Sadrže benzenski prsten i alkoholnu hidroksilnu skupinu. Mogu se sintetizirati na različite načine (većinom iz fenilalanina, produkta puta šikiminske kiseline). Dva najvažnija puta biosinteze uključuju put šikiminske kiseline (sudjeluje u biosintezi većine biljnih fenola) i put jabučne kiseline (ima malo

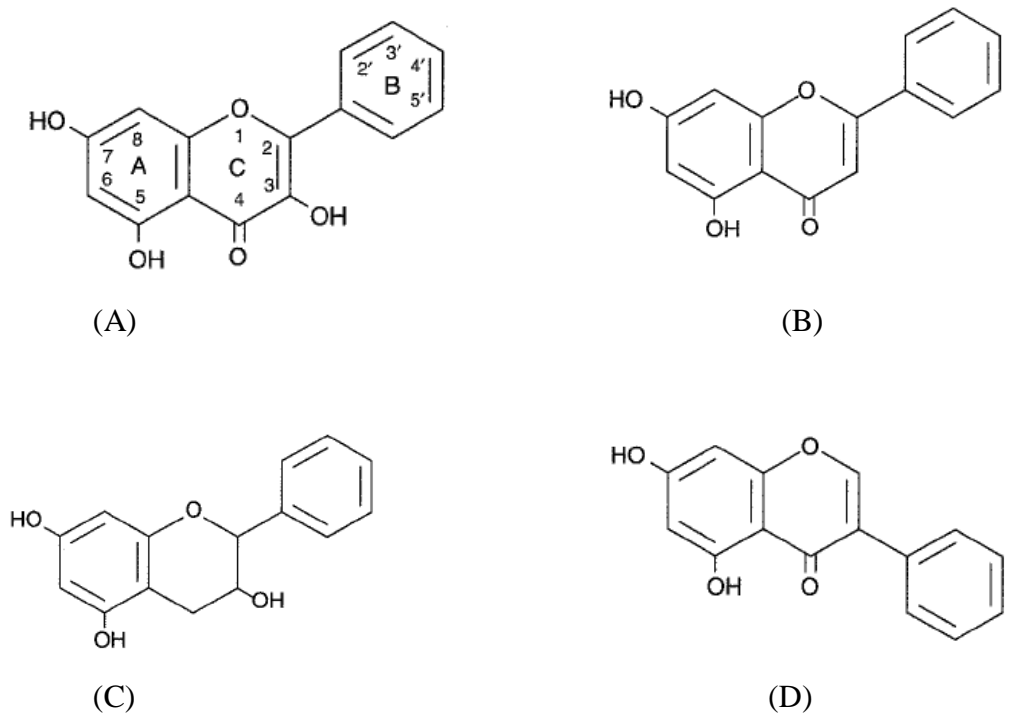
značenje u sintezi biljnih fenolnih spojeva, ali je značajan kod gljiva i bakterija) (Pevalek-Kozlina, 2002).

Biljni polifenoli uključuju fenolne kiseline, flavonoide i tanine, ali i manje uobičajene lignane i stilbene (Dai i Mumper, 2010). Glavne skupine fenolnih spojeva su: fenolne kiseline, flavonoidi i tanini, ali i lignani, kumarini, kinoni (Pietta, 2000). Fenolne kiseline (Slika 8) dijele se na hidroksicimetnu (derivati cimetine kiseline: kavina, kumarinska i ferulinska kiselina) i hidroksibenzojevu kiselinu (derivati benzojeve kiseline: galna kiselina).



Slika 8. Kemijska struktura (A) hidroksibenzojevih (Robards i sur., 1999)
i (B) hidroksicimetnih kiselina (Macheix i sur., 1990)

Flavonoidi (Slika 9) su velika skupina spojeva, prisutni u biljkama, a obično se pojavljuju kao glikozidi. Osnovna struktura je flavan jezgra, koja sadrži 15 C-atoma raspoređenih u 3 prstena (C₆-C₃-C₆). Prema oksidacijskom stanju središnjeg C-prstena, podijeljeni su u nekoliko skupina: flavonole, flavone, flavan-3-ole, izoflavone, flavanone, i antocijanidine (Rice-Evans i sur., 1997). Često se javljaju kao glikozidi, glikozilacija pruža molekuli da bude manje reaktivna prema slobodnim radikalima i topljivija u vodi te se stoga lako pohranjuje u vakuole.



Slika 9. Strukture flavonoida: flavonol (A), flavon (B), flavan-3-ol (C), izoflavon (D).
(Rice-Evans i sur., 1997)

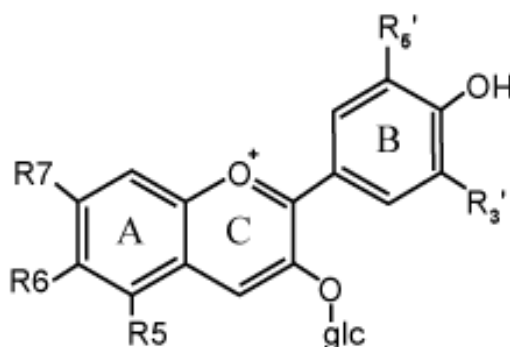
1.3.2. Funkcija fenolnih spojeva

Fenolni spojevi imaju mnoge funkcije u biljnim stanicama (Parr i Bolwell, 2000). Poznato je da mnogi fenolni spojevi imaju ulogu u regulaciji različitih fizioloških procesa, uključujući rast i razvoj biljke, unos iona i fotosintezu (Lynn i Chang, 1990). Važni su u interakciji između biljaka i drugih organizama (Parr i Bolwell 2000). Njihov unos preko hrane ima pozitivan učinak na zdravlje ljudi jer imaju veliku antioksidativnu aktivnost (Rice-Evans i sur. 1997; Prior i sur., 1998; Pietta 2000) i mogu smanjiti rizik od nastanka kardiovaskularnih bolesti (Dauchet i sur. 2006; Ness i Powles 1997; Arts i Hollman 2005). Dokazano je antiproliferativno djelovanje fenolnih ekstrakata iz plodova bobičastog voća na kulture stanica raka (Liu i sur., 2002; Meyers i sur., 2003; Seeram i sur., 2004). Također, biljni fenolni spojevi mogu imati antimikrobno djelovanje (Cowan, 1999).

1.3.3. Fenolni spojevi u jagodama

Jagode su bogat izvor fenolnih spojeva koji imaju antioksidativno i antiproliferativno djelovanje (Wang i sur., 1996; Guo i sur., 2003; Meyers i sur., 2003). Polifenolni spojevi, osim što imaju važnu ulogu u biljnim obrambenim mehanizmima na okolišne stresne čimbenike (Wang i sur., 1994), također utječu na kvalitetu, boju i okus kako svježeg voća, tako i voćnih proizvoda (Robards i sur., 1999; Bushway i sur., 2002).

Glavni fenolni spojevi u vodenim ekstraktima plodova jagode su elaginska kiselina, kvercetin i klorogena kiselina (Da Silva Pinto i sur., 2008b). Antocijanini su kvantitativno najzastupljeniji oblik polifenola u jagodama (Tulipani i sur., 2008) te značajno doprinose njihovoj antioksidativnoj aktivnosti (Wang i sur., 1997). Pripadaju flavonoidnoj skupini polifenola. Imaju $C_6C_3C_6$ kostur tipičan za flavonoide, sastavljen od dva benzenska i piranskog prstena na koji su vezane funkcionalne hidroksilne skupine (Slika 10). Istraživanja su pokazala da antocijanini imaju snažna antioksidativna svojstva (Seeram i sur., 2001, Zhang i sur., 2008). Nastaju glikoziliranjem ili acilglikoziliranjem antocijanidina i te su strukturne promjene odgovorne za modifikaciju njihovog antioksidativnog potencijala (Wang i sur., 1997). Najvažniji antocijanini su glikozilati: pelargonidin-3-glukozid je prevladavajući (83% ukupnih antocijanina), zatim pelargonidin-3-rutinozid (8%) i cijanidin-3-glukozid (7%) (Seeram i sur., 2006). Antocijanini daju ljubičastu, crvenu, ružičastu i plavu boju cvjetovima i plodovima. Antocijanidin glikozidi, pelargonidin-3-glikozid i cijanidin-3-glikozid odgovorni su za crvenu boju jagoda (Wang i Zheng, 2001).

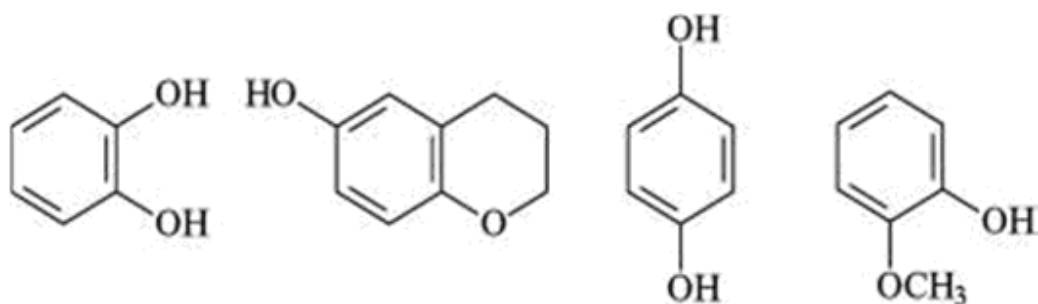


Slika 10. Struktura antocijanina

(WEB 8)

1.4. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

Antioksidansi (Slika 11) su spojevi koji pomažu u borbi protiv štetnih učinaka reaktivnih kisikovih jedinaka (ROS) i slobodnih radikala koji uzrokuju degenerativne bolesti poput raka, bolesti srca i cerebrovaskularnih bolesti (Wresburger, 2002). Dokazano je da antioksidansi kao što su vitamini i fenoli funkcioniraju kao preventivna sredstva protiv oksidativnih oštećenja (Wang i sur., 1996). Antioksidansi mogu biti endogeni i egzogeni. Endogenim antioksidansima pripadaju enzimski (citokrom c, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, katalaza) i neenzimski antioksidansi (α -tokoferol, β -karoten, koenzim Q₁₀- u membranama; i askorbat, transferin, bilirubin- izvan membrana). Egzogenim antioksidansima pripadaju hvatači slobodnih radikala („scavengers“) i prijelazni elementi (Se, Zn). Prema Antolovich i sur. (2002), podijeljeni su na primarne i sekundarne antioksidanse. ROS, uključujući peroksilni radikal (ROO \cdot), hidroksilni radikal (OH \cdot), superoksid (O₂ $^{\cdot-}$), vodikov peroksid (H₂O₂) i singletni kisik, (¹O₂) nastaju kao nusprodukti normalnog staničnog metabolizma. Njihova akumulacija u stresnim uvjetima može uzrokovati oksidativna oštećenja lipida, proteina i nukleinskih kiselina, a time i potaknuti proces programirane stanične smrti (Morel i Dangl, 1997). Antioksidativni enzimski sustav obrane sastoji se od nekoliko stotina različitih tvari i mehanizama, koji imaju sposobnost neutralizirati suvišak slobodnih radikala nastao uslijed djelovanja stresnih čimbenika (Bode i Dong, 2000).



Slika 11. Kemijska struktura antioksidansa
(Pokorny, 2007)

1.4.1. Antioksidativna aktivnost jagoda

Jagode su dobar izvor prirodnih antioksidansa (Heinonen i sur., 1998; Wang i sur., 1996). Dokazano je da jagode imaju višu antioksidativnu aktivnost od jabuka, breskvi, krušaka, grožđa, rajčice, naranči i kivija (Wang i sur., 1996; Halvorsen i sur., 2002). Prethodna istraživanja pokazala su da ekstrakt jagoda pokazuje kemopreventivno i kemoterapijsko djelovanje *in vitro* i *in vivo* (Meyers i sur., 2003; Wang i sur., 2005) (Zhang i sur., 2008). Jagode su bogate potencijalnim antioksidansima, uglavnom elaginskom kiselinom i flavonoidima, koji mogu smanjiti rizik od nastajanja kardiovaskularnih bolesti i tumorogeneze (Hannum, 2004). Iako se općenito smatra da jagode imaju visoku antioksidativnu aktivnost, značajne su razlike između genotipova (Wang i Lin, 2000).

1.5. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kako ekološki prihvatljivi tretmani (otopina salicilne kiseline, otopina koloidnog srebra i ozon) utječu na ukupnu antioksidativnu aktivnost (UAA) plodova jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) sorte Albion tijekom 7 dana skladištenja pri 4°C određivanjem ukupne koncentracije askorbinske kiseline, fenolnih spojeva i antioksidativne aktivnosti jagoda.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. MATERIJALI

U istraživanju su korišteni plodovi jagode sorte Albion (Slika 12). Sva laboratorijska mjerenja napravljena su u Biokemijskom laboratoriju Odjela za biologiju u Osijeku. Od ukupno 100 plodova jagoda, 25 jagoda je predstavljalo kontrolu, 25 je tretirano uranjanjem u 1mM otopinu salicilne kiseline, 25 uranjanjem u otopinu koloidnog srebra (30 ppm), a preostalih 25 ozonom (15 min), te su pohranjene u hladnjak na +4 °C. Biokemijske analize su provedene 0., 1., 3., 5., 7. dan skladištenja.

2.2. METODE RADA

Tijekom istraživanja u ekstraktu jagoda određeni su:

- Ukupna askorbinska kiselina
- Ukupni fenolni spojevi
- Ukupna antioksidativna aktivnost



Slika 12. Plodovi jagode sorte Albion korištene u istraživanju (Foto: Seada Marić)

2.2.1. Određivanje koncentracije askorbinske kiseline

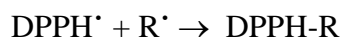
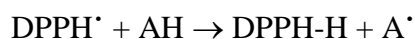
Plodovi jagode su izmiksani štapnim mikserom, te je na 0,5 g soka dodano 10 mL destilirane vode. Nakon toga suspenzije su centrifugirane 15 min na 3000 g, te je iz vodenog ekstrakta spektrofotometrijski određena koncentracija ukupne askorbinske kiseline prema Benderitter i sur. (1988.). Na 300 µl vodenog ekstrakta dodano je 100 µl 13%-tne otopine trikloroctene kiseline, 25 µl destilirane vode, 75 µl DNPH reagensa (2,4-dinitrofenilhidrazin), te nakon inkubacije reakcijske smjese 3h u vodenoj kupelji na 37 °C, dodano je 500 µl 65% H₂SO₄. Na isti način napravljene su i slijepe probe, osim što je DNPH reagens dodan nakon inkubacije. Apsorbancija uzoraka određena je spektrofotometrijski pri 520 nm, a koncentracija ukupne askorbinske kiseline izračunata je iz baždarenog pravca u kojem je askorbinska kiselina korištena kao standard. Sva mjerenja napravljena su u 5 ponavljanja.

2.2.2. Određivanje koncentracije fenolnih spojeva

Ekstrakti jagoda za određivanje fenola dobiveni su dodavanjem 2,5 mL 70%-tnog etanola na 1 g soka jagoda. Koncentracija fenolnih spojeva određena je spektrofotometrijski, metodom po Folin-Ciocalteu (Singleton i Rossi, 1965). Ova metoda se bazira na reakciji Folin-Ciocalteu (FC) reagensa (kompleks fosfonilbdenske–fosfo-volframske kiseline) s reducirajućim reagensom (fenolnim spojem) antioksidansom, pri čemu dolazi do plave boje. U reakcijsku smjesu dodano je 20 µl ekstrakta jagoda, 1,58 ml destilirane H₂O i 100 µl Folin-Ciocalteu reagensa uz miješanje na rotacijskoj miješalici. Nakon toga u periodu od najmanje 30 sekundi, a najviše 8 minuta dodano je 300 µl zasićene otopine Na₂CO₃ i dobro promiješano. Uzorci su zatim inkubirani u vodenoj kupelji 1 h na 37 °C. Apsorbancija tako priređenih uzoraka se određuje pri 765 nm, a koncentracija ukupnih fenola u ekstraktima jagoda se računa iz baždarnog pravca u kojem se galna kiselina koristi kao standard. Sva mjerenja napravljena su u 5 ponavljanja.

2.2.3. Određivanje ukupne antioksidativne aktivnosti

Ukupna antioksidativna aktivnost određena je metodom po Brand-Williamsu (Brand-Williams i sur., 1995) iz etanolnih ekstrakata jagoda. Metoda se temelji na redukciji DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikala u prisutnosti donora vodika- antioksidansa (Hodges i Kalt, 2003), u metanolnoj otopini, koja je praćena kolorimetrijskom reakcijom. Smanjenje apsorbancije na određenoj valnoj duljini u toku reakcije prati se spektrofotometrijski. Prati se reakcija između stabilnog radikala 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DPPH•) i uzorka u kojem se mjeri antioksidativna aktivnost. U prisutnosti elektron donora -AH (antioksidans koji gasi slobodne radikale) dolazi do sparivanja elektronskog para DPPH radikala te do promjene ljubičaste boje otopine u žutu, što se prati mjerenjem apsorbancije u opadanju (Brand-Williams i sur., 1995).



U zatvorene mikroeprevete dodano je 20 µl ekstrakta jagoda i 980 µl otopine DPPH. Reakcija se odvija u čvrsto zatvorenim mikroeprevetama uz lagano miješanje pri 20 °C tijekom 15 minuta. Nakon završene reakcije, sadržaj mikroepreveta prebačen je u kivetu, te je mjerena apsorbancija pri 515 nm, uključujući apsorbanciju slijepe probe. Ukupna antioksidativna aktivnost određena je iz baždarnog pravca u kojem se Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) koristi kao standard i izražava se u ekvivalentima Troloxa. Sva mjerenja napravljena su u 5 ponavljanja.

2.2.4. Statistička obrada podataka

U okviru statističke obrade podataka napravljena je analiza varijance (ANOVA) uz post hoc LSD (eng. *least significant difference*) test na razini značajnosti 5% ($p \leq 0,05$) korištenjem statističkog paketa Statistica 8.

3. REZULTATI

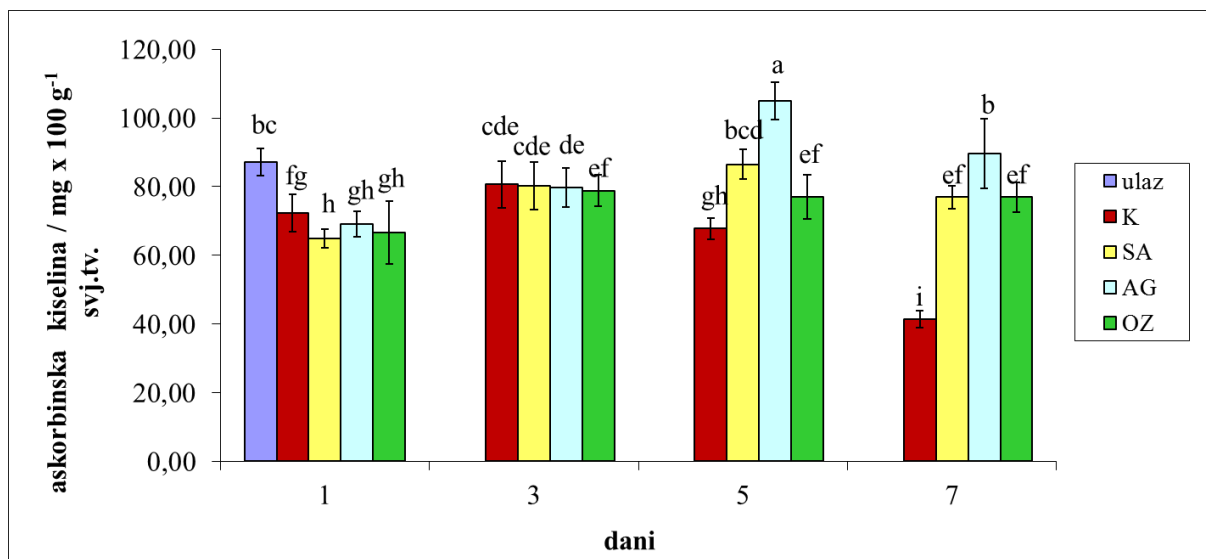
3.1. UKUPNA KONCENTRACIJA ASKORBINSKE KISELINE

U plodovima kontrolnih jagoda, tijekom skladištenja na +4°C, uočeno je značajno povećanje koncentracije askorbinske kiseline (AA) 3. dan skladištenja (80,63 mg ask.kiseline/100g svježe tvari) u odnosu na vrijednosti izmjerene 1. dana skladištenja (72,35 mg ask. kiseline/100g svj.tv.). Nakon 3. dana skladištenja koncentracija AA značajno opada i na kraju perioda skladištenja tj. 7. dan skladištenja, koncentracija AA smanjila se za 42,83% u odnosu na kontrolne plodove jagoda 1.dan skladištenja.

U plodovima jagoda tretiranih salicilnom kiselinom (SA), došlo je do značajnog porasta koncentracije AA u odnosu na kontrolne vrijednosti, ali tek 5. dan skladištenja (86,52 mg ask.kiseline/100g svj.tv.) kad je ujedno izmjerena i najviša koncentracija AA u tretiranim plodovima. Sedmi dan skladištenja je došlo do smanjenja koncentracije AA (76,89 mg ask.kiseline/100g svj.tv.) u odnosu na 5. dan, ali je vrijednost bila za 46,21% veća od kontrolne vrijednosti 7. dana skladištenja (Slika 13). Koncentracije AA u plodovima tretiranim SA 1. i 3. dan skladištenja nisu se statistički značajno razlikovale od koncentracija AA u kontrolnim plodovima (Slika 13).

U jagodama tretiranim otopinom koloidnog srebra (AG), zabilježen je porast koncentracije AA tijekom skladištenja za 22,87%; pri čemu je vrijednost bila najveća 5. dan skladištenja (104,95 mg ask.kiseline/100g svježe tvari), a 7. dan došlo do smanjenja (89,62 mg ask.kiseline/100g svj.tv.). Koncentracije askorbinske kiseline 1. i 3. dan skladištenja (69,12 i 79,71 mg ask.kiseline/100g svj.tv.) nisu se statistički značajno razlikovale od kontrolnih vrijednosti, za razliku od koncentracija 5. i 7. dan, kada su vrijednosti bile veće za 35,44% i 53,84% u odnosu na kontrolne.

U jagodama tretiranim ozonom (OZ), koncentracije AA 1. i 3. dan skladištenja nisu se statistički značajno razlikovale od kontrolnih, dok su 5. i 7. dana koncentracije (76,95 i 76,92 mg ask.kiseline/100g svj.tv.) bile veće u odnosu na kontrolne, pri čemu je 7. dan koncentracija AA bila veća za 46,22% u odnosu na kontrolne vrijednosti utvrđene tog dana (Slika 13).



Slika 13. Ukupna koncentracija askorbinske kiseline u plodovima jagoda tijekom skladištenja pri 4°C. Prosječne vrijednosti označene istim slovom (a,b,c) se ne razlikuju prema LSD testu ($p \leq 0,05$).

*K- kontrolni plodovi; SA- plodovi tretirani otopinom salicilne kiseline; AG- plodovi tretirani otopinom koloidnog srebra; OZ- plodovi tretirani ozonom.

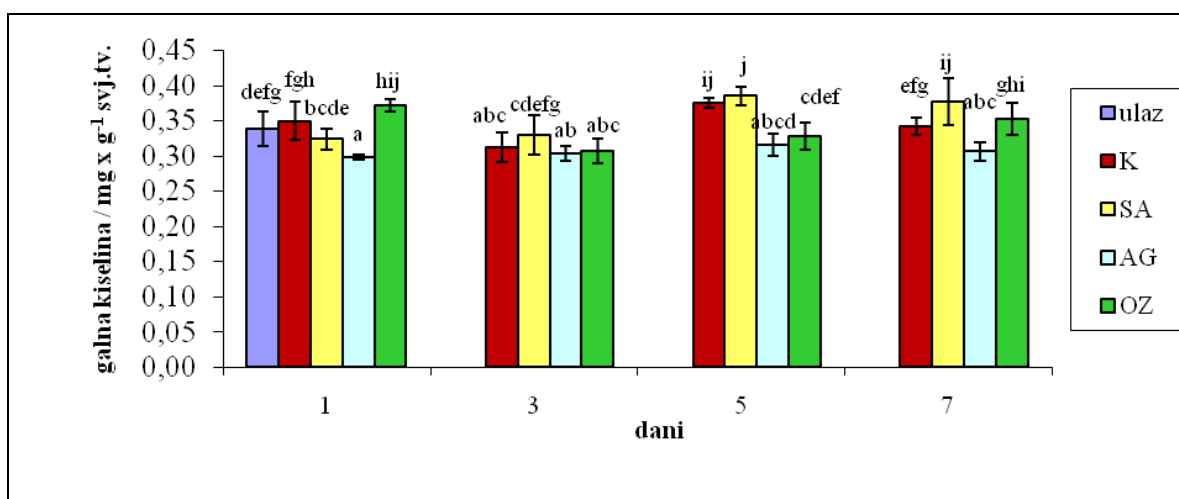
3.2. UKUPNA KONCENTRACIJA FENOLNIH SPOJEVA

U plodovima kontrolnih jagoda, 1. dan skladištenja koncentracija ukupnih fenolnih spojeva iznosila je 0,35 mg galne kiseline/g svježe tvari, i bila je najveća 5. dan skladištenja (0,38 mg galne kiseline/g svj.tv). Prvog i sedmog dana skladištenja nije bilo statistički značajne razlike između koncentracije fenolnih spojeva izmjerenih u kontrolnim plodovima jagoda (Slika 14.).

U jagodama tretiranim otopinom SA, je 1. dan skladištenja koncentracija ukupnih fenolnih spojeva bila niža nego u kontrolnim plodovima jagoda. Tijekom narednog perioda skladištenja kod plodova jagoda tretiranih otopinom SA zabilježen je porast koncentracije ukupnih fenola, dok su značajno veće koncentracije ukupnih fenola u odnosu na kontrolne vrijednosti utvrđene u tretiranim plodovima tek posljednji 7. dan skladištenja (Slika 14.).

U jagodama tretiranim AG, tijekom skladištenja, vrijednosti koncentracije fenola su bile značajno manje nego u kontrolnim plodovima, osim 3. dana skladištenja kad se statistički nisu značajno razlikovale od vrijednosti u kontrolnim plodovima (Slika 14).

U jagodama tretiranim ozonom, 1. dan skladištenja plodovi su imali najveću ukupnu koncentraciju fenolnih spojeva (0,37 mg galne kiseline/g svježe tvari). Koncentracije fenolnih spojeva nisu se statistički značajno razlikovale u odnosu na kontrolne vrijednosti, osim 5. dan skladištenja kada su bile značajno manje (Slika 14).



Slika 14. Ukupna koncentracija fenolnih spojeva u plodovima jagoda tijekom skladištenja pri 4°C. Prosječne vrijednosti označene istim slovom (a,b,c) se ne razlikuju prema LSD testu ($p \leq 0,05$).

*K- kontrolni plodovi; SA- plodovi tretirani otopinom salicilne kiseline; AG- plodovi tretirani otopinom koloidnog srebra; OZ- plodovi tretirani ozonom.

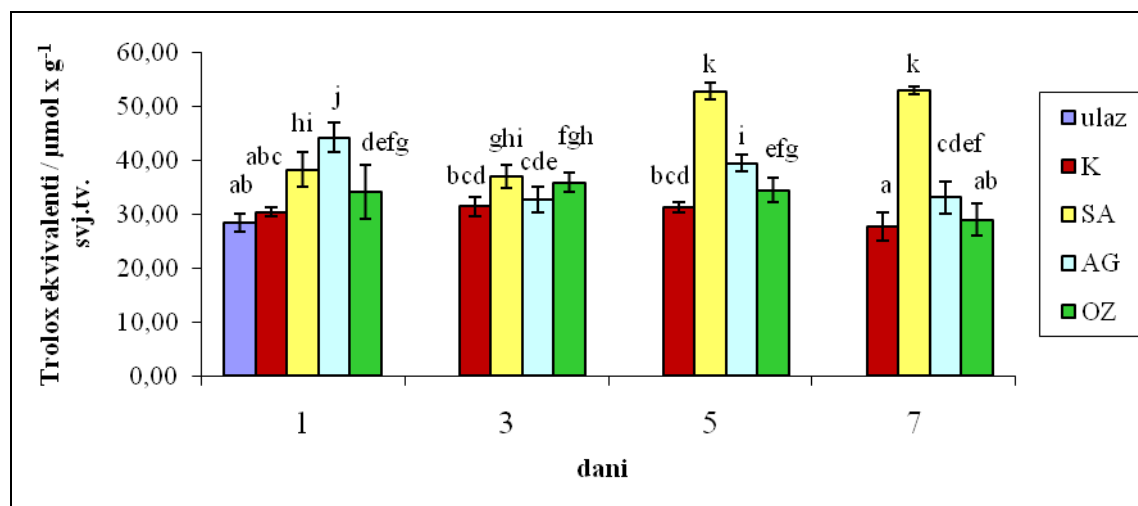
3.3. UKUPNA ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

U kontrolnim plodovima jagoda, ukupna antioksidativna aktivnost (UAA) nije se značajno mijenjala tijekom čitavog perioda skladištenja na 4 °C (Slika 15).

U jagodama tretiranim SA je vrijednost UAA, tijekom čitavog perioda skladištenja, bila značajno veća u odnosu na vrijednosti u kontrolnim plodovima, dok je najveća vrijednost UAA izmjerena posljednji 7. dan skladištenja (52,96 $\mu\text{mol Trolox/g svj.tv.}$) pri čemu je UAA tada bila veća za 46,21% u odnosu na vrijednosti dobivene u kontrolnim plodovima.

U jagodama tretiranim otopinom koloidnog srebra (AG) su vrijednosti UAA, tijekom perioda skladištenja, bile značajno veće nego vrijednosti dobivene u kontrolnim plodovima osim 3. dan kad se te vrijednosti nisu značajno razlikovale (Slika 15). Najznačajniji porast UAA u plodovima jagoda tretiranim AG uočen je 1. dan skladištenja kad su vrijednosti UAA u tretiranim plodovima bile čak 31,18 % veće od vrijednosti dobivenih u kontrolnim plodovima.

U jagodama tretiranim ozonom (OZ) su vrijednosti UAA, tijekom pet dana skladištenja, bile značajno veće nego vrijednosti UAA u kontrolnim plodovima, dok se 7. dan skladištenja vrijednost UAA tretiranih i kontrolnih plodova nije značajno razlikovala (Slika 15).



Slika 15. Ukupna antioksidativna aktivnost u plodovima jagoda tijekom skladištenja pri 4°C. Prosječne vrijednosti označene istim slovom (a,b,c) se ne razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,05$.

*K- kontrolni plodovi; SA- plodovi tretirani otopinom salicilne kiseline; AG- plodovi tretirani otopinom koloidnog srebra; OZ- plodovi tretirani ozonom.

4. RASPRAVA

Brojna istraživanja provedena na jagodama, pokazala su da su plodovi jagode bogat izvor prirodnih antioksidanasa s posebnim naglaskom na fenolne spojeve s izraženim antioksidativnim i antiproliferativnim djelovanjem (Wang i sur., 1996; Guo i sur., 2003; Meyers i sur., 2003). Plodovi jagode sadrže različite oblike fenolnih spojeva kao što su elaginska kiselina, glikozidi elaginske kiseline, elagitanini, galotanini i flavonoli (kvercetin i glikozidi), antocijanini (pelargonidin i cijanidin glikozidi), flavanoli, i kumarilni glikozidi (Anttonen 2007). Visok sadržaj fenolnih spojeva u plodovima jagoda doprinosi i njihovom većem antioksidativnom kapacitetu (Tsao i sur., 2003; Heinonen i sur., 1998), dok je doprinos askorbinske kiseline procijenjen je na samo 15% (Wang i sur., 1996).

Budući da plodovi jagode imaju kratak rok trajanja, potrebno ih je skladištiti nakon berbe (Han i sur., 2005). O uvjetima skladištenja ovisi vrijeme trajanja plodova, ali i njihova kvaliteta i nutritivni sadržaj. Tijekom skladištenja, mogu se dogoditi značajne promjene u antioksidativnom statusu plodova (Ayala-Zayala i sur., 2004). Temperatura skladištenja je najvažniji čimbenik u održavanju svježih plodova, zbog svojih učinaka na biološke reakcije (Li i Kader, 1989). Snižavanje temperature skladištenja učinkovit je način produljivanja trajnosti jagoda (Cordenunsi i sur., 2005). Međutim, temperatura također može utjecati na neke procese dozrijevanja, što zauzvrat može poboljšati ili smanjiti i senzorsku i nutritivnu vrijednost plodova (Cordenunsi i sur., 2005). Dokazano je da se izlaganjem plodova odgovarajućoj temperaturi (0 °C) i relativnoj vlazi (90-95%) nakon berbe, sprječavaju neželjene promjene u kvaliteti plodova (Kader, 1990). Prema Cordenunsi i sur. (2005), temperatura od oko 0 °C smatra se najboljom za skladištenje jagoda jer uzrokuje samo male promjene u kvaliteti; rezultati su pokazali da u potpunosti zreli plodovi jagoda trebaju biti skladišteni na temperaturi od 0 °C da bi zadržali najbolju kvalitetu, i pri toj temperaturi, jagode su imale maksimalni rok trajanja (za razliku od plodova skladištenih na 5 i 10 °C).

U ovom istraživanju je tijekom skladištenja došlo do promjena u sadržaju askorbinske kiseline, fenola, te u antioksidativnoj aktivnosti (Slike 13, 14 i 15). Plodovi jagode su inače bogati askorbinskom kiselinom (Cordenunsi i sur., 2002; Robards i sur., 1999). Koncentracija askorbinske kiseline u plodovima ovisi o nizu pokazatelja kao što su klimatski uvjeti prije branja, uvjeti tijekom skladištenja, ali i o samoj sorti (Lee i Kader, 2000; Koyuncu i sur., 2010). Prema istraživanju Da Silva Pinto i sur. (2008a), prosječna koncentracija askorbinske kiseline u plodovima jagoda iznosi oko 82 mg/100 g svježe tvari, a može varirati ovisno o sortama. U našem istraživanju, prosječna koncentracija askorbinske kiseline u kontrolnim plodovima jagoda sorte Albion iznosila je 87,09 mg/100g svj.tv. Askorbinska kiselina prilično

je nestabilna, vrlo je osjetljiva na kemijske i enzimске oksidacije tijekom skladištenja voća i povrća (Lee i Kader, 2000) i pokazatelj je svježine voća (Sanz i sur., 1999), te se u istraživanjima koristi kao kvalitativni indikator (Rosen i Kader, 1989). U ovom istraživanju se ukupna koncentracija askorbinske kiseline u kontrolnim plodovima smanjila 5. i 7. dan skladištenja, pri čemu se 7. dan skladištenja koncentracija askorbinske kiseline smanjila za 42,83% u odnosu na vrijednosti dobivene u kontrolnim plodovima 1. dan skladištenja; i iznosila je 41,36 mg/100g svježe tvari (Slika 13). Inače tijekom skladištenja na niskim temperaturama, dolazi do smanjivanja koncentracije askorbinske kiseline (Adisa, 1986; Hansawasdi i sur., 2006). Adisa (1986) je dokazao da pri niskim temperaturama (0 °C i 5 °C) dolazi do smanjenja koncentracije askorbinske kiseline u ananasu i narančama. Također, prema Hansawasdi i sur. (2006), dolazi do smanjenja koncentracije askorbinske kiseline u plodovima jagoda, sorte Prarajathan pri 0°C. Stoga je, održavanje odgovarajuće temperature nakon berbe i tijekom perioda skladištenja najvažniji čimbenik za održavanje sadržaja askorbinske kiseline u voću i povrću. Vrijeme berbe, metode branja, i uvjeti skladištenja utječu na sadržaj askorbinske kiseline u voću i povrću. Uvjeti poslije berbe, kao što je dugotrajno skladištenje, temperatura, niska relativna vlažnost, fizička oštećenja i ozljede izazivaju razaranje askorbinske kiseline u agrumima (Kader, 1988). Zatim, koncentracija askorbinske kiseline ovisi i o zrelosti plodova. Nagy (1980) je utvrdio da nezreli agrumi sadrže najveću koncentraciju vitamina C, za razliku od zrelih plodova koji sadrže najmanje. U principu, svježe ubrano voće i povrće sadrže više vitamina C od onog skladištenog na niskoj temperaturi (Lee i Kader, 2000). Jagode i drugo bobičasto voće gubi brzo askorbinsku kiselinu ukoliko je oštećeno za vrijeme berbe (Moretti i sur., 1998). Smanjenje sadržaja askorbinske kiseline može biti povezano s aktivnošću askorbat oksidaze koja potiče oksidaciju askorbinske kiseline do dehidroaskorbinske kiseline (Agar i sur., 1997). Cordenunsi i sur. (2005) dokazali su da je skladištenje pri 6 °C učinkovit način za održavanje početne razine ukupne koncentracije askorbinske kiseline, pri čemu se njen sadržaj značajno ne povećava.

Ukupna koncentracija fenolnih spojeva varira ovisno o vrsti voća (Waterhouse i Walzem, 1998) i zrelosti (Wang i Lin, 2000), te okolišnim čimbenicima kao što su svjetlost i temperatura (Kalt i sur., 1999). Da Silva Pinto i sur. (2008a) su pokazali da u plodovima jagoda koncentracija fenolnih spojeva varira ovisno o sorti, u rasponu od 205 (Camp Dover) do 318 (Dover) mg/100 g svj.tv., s prosječnom vrijednosti od 241 mg/100 g svj.tv. U ostalim istraživanjima, vrijednosti su bile 330 mg galne kiseline/100 g svj.tv. za sortu Driscoll (Proteggente i sur., 2002) i 161-295 mg galne kiseline/100 g svj.tv. za sortu Chandler

(Heinonen i sur., 1998). U našem istraživanju koncentracija fenolnih spojeva u kontrolnim plodovima sorte Albion iznosila je 0,3377 mg galne kiseline/g svježe tvari (337,7 mg/100 g svj.tv).

U kontrolnim plodovima jagoda, se koncentracija ukupnih fenolnih spojeva tijekom skladištenja nije značajno mijenjala tj. nije bilo statistički značajne razlike između koncentracije fenolnih spojeva 1. i 7. dan skladištenja (Slika 14). To je u skladu sa istraživanjem Cordenunsi i sur. (2005), gdje se prosječna vrijednost koncentracije fenolnih spojeva od 300 mg/100 g svj.tv, tijekom skladištenja nije značajno mijenjala kod sorti Dover, Campineiro i Oso Grande. Također, prema istraživanju Gil i sur. (2006), tijekom skladištenja nije bilo značajnih promjena u sadržaju fenola u ananasu, kiviju, dinji, lubenici, mangu, kao ni u plodovima jagoda (*Fragaria x ananassa* sorta Seascape). Ayala-Zavala i sur. (2004), dokazali su da koncentracija fenola u plodovima jagodama ovisi o temperaturi skladištenja. Prema njihovom istraživanju, plodovi jagoda (*Fragaria x ananassa* sorta Chandler) skladišteni pri 0 °C, imali su nižu koncentraciju fenola, za razliku od plodova skladištenih pri 5 i 10 °C. Također, prema istraživanju Piljac-Žegarec i Šamec (2011), na kraju skladištenja, ukupni fenolni sadržaj je bio značajno viši u plodovima jagoda, višanja i malina skladištenih pri 25 °C u odnosu na one pri 4 °C.

U kontrolnim plodovima jagoda, ukupna antioksidativna aktivnost plodova jagoda nije se statistički značajno mijenjala tijekom čitavog perioda skladištenja (Slika 15). Prema istraživanju Wang i sur., 1996, antioksidativna aktivnost voća (jagode, kivi, banane, grožđe, jabuke) izravno je povezana s koncentracijom fenolnih spojeva. Ovo su također dokazali Connor i sur. (2002) kod 9 sorti borovnica.

U ovom istraživanju ukupna antioksidativna aktivnost bila je u značajnoj pozitivnoj korelaciji s koncentracijom ukupnih fenolnih spojeva ($r = 0,2199$). Slične rezultate zabilježili su i Wang i Lin (2000), koji su ustanovili linearnu korelaciju između ukupne antioksidativne aktivnosti i koncentracije fenola u plodovima kupina ($r = 0,961$) i malina ($r = 0,911$). Osim toga, Deighton i sur. (2000) utvrdili su prividni linearni odnos između antioksidativne aktivnosti i ukupnih fenola ($r = 0,965$) u kupinama, pri čemu je sadržaj antocijanina imao mali utjecaj na antioksidativnu aktivnost ($r = 0,588$) dok je askorbinska kiselina pridonijela samo minimalno antioksidativnoj aktivnosti. Hébert i Willemot (1997) istraživali su mogući odnos između antioksidativne aktivnosti i trajnosti sedam sorti jagoda, i predložili da antioksidativna aktivnost ima utjecaj na kakvoću i trajnost plodova. U našem istraživanju antioksidativna aktivnost kontrolnih plodova jagoda iznosila je prosječno 28,48 $\mu\text{mol Trolox/g svj.tv}$.

Kako bi se izbjegli gubici vezani uz skladištenje jagoda, plodovi su tretirani otopinom salicilne kiseline, otopinom koloidnog srebra i ozonom.

Salicilna kiselina je važan fenilpropanoidni spoj koji utječe na otpornost biljaka na patogene i druge čimbenike koji uzrokuju stres u biljkama (Sharma i sur., 1996; Durner i sur., 1997). Postoje dokazi da salicilna kiselina može promijeniti antioksidativnu aktivnost u biljnim stanicama (Chen i sur., 1997; Rao i sur., 1997). Salicilna kiselina je važna za poboljšanje učinkovitosti antioksidativnog sustava u biljkama; povećavajući razinu signalne molekule H_2O_2 (Janda i sur., 2003); aktivira antioksidativne enzime: katalaze, peroksidaze i superoksid dismutaze (Hayat i sur., 2008; Yusuf i sur., 2008). Salicilna kiselina aktivira askorbat peroksidazu, što povećava antioksidativnu aktivnost i sadržaj askorbinske kiseline u voću (Wang i sur., 2006). Povećana antioksidativna aktivnost i otpornost biljaka na stres, induciranih salicilnom kiselinom, sprječavaju smanjenje sadržaja askorbinske kiseline (Wisniewska i Chelcowski, 1999). Također, Shafiee i sur. (2010) dokazali su da tretman salicilnom kiselinom poboljšava čvrstoću plodova, sprečava propadanje, gubitak težine i smanjenje sadržaja askorbinske kiseline. U plodovima tretiranim salicilnom kiselinom, došlo je do porasta koncentracije askorbinske kiseline tijekom skladištenja. Koncentracije askorbinske kiseline 5. i 7. dan skladištenja statistički značajno su se razlikovale od kontrolnih vrijednosti, pri čemu je 7. dan koncentracija bila veća 46,22% u odnosu na kontrolnu. Također, zabilježen je porast koncentracije fenolnih spojeva, sve do 5. dana, kada je koncentracija bila najveća (0,3848 mg galne kiseline/g svježe tvari). Antioksidativna aktivnost je rasla sve do 7. dana skladištenja (52,96 μ mol Trolox/g svj.tv.). Vrijednosti su bile veće u odnosu na kontrolne, i statistički značajno su se razlikovale, pri čemu je 7. dan antioksidativna aktivnost bila veća za 46,21% u odnosu na kontrolu (Slika 15). Ovaj porast koncentracije askorbinske kiseline, fenola i antioksidativne aktivnosti potvrđuje pozitivan učinak tretmana plodova salicilnom kiselinom na antioksidativnu aktivnost i sadržaj askorbinske kiseline u voću (Wang i sur., 2006).

Koloidno srebro je netoksično sredstvo koje pokazuje visoku sposobnost u uklanjanju mikroorganizama (Rostami i sur., 2009). U plodovima jagoda tretiranim srebrom zabilježen je porast koncentracije askorbinske kiseline tijekom skladištenja za 22,87%. Koncentracije askorbinske kiseline 5. i 7. dan skladištenja, bile su veće za 35,44% i 53,84% u odnosu na kontrolne (Slika 13). Porast askorbinske kiseline u plodovima tretiranim srebrom pokazuje pozitivan učinak srebra tijekom skladištenja. Koncentracije fenolnih spojeva u plodovima jagoda tretiranim otopinom koloidnog srebra bile su niže u odnosu na kontrolne vrijednosti te se i antioksidativna aktivnost tih plodova smanjila tijekom skladištenja. Ipak je

antioksidativna aktivnost plodova tretiranih otopinom koloidnog srebra na kraju perioda skladištenja bila značajno veća u odnosu na antioksidativnu aktivnost u kontrolnim plodovima (Slike 14 i 15). Dosad nije utvrđeno djelovanje koloidnog srebra na skladištenje voća, ali ovi rezultati pokazuju da tretman koloidnim srebrom ima pozitivan učinak na koncentraciju askorbinske kiseline, fenolnih spojeva i antioksidativnu aktivnost plodova tijekom skladištenja.

U plodovima tretiranim ozonom, koncentracije askorbinske kiseline nisu se značajno mijenjale, što pokazuje da ozon ima pozitivan učinak, i sprječava snižavanje koncentracije askorbinske kiseline. Koncentracije 5. i 7. dan skladištenja bile su veće u odnosu na kontrolne, pri čemu je 7. dan koncentracija bila veća za 46,22% u odnosu na kontrolu tog dana (Slika 13). U prethodnim istraživanjima dokazan je pozitivan utjecaj ozona na održavanje konstantnog sadržaja askorbinske kiseline (Luwe i sur., 1993). Također, korištenje tretmana ozonom preporučuje se za smanjenje propadanja i produljenje razdoblja skladištenja povrća (mrkve; Liew i Prange 1994); i voća (grožđe; Sarig i sur., 1996). U plodovima tretiranim ozonom, koncentracije fenolnih spojeva nisu se statistički značajno razlikovale u odnosu na kontrolne vrijednosti, osim 5. dan skladištenja. Tijekom skladištenja, nije došlo do značajnih promjena u antioksidativnoj aktivnosti. To je u skladu sa istraživanjem Kuskoski i sur. (2005), gdje nije bilo statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u sadržaju fenolnih spojeva između kontrolnih plodova (jagoda, kupina, grožđa, manga, ananasa) i onih tretiranih ozonom, kao ni u antioksidativnoj aktivnosti. U odnosu na kontrolne, vrijednosti ukupne antioksidativne aktivnosti su se statistički značajno razlikovale i bile su nešto veće, osim 7. dan kada nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na kontrolu (Slika 15). Ovi rezultati dokazuju da tretman plodova jagoda ozonom tijekom skladištenja ima pozitivan učinak na ukupnu koncentraciju askorbinske kiseline, fenola i ukupnu antioksidativnu aktivnost.

5. ZAKLJUČCI

- Tijekom skladištenja na +4°C, u plodovima kontrolnih jagoda, uočeno je značajno smanjenje koncentracije askorbinske kiseline.
- U plodovima jagoda tretiranih salicilnom kiselinom, koloidnim srebrom i ozonom koncentracija fenola nije se statistički značajno mijenjala tijekom skladištenja osim posljednji dan skladištenja kad je tretman salicilnom kiselinom uzrokovao povećanje koncentracije fenola.
- Ukupna koncentracija askorbinske kiseline i antioksidativna aktivnost kod svih tretmana na kraju skladištenja bile su veće nego u kontrolnim plodovima, što pokazuje da ovi tretmani imaju pozitivan učinak pri skladištenju plodova i moguće ih je primjenjivati kao ekološki prihvatljive tretmane za održavanje kvalitete plodova jagoda tijekom skladištenja.
- Tretman 1mM otopinom salicilne kiseline imao je najbolji učinak jer je uzrokovao značajni porast sva tri mjerena parametra koji određuju kvalitetu plodova jagoda tijekom skladištenja.

6. LITERATURA

Aaby K, Skrede G, and Ronald WE. 2005. Phenolic Composition and Antioxidant Activities in Flesh and Achenes of Strawberries (*Fragaria x ananassa*). *J Agric Food Chem* 53: 4032-4040.

Abdi GR, Salehi H, Khosh-Khui M. 2008. Nano silver: a novel nanomaterial for removal of bacterial contaminants in valerian (*Valeriana officinalis* L.) tissue culture. *Acta Physiol Plant* 30: 709-714.

Adisa VA. 1986. The influence of molds and some storage factors on the ascorbic acid content of orange and pineapple fruits. *Food Chem* 22: 139-146.

Agar IT, Streif J, Bangerth F. 1997. Effect of high CO₂ and controlled atmosphere (CA) on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. *Postharvest Biol Technol* 11: 47-55.

Ali AM, Sultan MT, Din A, Niaz B. 2011. Post-harvest physicochemical changes in full ripe strawberries during cold storage. *J Anim Plant Sci* 21(1): 38-41.

Allende A, Marín A, Buendía B, Tomás-Barberán F, Gil MI. 2007. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, superatmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. *Postharvest Biol Technol* 46: 201-211.

Alvarez ME. 2000. Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. *Plant Physiol* 126: 1024-1030.

Ambriović Ristov A. 2007. Metode u molekularnoj biologiji. IRB. Zagreb, 1021 str.

Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. 2002. Methods for Testing Antioxidant Activity. *The Analyst* 127: 183-198.

Anttonen JM. 2007. Evaluation of Means to Increase the Content of Bioactive Phenolic Compounds in Soft Fruits. *Natural Environ Sci* 208: 93.

Arts ICW, Hollman PCH. 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 81: 317-325.

Ayala-Zavala JF, Wang SY, Wang CY, Gonzalez-Aguilar GA. 2004. Effect of temperature on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Lebensm Wiss u Technol* 37: 687-695.

Babalar M, Asghari M, Talaei A, Khosroshahi A. 2007. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food Chem* 105: 449–453.

Bacchella R, Testoni A, Lo Scalzo R. 2009. Influence of genetic and environmental factors on Chemical profile and antioxidant potential of commercial strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch). *Agr Food Chem* 8(4): 230-242.

Bachmann J, Earles R. 2000. Postharvest handling of fruits and vegetables. *Appropriate Technology Transfer for Rural Areas*: 19 pp.

Ball GFM. 1999. Bioavailability and Analysis of Vitamins in Foods. *Eur J Clin Nutr* 53: 80-81.

Biolattoa SV, Cantetb RJC, Pensela NA. 2005. Influence of different postharvest treatments on nutritional quality of grapefruits. *Lebensm Wiss u Technol* 38: 131–134.

Bode AM, Dong Z. 2000. Signal transduction pathways: targets for chemoprevention of skin cancer. *Lancet Oncol* 1: 181-188.

Bushway AA, Hu W, Shupp JM. 2002. Quality characteristics of five disease resistant apple cultivars. *J Amer Pom Soc* 56(2): 94-105.

Cheel J, Theoduloz C, Rodríguez JA, Caligari PDS, Schmeda-Hirschmann G. 2007. Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler. *Food Chem* 102: 36–44.

- Chen Z, Iyer S, Caplan A, Klessig DF, Fan B. 1997. Differential accumulation of salicylic acid and salicylic acid-sensitive catalase in different rice tissues. *Plant Physiol* 114: 193–201.
- Connor AM, Luby JJ, Hancock JF, Berkheimer S, Hanson EJ. (2002). Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. *J Agric Food Chem* 50: 893–898.
- Cordenunsi BR, Nascimento JRO, Genovese MI, Lajolo FM. 2002. Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. *J Agric Food Chem* 50: 2581–2586.
- Cordenunsi BR, Genovese IM, Do Nascimento OJR, Hassimotto AJM, Dos Santos RJ, Lajolo MJ. 2005. Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chem* 91: 113–121.
- Cordenunsi BR, Nascimento JRO, Lajolo FM. 2002. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. *Food Chem* 83: 167–173.
- Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 12: 564–582.
- Da Silva FL, Escribano-Bailón MT, Pérez AJJ, Rivas-Gonzalo C, Santos-Buelga C. 2007. Anthocyanin pigments in strawberry. *Lebensm Wiss Technol* 40: 374–382.
- Da Silva Pinto M, Lajolo MF i Genovese MI. 2007. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Strawberry Jams. *Plant Food Hum Nutr* 62: 127–131.
- Da Silva Pinto M, Lajolo MF, Genovese IM. 2008a. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chem* 107: 1629–1635.
- Da Silva Pinto M, Young-In K, Apostolidis E, Lajolo MF, Genovese IM, Shetty K. 2008b. Functionality of Bioactive Compounds in Brazilian Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) Cultivars: Evaluation of Hyperglycemia and Hypertension Potential Using In Vitro Models. *J Agric Food Chem* 56: 4386–4392.

Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* 15: 7313-7352.

Dat JF, Lopez-Delago H, Foyer CH, Scott IM. 1998. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiol* 116: 1351-1357.

Dauchet L, Amouyel P, Hercberg S, Dallongeville J. 2006. Fruits and vegetables consumption and risk of coronary heart disease: A meta-analysis of cohort studies. *J Nutr* 136: 2588-2593.

Deighton N, Brennan R, Finn C, Davies HV. 2000. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *J Sci Food Agric* 80: 1307-1313.

Del Caro A, Piga A, Vacca V, Agabbio M. 2004. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chem* 84: 99–105.

Demling RH, DeSanti L. 2001. Effects of silver on wound management. *Wounds*. 13:5-15

Dickson RG, SE Law, Kays SJ, Eiteman MA. 1992. Abatement of ethylene by ozone treatment in controlled atmosphere storage of fruits and vegetables. *Am Soc Agric Eng* 1-9.

Durner J, Shah J, Klessig DF. 1997. Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trend Plant Sci* 2: 266–274.

Enyedi AJ, Yalpani N, Silverman P. 1992. Signal molecules in systemic plant resistance to pathogens and pests. *J Cell* 70: 879–886.

Erdman HE. 1980. Ozone toxicity during ontogeny of two species of flour beetles, *Tribolium confusum* and *T. castaneum*. *Environ Entomol* 9: 16–17.

Erkan M, Wang SY, Wang CHY. 2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biol Technol* 48: 163–171.

- Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui, FZ, Kim TM, Kim JO. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res* 52: 662 - 668.
- Franco-Molina MA, Mendoza-Gamboa E, Sierra-Rivera CA, Gómez-Flores RA, Zapata-Benavides P, Castillo-Tello P, Alcocer-González JA, Miranda-Hernández DF, Tamez-Guerra RS, Rodríguez-Padilla C. 2010. Antitumor activity of colloidal silver on MCF-7 human breast cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res* 29: 148.
- Ghosh MK, Chattopadhyay DJ, Chatterjee IB. 1996. Vitamin C prevents oxidative damage. *Free Radic Res* 25: 173-179.
- Gil MI, Holcroft DM, Kader AA. 1997. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *J Agric Food Chem* 45: 1662–1667.
- Gil MI, Aguayo E, Kader AA. 2006. Quality Changes and Nutrient Retention in Fresh-Cut versus Whole Fruits during Storage. *J Agric Food Chem* 54: 4284-4296.
- Graham DM, Pariza M, Glaze WH, Newell GW, Erdman JW, Borzelleca JF. 1997. Use of ozone for food preservation. *Food Technol* 51(6): 72-76.
- Guo CJ, Yang JJ, Wei JY, Li YF, Xu J, Jiang YG. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr Res* 23: 1719-1726.
- Halvorsen BL, Holte K, Myhrstad MCW, Barikmo I, Hvattum E, Fagertun Remberg S. 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J Nutr* 132: 461.
- Han C, Lederer C, Mcdaniel M, Zhao Y. 2005. Sensory Evaluation of Fresh Strawberries (*Fragaria ananassa*) Coated with Chitosan-based Edible Coatings. *J Food Sci* 70: 172-178.
- Hannum SM. 2004. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Crit Rev Food Sci Nutr* 44: 1–17.

- Hansawasdi C, Rithiudom S, Chaiprasart P. 2006. Quality and antioxidant activity changes during low-temperature storage of strawberry fruits. *Acta Hort* 708: 301-306.
- Harper JR, Balke NE. 1981. Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in oats roots by salicylic acid. *Plant Physiol* 68: 1349-1353.
- Hayat S, Hasan SA, Fariduddin Q, Ahmad A. 2008. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *J Plant Int* 3(4): 297–304.
- Hayat Q, Hayat S, Irfan M, Ahmad A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environ Exp Bot* 68: 14–25.
- Häkkinen S, Heinonen M, Kärenlampi S, Mykkänen H, Ruuskanen J, Törrönen R. 1999. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Res Int* 32: 345–353.
- Häkkinen S. 2000. Flavonols and Phenolic Acids in Berries and Berry Products. Doktorska disertacija. Kuopio. Finland.
- Hébert C, Willemot C. 1997. Antioxidant Potential and Strawberry Preservation. *Hortsci*. 32(3): 434.
- Heinonen IM, Meyer AS, Frankel EN. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J Agr Food Chem* 46: 4107-4112.
- Hodges MD, Kalt W. 2003. Health Functionality of Small Fruit. *Acta Hort* 626: 17-23
- Holcroft DM, Kader AA. 1999. Controlled atmosphere induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biol Technol*. 17: 19–32.
- Iqbal K, Khan A, Ali Khan Khattak MM. 2004. Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health. *Pakistan J Nutr*. 3: 5-13.

Janda T, Szalai G, Rios-Gonzalez K, Veisz O, Paldi E. 2003. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. *Plant Sci* 164: 301–306.

Johnston CS, Martin LJ, Cai X. 1992. Antihistamine effect of supplemental ascorbic acid and neutrophil chemotaxis. *J Am Coll Nutr* 11: 172-176.

Kabasakalis V, Siopidou D, Moshatou E. 2000. Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. *Food Chem* 70: 325-328.

Kader AA, 1988. Influence of preharvest and postharvest environment on nutritional composition of fruits and vegetables. In: Quebedeaux, B., Bliss, F.A. (Eds.), *Horticulture and Human Health: Contributions of Fruits and Vegetables*. Proceedings of the 1st International Symposium on Horticulture and Human Health. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, pp. 18–32.

Kader AA. 1990. Quality and its maintenance to the postharvest physiology of strawberry. In Dale A, Luby JJ (Eds.), *The strawberry into the 21st century*. Proceedings of the third North American strawberry conference, Houston, TX, Portland, OR: Timber Press. pp. 145–152.

Kader AA. 2001. Recent advances and future research needs in postharvest technology of fruits. *Bull Int Inst Refrig* 81: 3-14.

Kafkas E, Kosar M, Paydas S, Kafkas S, Baser KHC. 2007. Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages. *Food Chem* 100: 1229-1236.

Kalt W, Forney ChF, Martin A, Prior RL. 1999. Antioxidant Capacity, Vitamin C, Phenolics, and Anthocyanins after Fresh Storage of Small Fruits. *J Agric Food Chem* 47: 4638-4644.

Kim JG, Yousef AE, Dave S. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *J Food Prot* 62: 1071–1087.

Kim JS, Kulk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ. 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine* 3: 95-101

Klasen HJ. 2000. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. II Renewed interest for silver. *Burns* 26: 131-8.

Klaus T, Joerger R, Olsson E, Granqvist CG. 1999. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. *Proc Natl Acad Sci* 96: 13611-13614.

Klessig DF, Malamy J. 1994. The salicylic acid signal in plants. *Plant Mol Biol* 26: 1439–1458.

Krüger E, Dietrich H, Schöpplein E, Rasim S, Kürbel P. 2011. Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biol Technol* 60: 31–37.

Kuskoski,EM, Asuero A, Morales M, Fett R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc Tecnol Aliment* 25(4): 726-732.

Lansdovvn ABG. 2002. Silver: its antibacterial properties and mechanism of action. *J Wound Care* 11: 125-38.

Łata B, Trąpczyńska A, Oleś M. 2005. Antioxidant content in the fruit peel, flesh and seeds of selected apple cultivars during cold storage. *Folia Horticulturae Ann* 17(1): 47-60.

Lee SK, Kader AA. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol Technol* 20: 207–220.

Li C, Kader AA. 1989. Residual effects of controlled atmospheres on postharvest physiology and quality of strawberries. *J Amer Soc Hort Sci* 114: 629–634.

Liew CL, Prange RK. 1994. Effect of ozone and storage temperature on postharvest diseases and physiology of carrots. *J Amer Soc Hort Sci* 119: 563–567.

Liu M, Li XQ, Weber C, Lee CY, Brown J, Liu RH. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *J Agric Food Chem* 50: 2926-2930.

- Liu H, Song L, You Y, Li Y, Duan X, Jiang Y, Joycec D.C, Ashraf M, Lue W. 2011. Cold storage duration affects litchi fruit quality, membrane permeability, enzyme activities and energy charge during shelf time at ambient temperature. *Postharvest Biol Technol* 60: 24–30.
- Lynn DG, Chang M. 1990. Phenolic signals in cohabitation: implications for plant development. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 41: 497-526.
- Lubick N. 2008. “Nanosilver toxicity: ions, nanoparticles or both?” *Environ Sci Technol* 42 (23): 8617.
- Luwe MWF, Takahama U, Heber U. 1993. Role of ascorbate in detoxifying ozone in the apoplast of spinach (*Spinacia oleracea* L) leaves. *Plant Physiol* 101: 969–976.
- Macheix JJ, Fleuriet A, Billot J. 1990. *Fruit Phenolics*. CRC Press, Boca Raton, Florida, US
- Mahdavian K, Kalantari KhM, Ghorbanli M. 2007. The Effect of Different Concentrations of Salicylic Acid on Protective Enzyme Activities of Pepper (*Capsicum annuum* L) Plants. *Pak J Biol Sci* 10: 3162-3165.
- Mercado JA, Pliego-Alfaro F, and Quesada MA. 2007. Strawberry. *Biotechnol Agric Forest* 60: 309-328.
- Metwally A, Finkemeier I, Georgi M, Dietz K, 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol* 132: 272-281.
- Meyers KJ, Watkins CB, Pritts MP, Liu RH. 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *J Agric Food Chem* 51: 6887-6892.
- Miloš T. 1997. Jagoda. Naklada Jurčić, Zagreb: 220 str.
- Morel JB, Dangl JL. 1997. The hypersensitive response and the induction of cell death in plants. *Cell Death Differ* 4: 671-683.

Moretti CL, Sargent SA, Huber D, Calbo AG, Puschmann, R. 1998. Chemical composition and physical properties of pericarp, locule, and placental tissues of tomatoes with internal bruising. *J Am Soc Hortic Sci* 123: 656–660.

Naidu KA. 2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery. *Nutr J* 2:7.

Nagy S. 1980. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. *J Agric Food Chem* 28: 8–18.

Ness AR, Powles JW. 1997. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int J Epidemiol* 26(1): 1-13.

Nickols D, Varas AJ. 1992. Ozonation In: Disinfection Alternatives for Safe Drinking Water. Bryant, EA, Fulton GP, Budd, GC. Van Nostrand Reinhold, New York 197-258 pp.

Olias JM, Sanz C, Perez AG. 2000. Postharvest handling of strawberries for fresh market. In: Dris, R., Niskanen, R., Jain, S.M. (Eds.), *Grop Management and Postharvest Handling of Horticultural Products. Quality management*, vol. 1 Science Publishers, Inc., 364 pp.

Ottoboni F, Ottoboni A. 2005. Ascorbic Acid and the Immune System. *J Orthomol Med* 20: 179-183.

Padayatty SJ, Katz A, Wang Y. 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr* 22: 18-35.

Palou L, Crisosto CH, Smilanick JL, Adaskaveg JE, Zoffoli JP. 2002. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological response of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biol Tech* 24: 39–48.

Pantelidis GE, Vasilakakis M, Manganaris GA, Diamantidis GR. 2007. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem* 102: 777–783.

Parr S, Bolwell. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J Sci Food Agric* 80: 985-1012.

Pelayo C, Ebeler SE, Kader AA. 2003. Postharvest life and flavor quality of three strawberry cultivars kept at 5 °C in air or air + 20 kPa CO₂. *Postharvest Biol Technol* 27: 171–183.

Pevalek Kozlina B. 2002. *Fiziologija bilja*. Udžbenik Sveučilišta u Zagrebu, Profil International, Zagreb: 179 str.

Pérez AG, Sanz C, Ríos JJ, Olías R, and Olías JM. 1999. Effects of Ozone Treatment on Postharvest Strawberry Quality. *J Agric Food Chem* 47: 1652–1656.

Pietta PG. 2000. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 63: 1035-1042.

Piljac-Žegarec J, Šamec D. 2011. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. *Food Res Int* 44: 345-350.

Popova L, Pancheva T, Uzunova A. 1997. Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Bulg J Plant Physiol* 23(1-2): 85-93.

Prior RL, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwan J, O'Brien C. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *J Agric Food Chem* 46: 2686–2693.

Rao MV, Paliyath G, Ormrod P, Murr DP, Watkins CB. 1997. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress and H₂O₂-metabolizing enzymes. *Plant Physiol* 115: 137–149.

Rai M, Yadav A, Gade A. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv* 27: 76–83.

Raskin I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 43: 439-463.

- Rice RG. 1999. Ozone in the United States-State Of The Art. *Ozone Sci Eng* 21: 99-118.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trend Plant Sci* 2:2152-2159.
- Rice-Evans CA, Miller NJ. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc Trans* 24: 790-795.
- Robards K, Prenzler PD, Tucker G, Swatsitang P, Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *J Agri Food Chem* 66: 401-436.
- Rosen JC, Kader AA. 1989. Post-harvest physiology and quality maintenance of sliced pear and strawberry fruits. *J Food Sci* 45: 656–659.
- Rostami AA, Shahsavar A. 2009. Nano-Silver Particles Eliminate the *in vitro* Contaminations of Olive 'Mission' Explants. *Asian J Plant Sci* 8: 505-509.
- Sahari MA, Boostani FB, Hamidi EZ. 2004. Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen strawberry. *Food Chem* 86: 357–363.
- Sarig P, Zahavi T, Zutkhi Y, Yannai S, Lisker N, Ben-Arie R. 1996. Ozone for control of post-harvest decay of table grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. *Physiol Mol Plant Pathol* 48: 403–415.
- Sanz C, Perez AG, Olias R, Olias JM. 1999. Quality of strawberries packed with perforated polypropylene. *J Food Sci* 64(4): 748-752.
- Seeram NP, Momin RA, Bourquin LD, Nair MG. 2001. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries. *Phytomedicine* 8: 362-369.
- Seeram NP, Adams LS, Hardy ML, Heber D. 2004. Total cranberry extract versus its phytochemical constituents: Antiproliferative and synergistic effects against human tumour cell lines. *J Agric Food Chem* 52: 2512-2517.

Seeram NP, Lee R, Scheuller HS, Heber D. 2006. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chem* 97: 1–11.

Shafiee M, Taghavi TS, Babalar M. 2010. Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid, and calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry. *Sci Hort* 124: 40–45.

Shakirova FM., Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fatkhutdinova RA, Fatkhutdinova DR, 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci* 164: 317-322.

Sharma YK, Leon J, Raskin I, Davis KR. 1996. Ozone-induced responses in *Arabidopsis thaliana*: the role of salicylic acid in the accumulation of defense related transcripts and induced resistance. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 93: 5099–5104.

Shaw DV, Larson KD. 2006. Performance of three day-neutral strawberry selections at the Watsonville Strawberry Research Facility in 2004 and 2005. The Pink Sheet: California Strawberry Commission strawberry news bulletin.

Shirasu K, Nakajima A, Rajshekar K, Dixon RA, Lamb C. 1997. Salicylic Acid Potentiates an Agonist-dependent Gain Control That Amplifies Pathogen Signal in the Activation of Defense Mechanism. *Plant Cell* 9: 261–270.

Simirgiotis MJ, Theoduloz C, Caligari PDS, Schmeda-Hirschmann G. 2009. Comparison of phenolic composition and antioxidant properties of two native Chilean and one domestic strawberry genotypes. *Food Chem* 113: 377–385.

Simon JA. 1992. Vitamin C and cardiovascular disease. *J Amer Coll Nutr* 11: 107-125.

Skog LJ, and Chu CL. 2001. Effect of ozone on qualities of fruits and vegetables in cold storage. *Can J Plant Sci* 81: 773–778.

Slawson RM, Trevors JT, Lee H. 1992. Silver accumulation and resistance in *Pseudomonas stutzeri*. *Arch Microbiol* 158: 398-404.

Smilanick JL, Crisosto C, Mlikota F. 1999. Postharvest Use of Ozone on Fresh Fruit. *Perishables Handling Quarterly Issue* 99: 10-14.

Smirnoff N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann Bot* 78: 661-669.

Sondi I, Salopek-Sondi B. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci* 275: 177-182.

Spadaro JA, Berger TJ, Barranco SD, Chapin SE, Becker RO. 1974. Antibacterial effects of silver electrodes weak direct current. *Antimicrob Agents Chemother* 6: 637-642.

Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. 2002. Metal oxide nanoparticles as Bactericidal Agents. *Langmuir* 18: 6679-6686.

Štolfa I. 2010. Utjecaj biostimulatora i reducirane gnojidbe na kvalitetu ploda jagoda i zaštitu okoliša. Doktorska disertacija, Osijek: 153.str.

Taiz L, Zeiger E. 2002. Plant Physiology. Third Edition, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA: 306 pp.

Tanaka K, Hashimoto T, Tokumara S, Iguchi H, Kojo S. 1997. Interactions between Vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. *J Nutr* 127: 2060-2064.

Tavarini S, Degl'Innocenti E, Remorini D, Massai R, Guidi L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chem* 107: 282–288.

Tsao R, Yang R, Sockovie E, Zhou T. 2003. Antioxidant Phytochemicals in Cultivated and Wild Canadian Strawberries. *Acta Hort* 626:25-35.

Tulipani S, Mezzetti B, Capocasa F, Bompadre S, Beekwilder J, Ric de Vos C. H, Capanoglu E, Bovy A, and Battino M. 2008. Antioxidants, Phenolic Compounds, and Nutritional Quality of Different Strawberry Genotypes. *J Agric Food Chem* 56(3): 696-704.

Vicente AR, Martínez GA, Chaves AR, Civello PM. 2006. Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage. *Postharvest Biol Technol* 40: 116–122.

Volčević B. 2008. Jagodičasto voće. Bjelovar: 193 str.

Wang H, Cao G, Prior RL. 1996. Total Antioxidant Capacity of Fruits. *J Agric Food Chem* 44: 701-705.

Wang H, Cao G, Prior RL. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J Agric Food Chem* 45: 304-309.

Wang SY, Lin HS. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J Agr Food Chem* 48: 140-146.

Wang SY, Zheng W. 2001. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *J Agric Food Chem* 49: 4977-4982.

Wang SY, Feng R, Lu Y, Bowman L, Ding M. 2005. Inhibitory effect on activator protein-I, nuclear factor-kappa B, and cell transformation by extracts of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *J Agr Food Chem* 53: 4187-4193.

Wang L, Chen S, Kong W, Li S, Archbold D.D. 2006. Salicylic acid pre treatment alleviates chilling injury and affects the anti oxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biol Technol* 41: 244–251.

Wang SY, Lewers KS, Bowman L, Ding M. 2007. Antioxidant Activities and Anticancer Cell Proliferation Properties of Wild Strawberries. *J Amer Soc Hort Sci* 132(5): 647-658.

Waterhouse AL, Walzem RL. 1998. Nutrition of grape phenolics. In: Rice-Evans CA, Packer L. *Flavonoids in health and disease*. Marcel Dekker, New York: 359-385 pp.

- White GC. 1992. Ozone. 2002. Pp. 1046-110 in: Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants. Third Edition. Van Nostrand Reinhold, New York Wresburger, J.H. Lifestyle, health and disease prevention: the underlying mechanism. *Eur J Cancer Prev* 2: 1-7.
- Wills RBH, Ku VVV, Leshem YY. 2000. Fumigation with nitric oxide to extend the postharvest life of strawberries. *Postharvest Biol Technol* 18: 75–79.
- Wisniewska H, Chelcowski J. 1999. Influence of exogenic salicylic acid on *Fusarium* seedling blight reduction in barley. *Acta Physiol Plant* 21(1): 63–66.
- Yalpani N, Enyedi AJ, León J, Raskin I, 1994. Ultraviolet light and ozone stimulate accumulation of salicylic acid, pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco, *Planta* 193: 372-376.
- Yao H, Tian S. 2005. Effects of pre- and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. *Postharvest Biol Technol* 35: 253–262.
- Yordanova R, Popova L. 2007. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants. *Gen Appl Plant Physiol* 33(3-4): 155-170.
- Yusuf M, Hasan SA, Ali B, Hayat S, Fariduddin Q, Ahmad A. 2008. Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. *J Int Plant Biol* 50 (8): 1–4.
- Zhang Y, Seeram NP, Lee R, Feng L, and Heber D. 2008. Isolation and Identification of Strawberry Phenolics with Antioxidant and Human Cancer Cell Antiproliferative Properties. *J Agric Food Chem* 56: 670–675.

WEB 1 <http://myfolia.com> (17.10.2012.)

WEB 2 www.inra.fr/hyppz/DESSINS/8039045.gif (17.10.2012.)

WEB 3 <http://sunnysidelocal.com/berries/strawberry-plants> (15.10.2012.)

WEB 4 http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m74300.html (18.10.2012.)

WEB 5 http://www.wikipremed.com/image.php?img=030206_68zzzz225950_Kolbe-Schmitt_68.jpg&image_id=225950 (18.10.2012.)

WEB 6 <http://www.kii.ntf.uni-lj.si/analchemvoc/slo/spektra/kinetics2.htm> (18.10.2012.)

WEB 7 <http://themedicalbiochemistrypage.org/vitamins.php> (18.10.2012.)

WEB 8 http://www.micro-ox.com/chem_antho.htm (19.10.2012.)