

# Antioksidacijska svojstva začinskog bilja

---

**Crnjac, Anita**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:995032>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-14**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**ANTIOKSIDACIJSKA SVOJSTVA ZAČINSKOG BILJA**

**DIPLOMSKI RAD**

**ANITA CRNJAC**

**Matični broj: 11**

**Split, listopad 2020.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**DIPOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE**

**ANTIOKSIDACIJSKA SVOJSTVA ZAČINSKOG BILJA**

**DIPLOMSKI RAD**

**ANITA CRNJAC**

**Matični broj: 11**

**Split, listopad 2020.**

**UNIVERSITY OF SPLIT  
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY  
GRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY**

**ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SPICES**

**DIPLOMA THESIS**

**ANITA CRNJAC**

**Parent number: 11**

**Split, October 2020.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu  
Diplomski studij Prehrambene tehnologije

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Tema rada:** je prihvaćena na 28. Sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

**Mentor:** doc. dr. sc. Danijela Skroza

### ANTIOKSIDACIJSKA SVOJSTVA ZAČINSKOG BILJA

Anita Crnjac, 11

#### Sažetak:

Pod utjecajem različitih čimbenika u organizmu se stvaraju štetni slobodni radikali, koji predstavljaju stalnu prijetnju ljudskom organizmu. Kako bi se obranio od istih organizam u normalnom fiziološkom stanju proizvodi antioksidanse, molekule sposobne da spriječe oksidaciju drugih molekula. Brojnim istraživanjima pokazalo se da različite vrste začinskog bilja imaju značajna antioksidacijska svojstva u borbi protiv slobodnih radikala i pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Za određivanje antioksidacijske sposobnosti nekog uzorka koriste se različite metode zasnovane na različitim mehanizmima djelovanja na određenu vrstu slobodnih radikala. U cilju određivanja antioksidacijskog kapaciteta uzoraka u ovom radu su korištene ORAC (engl. *Oxygen Radical Absorbance Capacity*), DPPH (engl. *2,2-diphenyl-1-picryl-hidrazyl-hydrate*) i FRAP (engl. *Ferric Reducing Antioxidant Power*) metode. Analizirani su ekstrakti češnjaka, peršina, limuna, celera, selena, komorača, papra crnog, papra zelenog, kurkume, nusproizvoda kurkume, luka žutog te luka ljubičastog. Najslabiju antioksidacijsku aktivnost ORAC metodom pokazao je ekstrakt komorača, DPPH metodom ekstrakt celera, dok je kod FRAP metode najmanju aktivnost pokazao češnjak. Ostali dobiveni rezultati ukazuju na dobra antioksidacijska svojstva nekoliko začinskih biljaka od kojih se posebno ističe crni papar koji je pokazao znatno najbolju aktivnost korištenjem svih metoda.

**Ključne riječi:** začinsko bilje, antioksidacijska aktivnost, ORAC, FRAP, DPPH

**Rad sadrži:** 41 stranica, 22 slike, 6 tablica, 63 literaturne reference

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek, član-predsjednik
2. Doc. dr. sc. Miće Jakić, član
3. Doc. dr. sc. Danijela Skroza, mentor

**Datum obrane:** 13. listopada 2020. god

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen** u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 33

## BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology Split**  
**Food Technology**

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Thesis subject:** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session No. 28

**Mentor:** Ph. D. Danijela Skroza, Assistant Professor

### ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SPICES

Anita Crnjac, 11

**Abstract:**

Free radicals are created under the influence of various factors in the body and they represent a permanent danger to the human organism. To protect themselves from radicals, the organism in the normal physiological state produces antioxidants, molecules capable of inhibiting the oxidation of other molecules. Numerous studies have shown that different types of spices have significant antioxidant properties in the fight against free radicals and positive effects on human health. For determination of the antioxidant capacity of the samples, various antioxidant methods, based on different mechanisms of action on a particular type of free radicals, are used. To determine the antioxidant capacity of the samples in this paper, ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate), and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) methods were used. Extracts of garlic, parsley, lemon, celery, selenium, fennel, black pepper, green pepper, turmeric, turmeric by-products, yellow onion, and purple onion were analyzed. The weakest antioxidant activity was shown by fennel extract by the ORAC method, the celery extract by the DPPH method, while the FRAP method showed the lowest activity by garlic. Other obtained results indicate good antioxidant properties of several spice plants, of which black pepper stands out, which showed the best activity using all methods.

**Key words:** spices, antioxidant activity, ORAC, FRAP, DPPH

**Thesis contains:** 41 pages, 22 figures, 6 tables, 63 references

**Original in:** Croatian

**Defence committee:**

1. Ph. D. Mario Nikola Mužek, Assistant Professor
2. Ph.D. Miće Jakić, Assistant Professor
3. Ph. D. Danijela Skroza, Assistant Professor

**Defence date:** 13<sup>th</sup> October 2020.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 33.**

*Diplomski rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Danijele Skroze, u razdoblju od veljače do rujna 2020. godine.*



## ZAHVALA

*Od srca se zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Danijeli Skroza na ukazanom povjerenju, trudu i pruženoj pomoći tijekom izrade ovog rada, ali i za svu potporu tokom studija.*

*Također se zahvaljujem svim svojim prijateljima koji su uvijek bili uz mene i bez kojih studiranje ne bi bilo ispunjeno tolikom srećom.*

*I na kraju, najveću zahvalnost dugujem svojoj obitelji, posebno roditeljima, na velikom razumijevanju i bezuvjetnoj podršci koju su mi ukazali tokom proteklih pet godina.*

## **ZADATAK ZAVRŠNOG RADA**

- Ispitati antioksidacijsku aktivnost odabranog začinskog bilja korištenjem ORAC, DPPH i FRAP metode.
- Analizirati dobivene rezultate te donijeti zaključke o antioksidacijskoj aktivnosti ispitivanih ekstrakata začinskog bilja.

## SAŽETAK

Pod utjecajem različitih čimbenika u organizmu se stvaraju štetni slobodni radikali, koji predstavljaju stalnu prijetnju ljudskom organizmu. Kako bi se obranio od istih organizam u normalnom fiziološkom stanju proizvodi antioksidanse, molekule sposobne da spriječe oksidaciju drugih molekula. Brojnim istraživanjima pokazalo se da različite vrste začinskog bilja imaju značajna antioksidacijska svojstva u borbi protiv slobodnih radikala i pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Za određivanje antioksidacijske sposobnosti nekog uzorka koriste se različite metode zasnovane na različitim mehanizmima djelovanja na određenu vrstu slobodnih radikala. U cilju određivanja antioksidacijskog kapaciteta uzoraka u ovom radu su korištene ORAC (engl. *Oxygen Radical Absorbance Capacity*), DPPH (engl. *2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate*) i FRAP (engl. *Ferric Reducing Antioxidant Power*) metode. Analizirani su ekstrakti češnjaka, peršina, limuna, celera, selena, komorača, papra crnog, papra zelenog, kurkume, nusproizvoda kurkume, luka žutog te luka ljubičastog. Najslabiju antioksidacijsku aktivnost ORAC metodom pokazao je ekstrakt komorača, DPPH metodom ekstrakt celera, dok je kod FRAP metode najmanju aktivnost pokazao češnjak. Ostali dobiveni rezultati ukazuju na dobra antioksidacijska svojstva nekoliko začinskih biljaka od kojih se posebno ističe crni papar koji je pokazao znatno najbolju aktivnost korištenjem svih metoda.

**Ključne riječi:** začinsko bilje, antioksidacijska aktivnost, ORAC, FRAP, DPPH

## **SUMMARY:**

Free radicals are created under the influence of various factors in the body and they represent a permanent danger to the human organism. To protect themselves from radicals, the organism in the normal physiological state produces antioxidants, molecules capable of inhibiting the oxidation of other molecules. Numerous studies have shown that different types of spices have significant antioxidant properties in the fight against free radicals and positive effects on human health. For determination of the antioxidant capacity of the samples, various antioxidant methods, based on different mechanisms of action on a particular type of free radicals, are used. To determine the antioxidant capacity of the samples in this paper, ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate), and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) methods were used. Extracts of garlic, parsley, lemon, celery, selenium, fennel, black pepper, green pepper, turmeric, turmeric by-products, yellow onion, and purple onion were analyzed. The weakest antioxidant activity was shown by fennel extract by the ORAC method, the celery extract by the DPPH method, while the FRAP method showed the lowest activity by garlic. Other obtained results indicate good antioxidant properties of several spice plants, of which black pepper stands out, which showed the best activity using all methods.

**Key words:** spices, antioxidant activity, ORAC, FRAP, DPPH

# SADRŽAJ

<b>UVOD</b> .....	1
<b>1. OPĆI DIO</b> .....	2
<b>1.1. ZAČINSKO BILJE</b> .....	2
1.1.1. Češnjak ( <i>Allium sativum</i> L.) .....	2
1.1.2. Peršin ( <i>Petroselinum crispum</i> Mill.).....	2
1.1.3. Limun ( <i>Citrus limon</i> L.).....	3
1.1.4. Celer ( <i>Apium graveolens</i> L.).....	4
1.1.5. Selen ( <i>Levisticum officinale</i> Koch.).....	4
1.1.6. Komorač ( <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.).....	5
1.1.7. Papar ( <i>Piper nigrum</i> L.).....	6
1.1.8. Kurkuma ( <i>Curcuma longa</i> L.) .....	7
1.1.9. Luk ( <i>Allium cepa</i> L.).....	8
<b>1.2. KEMIJSKI PROFIL ZAČINSKOG BILJA</b> .....	9
1.2.1. Kemijski profil češnjaka .....	9
1.2.2. Kemijski profil peršina .....	10
1.2.3. Kemijski profil limuna.....	10
1.2.4. Kemijski profil celera .....	11
1.2.5. Kemijski profil selena .....	11
1.2.6. Kemijski profil komorača .....	12
1.2.7. Kemijski profil papra .....	14
1.2.8. Kemijski profil kurkume.....	15
1.2.9. Kemijski profil luka .....	16
<b>1.3. BIOLOŠKA AKTIVNOST ZAČINSKOG BILJA</b> .....	16
1.3.1. Biološka aktivnost češnjaka.....	17
1.3.2. Biološka aktivnost peršina .....	18
1.3.3. Biološka aktivnost limuna .....	19
1.3.4. Biološka aktivnost celera .....	20
1.3.5. Biološka aktivnost selena.....	21
1.3.6. Biološka aktivnost komorača.....	21
1.3.7. Biološka aktivnost papra.....	22
1.3.8. Biološka aktivnost kurkume .....	23
1.3.9. Biološka aktivnost luka.....	24

<b>2. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	25
<b>2.1. BILJNI EKSTRAKTI</b> .....	25
<b>2.2. UREĐAJI I KEMIČALIJE</b> .....	25
<b>2.3. METODE ODREĐIVANJA ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI</b> .....	26
2.3.1. ORAC metoda.....	26
2.3.2. DPPH metoda .....	27
2.3.3. FRAP metoda.....	28
<b>3. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	29
3.1. Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti ORAC metodom.....	30
3.2. Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom.....	32
3.3. Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti FRAP metodom.....	33
<b>4. ZAKLJUČCI</b> .....	35
<b>5. LITERATURA</b> .....	36

## UVOD

U posljednja dva desetljeća zbog sve većeg zanimanja potrošača o učincima prirodnih sastojaka iz hrane te odnosa antioksidansa prema slobodnim radikalima u ljudskom tijelu, znatno je porasla potražnja za prirodnim antioksidansima. Ovi prirodni spojevi imaju značajnu ulogu u borbi protiv kroničnih bolesti i sve češće se nalaze u fokusu brojnih znanstvenih istraživanja.

Biljke i začini su jedni od važnih izvora prirodnih antioksidansa, osobito eteričnih ulja i fenolnih spojeva. Već tisućama godina dodaju se različitim vrstama hrane kao sredstva za aromatiziranje, začinjavanje, bojanje i konzerviranje. S druge strane, osim već spomenute antioksidacijske aktivnosti, velik broj začina posjeduje još neke blagotvorne učinke na zdravlje kao što je protuupalno djelovanje, antimikrobno, antikancerogeno djelovanje i dr.

Kako bi se odredila sposobnost nekog uzorka u borbi protiv slobodnih radikala koriste se brojne antioksidacijske metode. Svaku od tih metoda karakterizira određeni mehanizam djelovanja, a dobro poznate i vrlo često korištene metode su: ORAC (engl. *Oxygen Radical Absorbance Capacity*), DPPH (engl. *2,2-diphenyl-1-picryl-hidrazyl-hydrate*) i FRAP (engl. *Ferric Reducing Antioxidant power*) metoda.

U ovom radu je ORAC, FRAP i DPPH metodama određen antioksidacijski kapacitet ekstrakata začinskog bilja, točnije češnjaka, peršina, limuna, celera, selena, komorača, papra, kurkume i luka.

# 1. OPĆI DIO

## 1.1. ZAČINSKO BILJE

### 1.1.1. Češnjak (*Allium sativum* L.)

*Allium sativum*, poznat kao češnjak, važna je višegodišnja biljka koja pripada porodici Alliaceae. Kao član porodice lukovki jedna je od najsvestranijih ljekovitih biljaka u prirodi. Naziv „*Allium sativum*“ potječe od keltske riječi „sve“ što znači spaljivanje ili onaj koji žeže, a latinsko „*sativum*“ znači saditi ili uzgajati. Engleska riječ, češnjak, potječe od anglosaksonske „*garleac*“ odnosno biljka konoplja, a odnosi se na njezinu stabljiku. Prema američkom istraživanju Agencije za hranu i lijekove otkriveno je da je upravo češnjak drugi dodatak u prehrani koji se najviše koristi (1). Prisutan je u prehrani u brojnim oblicima, kao što su ekstrahirano ulje, tablete češnjaka u prahu ili potpuno sirovi češnjak. Drevna indijska i kineska medicina preporučuju ga u liječenju problema sa disanjem, probavom i raznih parazitskih bolesti (2). Češnjak se u Aziji, Europi i na Bliskom Istoku od davnina koristi kao tradicionalni dodatak prehrani za liječenje dijabetesa (1). Zbog njegovog širokog djelovanja i pomoći u održavanju ljudskog zdravlja, privukao je posebnu pozornost suvremene medicine (2).



*Slika 1. Češnjak (3)*

### 1.1.2. Peršin (*Petroselinum crispum* Mill.)

Dvogodišnja povrtna kultura, koja na skraćenoj stabljici na dugima stapkama već u prvoj godini vegetacije razvija rozetu perastog lišća naziva se peršin. Liske peršina, ovisno o sorti, mogu biti glatke ili kovrčave. Kad tijekom druge godine vegetacije prijeđe u generativnu fazu, razvije se granata cvjetna stabljika. Na vrhovima stabljike formiraju se štitasti cvatovi sastavljeni od velikog broja cvjetova koji su žuto zelene boje. Kako bi se spriječilo da lisne plojke peršina požute i kako bi se održao optimalan sadržaj eteričnog



ulja potrebno je osigurati dostatne količine svjetla. Također je tijekom nicanja nužno održavati dovoljnu količinu vode. Dva najpoznatija i najčešća tipa peršina su: peršin korjenaš (*Petroselinum crispum* var. *tuberosum*) koji se koristi zbog zadebljalog korijena te peršin listaš (*Petroselinum crispum* var. *crispum* – peršin kovrčavih liski, *Petroselinum crispum* var. *neapolitanum* – peršin glatkih liski) koji se koristi za uzgoj listova. Peršin glatkih liski traženiji je za uporabu u svježem stanju, dok peršin kovrčavih liski ima povoljniji omjer liski prema peteljka (više od 50%) te je stoga traženiji za preradu, osobito za sušenje (4).



*Slika 2.* Peršin (5)

### **1.1.3. Limun (*Citrus limon* L.)**

Limun je važna ljekovita biljka koja pripada obitelji Rutaceae. Vrlo je tražen plod budući da ima višestruku primjenu, može se koristiti u svježem stanju, za proizvodnju sokova, za ukrašavanje jela, u pripremi različitih kulinarskih proizvoda, te kao konzervans za održavanje stabilnosti hrane. Često ga se može naći i kao sastavni dio sredstava za čišćenje i sredstava za njegu kose i kože (6). Prehrambeni sastojak dobiven struganjem ili rezanjem vanjske kože limuna ili naranče najčešće se koristi kao aromatsko sredstvo u pecivima, pudinzima, slatkišima, čokoladama, tortama, kolačima i u kiselim začinima (7). Glavna upotreba agruma poput limuna u prehrambenoj industriji uključuje proizvodnju svježih sokova ili pića na bazi citrusa. Velika količina kore koja zaostaje u preradi citrusa potencijalno predstavlja bogat izvor prirodnih fenola. Postoje brojni spojevi (npr. flavanoni, flavanonski glikozidi i polimetoksilirani flavoni) jedinstveni za agrume koji su relativno rijetki u drugim biljkama. Ostaci citrusa zanimljiv su izvor prirodnih antioksidansa i ovakva vrsta dodataka s antioksidacijskim svojstvima potrebna je za očuvanje okusa i boje, kao i za izbjegavanje uništavanja vitamina (8).



*Slika 3.* Stablo limuna (9)

#### **1.1.4. Celer (*Apium graveolens* L.)**

Celer (*Apium graveolens* L.) je biljka iz porodice Apiaceae i jedna je od jednogodišnjih ili višegodišnjih biljaka koje rastu diljem Europe i tropskih i suptropskih regija Afrike i Azije. Za svoj rast zahtjeva visoku razinu vlage i nižu temperaturu, stoga se celer najviše kvalitete nalazi u hladnom i blagom okruženju. Dijelovi koji se koriste u ovoj biljci uključuju sjeme, lišće i esencijalna ulja (10).



*Slika 4.* Celer (11)

#### **1.1.5. Selen (*Levisticum officinale* Koch.)**

Selen je višegodišnja zeljasta biljka iz porodice Apiaceae. Još neki karakteristični nazivi po kojima je poznat su: ljupčac, miloduh, luštrek i lustik. Ima karakterističan okus i miris, vrlo sličan celeru.

Zbog svoje aromatičnosti i jakog okusa već dugi niz godina koristi se u kulinarstvu, tradicionalnoj medicini i prehrambenoj industriji. S obzirom da daje ugodan i intenzivan miris, nezamjenjiv je začin u brojnim jelima, posebno juhama. Esencijalna ulja iz lišća, sjemena i korijenja selena koriste se u industriji parfema i industriji duhana (12). Selen se najviše prostire na područjima Europe, Irana i Afganistana (13). Poznat je po brojnim ljekovitim svojstvima, no unatoč zanimanju i važnosti, osim sastava njegovih hlapljivih sastojaka, postoji jako malo podataka o ovoj biljnoj vrsti (12).



*Slika 5.* Selen (14)

#### **1.1.6. Komorač (*Foeniculum vulgare* Mill.)**

*Foeniculum vulgare* Mill. odnosno komorač, dvogodišnja je ljekovita biljka koja pripada obitelji Apiaceae (Umbelliferae). Na Sredozemlju, odakle potječe, i danas je pripadnik spontane lokalne flore. Uzgaja se u svim toplijim krajevima svijeta, stoga ga se najviše pronalazi u srednjoj i južnoj Europi, Južnoj Americi (Argentina i Brazil) i Aziji (Kina, Indija, Japan). Na našim prostorima često nosi nazive: koromač, kopar, slatki kopar, janež, morač, divlja mirodija i slatki anis. Jedna je od najstarijih poznatih aromatičnih i ljekovitih biljaka te su je stoga još od davnina upotrebljavali Rimljani, Grci i Egipćani kao narodni lijek. Zbog svoje visoke hranidbene i zdravstvene vrijednosti zabilježena je stoljetna tradicija upotrebe komorača u kulinarstvu. Lisni rukavci i mlado lišće koriste se kao salata, a često se njegovi dijelovi, svježi ili sušeni, dodaju u umake, juhe ili omlete. Budući da se smatra da djeluje na topljenje trbušnog masnog tkiva, listovi, korijenje i sjemenke komorača važan su dodatak brojnim prehrambenim pripravcima (15). Eterično ulje komorača koristi se kao sredstvo za aromatiziranje u proizvodima poput kruha, kiselih krastavaca, peciva, sireva i različitih pića. Biljka se također koristi kao sastojak kozmetičkih i farmaceutskih proizvoda te za rastjerivanje kukaca (16).



*Slika 6.* Komorač (17)

#### **1.1.7. Papar (*Piper nigrum* L.)**

Crni papar proizvod je zrelih plodova *Piper nigrum* L., višegodišnjeg drveća zimzelenih penjačica, podrijetlom iz zimzelenih šuma zapadnih Gata u Južnoj Indiji. Pored soli, najvažniji je, najcjenjeniji i najrašireniji začin na svijetu. Koristi se kao vrlo važna komponenta u mnogim receptima, a prvenstveno služi za aromatiziranje i konzerviranje prerađene hrane. Crni papar prvi je orijentalni začin uveden u zapadni svijet, a bio je i dobro poznat među Grcima i Rimljanima. U srednjem vijeku poprimio je veliku važnost u Europi, a njegova upotreba rezultirala je revolucionarnim promjenama u zapadnom kuhanju (18).



*Slika 7.* Crni papar (19,20)

Od njegovih bobica proizvodi se nekoliko vrsta papra: crni papar, bijeli papar, zeleni papar i „Tellicherry“ papar. Drugi važni komercijalni proizvodi dobiveni od papra su eterično ulje crnog papra, kolači i krekeri, čaj (lišće papra u kombinaciji s lišćem čaja), parfemi napravljeni od osušenih dijelova biljke papra, slatkiši i bomboni koji sadrže ulje papra te konzervirane kobasice (21).

Kvaliteta crnog papra jednako je važna kao i prinos i ovisi o sadržaju piperina i esencijalnog ulja (18).

### 1.1.8. Kurkuma (*Curcuma longa* L.)

Višegodišnja, zeljasta zimzelena biljka, porijeklom iz Jugozapadne Indije, koja pripada porodici Zingiberaceae naziva se kurkuma, To je biljka koja ne daje sjeme, a njezina podzemna mesnata stabljika, rizom, izvor je komercijalno dostupnih začina kurkume sa značajnim ljekovitim svojstvima. Kako bi se dobio začin intenzivne žute do narančaste boje aromatičnog okusa, rizomi se kuhaju, a zatim suše i melju. Sušena kurkuma ima blag miris koji podsjeća na đumbir i naranču, a okus joj je gorak i ljut. U povijesti se koristila za bojanje tkanina, a danas najčešću primjenu ima kao sredstvo za bojanje prerađene hrane i umaka te kao konzervans. Kao začin koristi se i za pripravu indijske mješavine začina po imenu *curry*. (22,23).



**Slika 8.** Kurkuma (24)



**Slika 9.** Rizom kurkume (25)

### 1.1.9. Luk (*Allium cepa* L.)

Luk potječe iz središnje Azije i pripada rodu *Allium* u obitelji Alliaceae. Najstarije je kultivirano povrće koje se naširoko koristi u cijelom svijetu, i to ne samo u kulinarske svrhe. Uzgaja se preko 5000 godina, a po području Europe raširili su ga Rimljani i Grci (26). Danas je jedno od glavnih povrćarskih usjeva uzgajanih u Europi, a površina usjeva i dalje eksponencijalno raste (27). Luk se uzgaja zbog lukovice koju karakterizira okruglast, spljošten ili ovalno izdužen oblik. Lukovicu čine stabljika, zadebljani listovi i centralni pup, a izvana je obavijena s nekoliko suhih listova koji mogu biti različitih boja. Vanjski pokrov štiti ga od isušivanja i oštećenja. Žiličasti korijen luka razvija se plitko u tlo. Za uzgoj mu pogoduju umjereno vlažna područja, a zbog dobre podnošljivosti niskih temperatura može se uzgajati i jesenskom sadnjom. Osnovni je dio ljudske prehrane zbog svoje velike prehranbene vrijednosti sa značajnim sadržajem masti, bjelančevina, vitamina i ugljikohidrata. Zahvaljujući prisustvu eteričnih ulja poznat je po svojoj jakoj aromi, koja ga je u brojnim jelima i prehrambenim prerađevinama učinila poželjnim za poboljšanje njihova okusa. Često se konzumira u svježem stanju kao salata, a prerađuje se sušenjem (28). Boja crvenog luka prvenstveno je posljedica antocijana koji su prisutni u epidermalnim stanicama ljuske luka, a njihov glavni antocijanidni pigment je cijanidinski 3-glukozid (26).



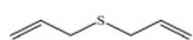
*Slika 10.* Luk (29)

## 1.2. KEMIJSKI PROFIL ZAČINSKOG BILJA

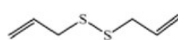
### 1.2.1. Kemijski profil češnjaka

Češnjak sadrži 65% vode, 28% ugljikohidrata, 2,3% organo-sumpornog spoja, 2% proteina, 1,2% slobodnih aminokiselina (uglavnom arginin), 1,5% vlakana, 0,15% lipida, 0,008% fitinske kiseline i 0,07% saponina. U kemijski sastav ulaze i magnezij, selenij, germanij, vitamini A i C te cink. Također je važno napomenuti i prisustvo hlapljivih ulja od kojih je oko 0,5 % sačinjeno od spojeva koji sadrže sumpor (1).

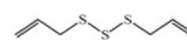
Glavne aktivne komponente češnjaka njegovi su organo sumporni spojevi poput dialil tiosulfonata (alicin), dialil sulfida (DAS), dialil disulfida (DADS), dialil trisulfida (DATS), zatim E/Z-ajoen, S-alil-cistein (SAC) i S-alil-cistein sulfoksid (alilin) (30). Vrlo važan spoj češnjaka je aliin. To je kemikalija koja sadrži bezmirisni sumpor, a dobiva se iz aminokiseline cistein. Kad se lukovice češnjaka zgnječe, aliin se pretvara u alicin koji se dalje razgrađuje do spoja zvanog ajoen. Taj spoj potencijalno inhibira začepljenje krvnih žila od ugrušaka i aterosklerozi. Aminokiselina alicin češnjaku daje jak miris i glavni je spoj odgovoran za snažna farmakološka svojstva biljke (1).



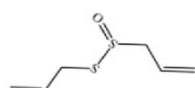
Dialil sulfid (DAS)



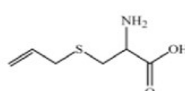
Dialil disulfid (DADS)



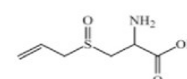
Dialil trisulfid (DATS)



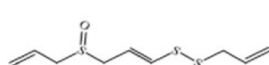
Alicin



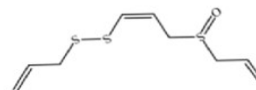
S-alil cistein



Aliin



E-ajoen



Z-ajoen

**Slika 11.** Kemijske strukture glavnih organo sumpornih spojeva u češnjaku (31)

Istraživan je utjecaj različitih metoda prerade na bioaktivne komponente češnjaka. Studijima je utvrđeno da se ukupno 38 sastojaka promijenilo nakon termičke obrade crnog češnjaka. Pored toga, dolazi do degradacije polisaharida, a sadržaj reducirajućih šećera se tijekom obrade smanjuje. Također, povećanjem temperature i smanjenjem vlažnosti povećava se sadržaj polifenola i ukupnih flavonoida (26).

### 1.2.2. Kemijski profil peršina

Zbog svojih posebnih svojstava peršin je kao začinska i ljekovita biljka upotrebljavan još od rimskih vremena. Njegova najveća vrijednost je iznimno bogatstvo fitonutrijentima koji imaju funkcionalnu vrijednost za ljudski organizam i stoga djeluju kao zaštitni mehanizam protiv bolesti. Najčešće prisutni fitonutrijenti u peršinu su polifenoli (flavonoidi, flavanoli, flavoni, fenoli), terpenoidi, karotenoidi, itd. U korijenu peršina u najvećem postotku zastupljeni su saharoza (5,5%) i bjelančevine (3%). Od minerala prevladavaju kalij (541 mg/100 g), kalcij (16 - 50 mg/100 g), magnezij (32 mg/100 g) i fosfor (24 - 47 mg/100 g). Lišće je bogato eteričnim uljima ( $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -mircen,  $\beta$ -felandren,  $\beta$ -pinen) koja peršin čine aromatičnim biljem. Također su u lišću zastupljeni vitamin E i  $\beta$ -karoten. Jednako kao u korijenu i u listu se mogu naći značajne količine minerala od kojih su najzastupljeniji kalij (923-1080 mg/100g), kalcij (165-325 mg/100g) te magnezij (30-52 mg/100g) (4).

### 1.2.3. Kemijski profil limuna

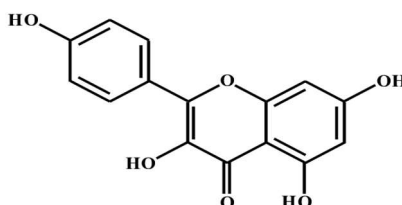
Limunov sok ima nekoliko važnih kemijskih komponenti sa terapijskim svojstvima, a najvažnija od svih je limunska kiselina. Na nju otpada 5% od ukupnih sastojaka i odgovorna je za kiseli okus limuna. Klasificira se kao slaba organska kiselina koja se prirodno formira u mnogim plodovima. Limunov sok također sadrži visoke koncentracije polifenola, uključujući rutin, hesperidin, flavonoide, tanine, kumarine, kvercitrin, eriocitrin, narirutin, naringin, neohesperidin, klorogensku kiselinu, luteolin, kempferol, monoterpeni hidrokarbon,  $\gamma$ -terpinen,  $\beta$ -pinen, sabinen,  $\alpha$ -pinen i mircen. U soku se pronalaze i mikronutrijenti poput magnezija, kalija, folne kiseline, limonoida, isparljivih ulja, karotenoida i glikozida (6).

Limunova korica sastoji se od dva sloja, a najudaljeniji sloj sadrži esencijalna ulja koja su sastavljena većinom od limonena (90%) i citralina (5%) te malih količina citronelola,  $\alpha$ -terpineola, linalil i geranil acetata zajedno s vitaminima B kompleksa (7).

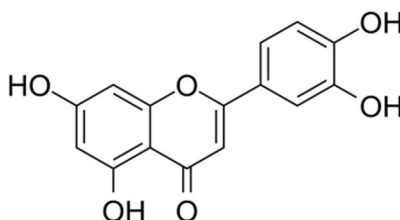


#### 1.2.4. Kemijski profil celera

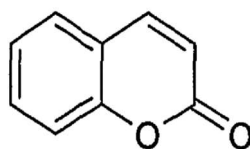
Među najvažnijim spojevima celera ističu se ugljikohidrati i fenoli poput flavonoida, alkaloida i steroida. Prisutnost spojeva poput limonena, selinena, flavonoida i vitamina A i C razlog su zašto je celer najraširenija korištena biljka u tradicionalnoj medicini. Jedni od glavnih sastojaka celera su kempferol, luteolin i kumarin (slike 12-14) (10).



*Slika 12.* Kemijska struktura kempferola (32)



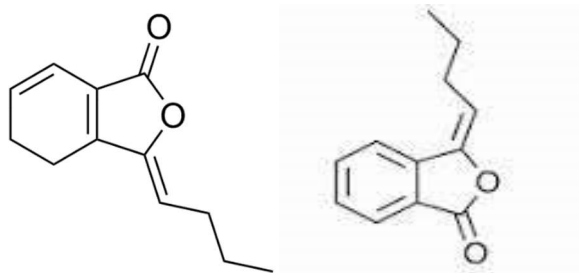
*Slika 13.* Kemijska struktura luteolina (33)



*Slika 14.* Kemijska struktura kumarina (34)

#### 1.2.5. Kemijski profil selena

Jestivi dio selena pokazuje nisku kalorijsku vrijednost zbog prisustva polinezasićenih masnih kiselina, uglavnom  $\alpha$ -linolenske i oksalne kiseline. Vrlo važan sastojak selena je  $\alpha$ -tokoferol, odnosno vitamin E, koji je prisutan u velikim količinama. Eterično ulje korijena selena sadrži značajnu količinu zanimljivih i rijetkih spojeva, ftalida. Dva glavna ftalida su ligustilid i 3-butilidenftalid, kojih, ovisno o podrijetlu, može biti preko 70% u eteričnom ulju. Smatra se da su ftalidi glavni spojevi odgovorni za aromu selena (35). Također, eterično ulje sadrži veliku količinu monoterpena i fenolnih spojeva (12).



**Slika 15.** Kemijska struktura ligustilida i 3-butilidenfthalida

### 1.2.6. Kemijski profil komorača

U komoraču su identificirana 42 fenolna spoja, a kao glavna skupina u svim dijelovima biljke ističu se flavonoli i njihovi derivati (36). Fenolne komponente u ekstraktima ploda blagotvorno djeluju na ljudsko zdravlje i time sprječavaju razna oboljenja i njihov udio iznosi 1,4%. Osim flavonola, vrlo su značajni i derivati hidroksi cimetne i fenolne kiseline (15). Udio fenolnih spojeva u komoraču ovisi o agroekološkim uvjetima u kojima se biljka uzgaja te o dijelu biljke koji se promatra (korijen, stabljika, list, cvijet ili plod) (36).

Znanstvenici su otkrili da su sjemenke odličan izvor flavanola, kvercetina i fenolnih kiselina kao što su galna i kava kiselina. U listovima i plodovima biljke nalaze se derivati kempferola, kvercetina i rutina. U odnosu na listove, cvijet sadrži znatno veći udio aromatskih spojeva. Ekstrakti komorača sadrže značajne količine fitosterola od kojih su najznačajniji kampesterol, stigmasterol i  $\beta$ -sitosterol (36).

Izolacijom spojeva preko plinske kromatografije i masene spektrometrije u komoraču je također otkriven veliki broj flavonoida, a najvažniji su: ružmarinska kiselina, eridiktol-7-rutinozid, izorhamnetin, glukozid, kvercetin, izokvercetin, kvercetin-3-arabinozid, kvercetin-3-O-galaktozid, kvercetin-3-rutinozid, kvercetin-3-glukoronid, kempferol, kempferol-3-glukoronid, kempferol-3-O-rutinozid, kempferol-3-arabinozid, kamferol-3-glukozid, izoharmnetin i 3-O- $\alpha$ -ramnozid (15).

Sadržaj masnih kiselina u komoraču iznosi oko 20%, a najzastupljenije su petroselinjska (70 -80%), linolna (54,9%), palmitinska (5,4%) i oleinska kiselina (5,4%) (15). I prema sadržaju vitamina i minerala komorač spada u najvrijednije namirnice (15).

**Tablica 1.** Kemijski sastav komorača (15)

<b>Tvar</b>	<b>Udjel (%)</b>
Voda	81,9-90
Sirove bjelančevine	1,9-2,8
Sirove masti	0,2-0,4
Ugljikohidrati	5,11-11,2
Vlakna	0,5
Minerali	1,7

**Tablica 2.** Kemijski sastav korijena i sjemenke komorača (*Foeniculum vulgare* L.) (USDA) (36)

<b>Energetska vrijednost i hranjive tvari</b>	<b>Maseni udio (g/100g)</b>	
	<b>Korijen</b>	<b>Sjemenke</b>
Energetska vrijednost (Kcal)	31	345
Voda (g)	90,21	8,81
Proteini (g)	1,24	15,8
Masti (g)	0,2	14,87
Ugljikohidrati (g)	7,3	52,29
Minerali (g)	0,58	3,44
Vlakna (g)	3,1	39,8
Pepeo (g)	1,05	8,22

Provedena su mnoga ispitivanja kemijskog sastava eteričnog ulja i većina je pokazala da su glavne komponente derivati fenilpropanoide i monoterpeni (16). Eterično ulje također sadrži važne organske tvari: *trans*-anetol, fenhon, estragol i limonen. Zbog visokog sadržaja *trans*-anetola ulje se pri temperaturi između 5 i 10 °C pretvara u krutinu, a važno je naglasiti da je upravo ovaj spoj najodgovorniji za karakterističnu aromu komorača. Postotni udio ulja različito je raspoređen i najvećim dijelom je prisutan u plodovima (3-6 %), zatim u stabljici i listovima (1-1,5%), a najmanje u korijenu (0,6-0,7%). Povećanjem zrelosti biljke, sadržaj ulja se smanjuje (36).

### 1.2.7. Kemijski profil papra

Kvaliteti papra doprinose dvije komponente: piperin koji je zaslužan za oporost i hlapljivo ulje zaslužno za aromu i miris. Njegovom industrijskom preradom najčešće se proizvode tri proizvoda: oleoresin, piperin i ulje papra (18).

Ulje papra ekstrahira se parnom destilacijom mljevenog papra, a ostali proizvodi ekstrakcijom uz odgovarajuće otapalo. Oleoresin sadrži oboje, aromu koja potječe od ulja i oporost koju daje piperin te je stoga jedan od najvećih trgovačkih proizvoda papra. Budući da pridonosi aromi i povećava pikantnost, naširoko se koristi kao zamjena za papar u mnogim prerađenim namirnicama (18).

Alkaloid piperin najvažnija je oporna komponenta prisutna u papru. Pored njega, još pet manjih alkaloida koji posjeduju svojstvo oporosti identificirano je u ekstraktima papra. To su piperetin, piperanin, piperilin A, piperolein B i pipericin (18).

**Tablica 3.** Prosječan sastav papra (18)

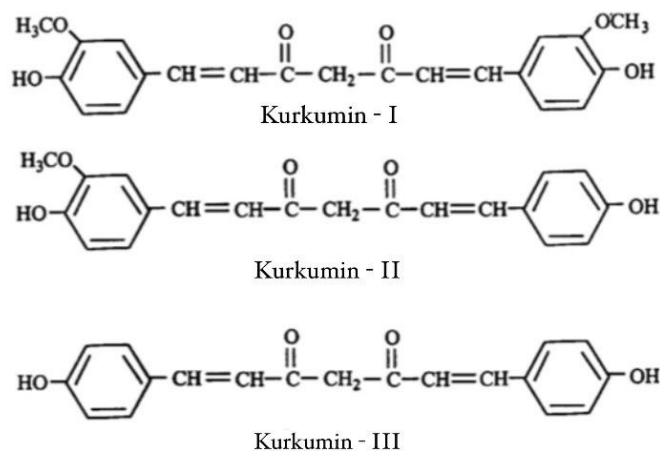
Sadržaj	% sastava
Vlaga	8,7-14,0
Ukupni dušik	1,5-2,6
Ekstrakt hlapljivog etera	0,3-4,2
Nehlapljivi ekstrakt	3,9-11,5
Ekstrakt alkohola	4,4-12,0
Škrob	28,0-49,0
Sirova vlakna	8,7-18,0
Piperin	1,7-7,4
Ukupni pepeo	3,6 – 5,7
Pepeo topiv u kiselini	0,03 – 0,55

Eterično ulje papra mješavina je velikog broja hlapivih kemijskih spojeva. Zabilježeno je čak više od 80 spojeva, a svi zajedno pridonose aromi. Znanstvenici su otkrili da su glavni spojevi esencijalnog ulja svježeg papra *trans*-linalol oksid i  $\alpha$ -terpineol. S druge strane, ulje suhog papra sadrži  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinene, *d*-limonen i  $\beta$ -kariofilen kao glavne spojeve.

Kada se ulje ekstrahira destilacijom, dolazi do značajne promjene u sastavu, a najviše se smanjuje sadržaj oksidiranih spojeva. Ta promjena objašnjava razliku u aromi i okusu svježeg i suhog papra (18).

### 1.2.8. Kemijski profil kurkume

Kao i kod drugog bilja tako i kod kurkume, njezin kvalitativni i kvantitativni sastav varira ovisno o mjestu i načinu uzgoja i sorti. Najveći dio identificiranih spojeva čine terpenoidi i fenolni spojevi. Od toga, seskviterpeni su zastupljeni sa najvećim udjelom, zatim monoterpeni, diarilheptanoidi (kurkuminoidi), fenilpropeni, diterpeni te triterpeni. Glavna aktivna komponenta kurkume je kurkumin (37,38). Kurkumin i derivati kurkumina, kurkuminoidi: demetoksi-kurkumin i bis-demetoksi-kurkumin glavni su pigmenti odgovorni za žutu boju kurkume (39,40).



**Slika 16.** Strukturne formule raznih kurkumina (41)

Od vitamina u kurkumi se nalaze vitamini C, B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12, E i K, a što se tiče minerala, kurkuma sadrži kalcij, željezo, magnezij, bakar, cink, fosfor, mangan i selen (42).

### 1.2.9. Kemijski profil luka

Prehrambeni sastav luka vrlo je složen. Pokazalo se da je jedan od glavnih izvora prehrambenih flavonoida prisutan kao aglikon ili konjugiran sa šećerom. Glavni flavonoid koji se nalazi u luku je kvercetin, prisutan kao kvercetin 4'-*O*- $\beta$ -glikopiranozid, kvercetin 3,4'-*O*- $\beta$ -diglikopiranozid, i kvercetin 3,7,4'-*O*- $\beta$ -triglikopiranozid (26). Štoviše, luk je bogat i drugim bioaktivnim spojevima kao što su fructooligosaharidi i sumporni spojevi (27).

Suha tvar luka sadrži ugljikohidrate (7,2%) i to najčešće u obliku polimernih lanaca fruktoze. Sadržaj bjelančevina i mineralnih tvari približno je jednak (1,2%) (28). Vanjski slojevi luka koji se uklanjaju prije prerade prilikom kuhanja, sadrže velike količine kvercetina, kvercetin glikozida i njihovih oksidacijskih proizvoda (26).

Nedavna istraživanja pokazala su da su tiolne ili SH skupine dobri inhibitori enzima polifenoloksidaze (PPO). Stoga se pretpostavlja da bi tiolni spojevi sadržani u luku mogli biti aktivne komponente odgovorne za PPO inhibitorni učinak. Ekstrakti luka mogli bi se koristiti kao prirodni sastojci hrane protiv posmeđivanja uzrokovana PPO-om (27).

## 1.3. BIOLOŠKA AKTIVNOST ZAČINSKOG BILJA

Stil života i prehrambene navike u današnjem svijetu dovele su do sve češće pojave oksidacijskog stresa (6). Danas je oksidacijski stres jedan od ozbiljnijih problema modernog društva i odgovoran je za mnoge bolesti poput dermatitisa, melanoma ili starenja kože. U borbi protiv raznih oboljenja potrošači sve češće traže namirnice bogate antioksidacijskim fitokemikalijama poput vitamina C i E, fenolnih spojeva i biljnih pigmenata, koji nude zaštitu od staničnih oštećenja (8). Prirodni proizvodi poput različitog voća, povrća, gljiva, žitarica, itd., bogat su izvor antioksidansa zbog čega postaju sve više cijenjeni i vrednovani (26). Međutim, antioksidansi se osim u prehrani, sve češće koriste i kao dodaci hrani. Dodaci antioksidansa koriste se za očuvanje okusa i boja, sprječavanje oksidacije masti i ulja, kao i za izbjegavanje uništavanja vitamina (8). Osim u prehrambenoj industriji primjena prirodnih biljnih formulacija koristi se i u kozmetičkoj industriji u svrhu borbe protiv oksidacijskog stresa (8).

### 1.3.1. Biološka aktivnost češnjaka

Povoljni učinci češnjaka uglavnom se pripisuju smanjenju faktora rizika za kardiovaskularne bolesti (KVB), antimikrobnom učinku, smanjenju rizika od raka te ono najvažnije, antioksidacijskom učinku (2).

*Tablica 4.* Djelovanje češnjaka (1)

DJELOVANJE	NAČIN DJELOVANJA
Antibakterijsko	Uništava bakterije.
Antihelmintik	Sredstvo koje uništava ili izbacuje crijevne gliste i/ili parazite.
Antioksidans	Doprinosi oksidaciji slobodnih radikala koji doprinose starenju i demenciji.
Razrjeđivač krvi	-
Karminativ	Sredstvo protiv nadimanja.
Antikancerogeno sredstvo	-
Antikoagulant	Sredstvo koje sprječava stvaranje ugrušaka u tekućini.
Antiseptik	Sredstvo za inhibiranje rasta mikroorganizama na živom tkivu ili za uništavanje patogenih ili trulih bakterija.
Antitumorsko sredstvo	Inhibira stvaranje tumorskih stanica.
Antivirusno sredstvo	-
Dijaforetik	Sredstvo koje potiče znojenje.
Diuretik	Sredstvo koje povećava volumen i protok urina koji čisti mokraćni sustav.
Ekspektorans	Sredstvo koje potiče lučenje sluznice i sekreta iz dišnih puteva.
Stimulans	Sredstvo koje pobuđuje ili ubrzava funkcionalnu aktivnost tkiva dajući više energije.

Studije su pokazale da češnjak, bilo kuhan ili u sirovom obliku, ima iznimno snažna antioksidacijska svojstva. Utvrđeno je da sirovi pokazuje iznimno dobru antioksidacijsku aktivnost, dok s druge strane prženi češnjak ima još jače antioksidacijske sposobnosti, što jasno ukazuje na činjenicu da obrada može utjecati na antioksidacijska svojstva. Crnom češnjaku se učinkovitost hvatanja slobodnih radikala povećava s termičkom obradom. Aktivni sastojci češnjaka, poput fenola i saponina, najviše su odgovorni za njegove antioksidacijske učinke (26).

### **1.3.2. Biološka aktivnost peršina**

Peršin je biljka koja je iznimno bogata fitonutrijentima. Flavonoidi, a osobito flavoni, kao sastavni dio peršina, predstavljaju moćne antioksidanse koji osim što odstranjuju slobodne radikale, potiču i rad enzima koji umanjuju rizik od pojave raka, sprječavaju propadanje zubi, itd. (4).

Još jedan vrlo vrijedan sastojak peršina koji predstavlja snažan antioksidans je vitamin C, odnosno askorbinska kiselina. Ovaj u vodi topivi vitamin, nužan je za biosintezu kolagena i esencijalan je nutrijent za ljudsko tijelo (4).

Peršin uglavnom pokazuje visoki antioksidacijski kapacitet, budući da sadrži značajne količine bioaktivnih spojeva poput karotenoida, flavonoida, neflavonoida, fenola, klorofila i vitamina C. Ipak, uspoređujući ga sa biljkama poput mente i korijandera, koje imaju visok sadržaj ukupnih fenola i flavonoida, zbog nižeg sadržaja flavonoida pokazuje niži antioksidacijski kapacitet (4).

Sastojci sjemena peršina imaju značajan utjecaj na smanjenje upale zglobova, artritisa i gihta. Peršin je biljka koja ima pozitivne učinke na smanjenje visokog krvnog tlaka, nadimanja i grčeva u crijevima te se preporuča srčanim bolesnicima s obzirom da povoljno utječe na cirkulaciju krvi. Zbog značajnih količina fluora i bora u svom sastavu, preporuča se za jačanje kostiju, a također se koristi kod upale mjehura, umirenja živaca, lošeg zadaha iz usta, kožnih bolesti, uboda pčela, anemije, nesanice te za izazivanje znojenja. Svojim estrogenim djelovanjem žene ga često koriste u vrijeme dojenja i za reguliranje mjesečnice (4).



### 1.3.3. Biološka aktivnost limuna

Limunov sok pokazuje izrazito zaštitna svojstva za zdravlje ljudi i zaštitu od oksidacijskog stresa. Taj voćni ekstrakt korišten je kao učinkovito sredstvo za smanjenje koncentracije unutarstaničnih reaktivnih kisikovih vrsta (*Reactive Oxygen Species*) i za zaštitu funkcije lipida, DNK i mitohondrija od oštećenja izazvanih slobodnim radikalima. Štoviše, pokazuje još neke zdravstvene koristi kao što su antikancerogeni učinak, antimikrobni učinak, učinak snižavanja lipida, zaštitni učinak protiv kardiovaskularnih bolesti i antifungicidno djelovanje. Nadalje se koristi za liječenje problema sa želucem, probavom, zubima, gubitkom pamćenja, za liječenje vrućice, krvarenja, reumatizma, opekline, poremećaja disanja, kolere, ateroskleroze, visokog krvnog tlaka, bolesti jetre te potiče probavu i sprječava infekcije mokraćnog sustava (6).

Tijekom proizvodnje soka od citrusa, stvara se poprilično velika količina nusproizvoda kao što su koštice i kora. Svi ovi nusproizvodi pokazuju širok spektar bioloških aktivnosti, uključujući antibakterijska, antifungalna, antidijabetička i antivirusna djelovanja (7).

Limunova korica se koristi za otapanje žučnih kamenaca i ima antikancerogena svojstva. Također je dokazano da sadrži polietoksilirane flavone koji su odgovorni za antikancerogena, antivirusna i protuupalna djelovanja te za smanjenu krhkost kapilara (7).



*Slika 17.* Osušena limunova kora (43)

#### 1.3.4. Biološka aktivnost celera

Fenolne i antioksidacijske spojeve celera proučavali su brojni znanstvenici. Zbog spojeva kao što su kava kiselina, *p*-kumarinska kiselina, ferulinska kiselina, apigenin, luteolin, tanin, saponin i kaempferol, ima snažnu antioksidacijsku aktivnost u borbi protiv slobodnih radikala. Jasno je da celer, s različitim spojevima i raznolikom koncentracijom, može imati raznolike ljekovite učinke. Korijen celera i njegovi listovi imaju sposobnost uklanjanja radikala, dok cijela biljka za zaštitu organizma smanjuje intenzitet liposomske peroksidacije (10).

Također celer može spriječiti kardiovaskularne bolesti, žuticu, bolesti jetre, opstrukciju mokraćnog sustava, giht i reumatične poremećaje. Celer smanjuje glukozu, lipide u krvi i krvni tlak, što dodatno može ojačati srce. Eksperimentalne studije pokazale su da celer ima antifungalna i protuupalna svojstva. Štoviše, njegova esencijalna ulja imaju antibakterijske učinke, a sjemenke su korisne u liječenju bronhitisa, astenopije, astme, poremećaja kože poput psorijaze, itd. (10). Koriste se također i kao sredstva za aromatizaciju te u antireumatskim formulacijama budući da sjeme ima značaj kao sredstvo za ublažavanje artritичne boli kod reumatskih stanja i gihta (44). Korijen celera smatra se diuretikom i stoga se koristi za liječenje kolika (10).



*Slika 18.* Korijen celera (45)

### 1.3.5. Biološka aktivnost selena

Većina biljaka iz porodice Apiaceae pa tako i selen ima protugljivično i protuupalno djelovanje (46).

Zbog prisustva fenolnih spojeva pokazuje značajna antioksidacijska svojstva i bakteriostatsko djelovanje, posebno protiv Gram-pozitivnih bakterija (12). U jednoj studiji dokazano je da ekstrakt sjemenki selena ima snažno djelovanje protiv sljedećih bakterija: *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella pneumoniae* te također protiv gljivica: *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* i *Aspergillus niger* (46).

Polifenoli iz selena štite ljudski organizam od oksidacijskog stresa i raznih drugih upalnih procesa. Također je značajna njihova biološka aktivnost povezana sa prevencijom mnogih bolesti poput raka, dijabetesa, Alzheimerove bolesti i kardiovaskularnih bolesti (47). Korijen selena stoljećima je služio kao diuretik i koristio se za liječenje želučanih tegoba (48).

### 1.3.6. Biološka aktivnost komorača

Biljni lijekovi i esencijalna ulja komorača imaju hepatoprotektivne učinke i antispazmolitički efekt. Također su poznati po svojoj diuretičkoj, protuupalnoj i antioksidacijskoj aktivnosti. Nedavno je utvrđeno kako eterično ulje komorača može djelovati kao emenagog, odnosno tvar koja pospješuje menstruaciju, te kao galaktagog ili jednostavnije rečeno, hranjiva materija koja potpomaže lučenje mlijeka. Zbog svojih antispazmolitičkih učinaka može djelovati kao lijek za respiratorne poremećaje i dojenačke kolike (16).

**Tablica 5.** Biološko djelovanje bioaktivnih spojeva u komoraču (36)

<b>Dio biljke</b>	<b>Fitokemikalije</b>	<b>Biološko djelovanje</b>
eterično ulje sjemenki	dianetol, fotoanetol	estrogeno
eterično ulje sjemenki	$\beta$ -miricen, limonen	hepaprotektivno
eterično ulje sjemenki	<i>trans</i> -anetol	antitrombocitno
cijela biljka	kvercetin-3-O-galaktozid, kamferol-3-O-glukozid, kamferol-3-O-rutinozid, ružmarinska kiselina	antioksidacijsko
eterično ulje sjemenki	anetol	antitumorsko
stabljika	dilapiol, psoralen, bergapten, skopoletin	antibakterijsko
stabljika, list	linoleinska kiselina, oleinska kiselina	fungicidno

### **1.3.7. Biološka aktivnost papra**

Posljednjih desetljeća zabilježeni su mnogi fiziološki učinci crnog papra, njegovih ekstrakata ili glavnih aktivnih tvari poput piperina. Piperin povoljno stimulira probavne enzime gušterače, povećava probavni kapacitet i značajno smanjuje vrijeme prijenosa hrane iz probavnog trakta. Dokazano je da piperin, dok nije toksičan, posjeduje antimutageno i antitumorsko djelovanje (49). Također ima farmakološke učinke poput protuupalnih djelovanja, povećava bioraspodivnost lijekova, potiče oslobađanje adrenalina te povisuje razinu cirkulirajućih hormona štitnjače (50).

Najvažniji učinak piperina njegova je zaštita od oksidacijskih oštećenja, inhibiranjem ili gašenjem slobodnih radikala i ROS-a. Dokazano je da tretman crnim paprom ili piperinom inhibira lipidnu peroksidaciju i blagotvorno utječe na stanični status tiola, molekule antioksidansa i antioksidacijske enzime prilikom oksidacijskog stresa. Piperin u malim koncentracijama može djelovati kao sredstvo za uklanjanje hidroksilnih radikala, ali u višim koncentracijama dolazi do aktivacije Fentonove reakcije, što u konačnici rezultira povećanim stvaranjem hidroksilnih radikala (49).

S druge strane, pokazalo se da je piperin učinkovit antioksidans koji nudi zaštitu od oksidacije humanog lipoproteina niske gustoće (LDL) (49).

Provedeno je još mnogo istraživanja o učincima papra kao antioksidansa i većina ih je imala pozitivne rezultate, čime se da zaključiti da će se primjena ovog začina kao prirodnog antioksidansa zbog svojih djelotvornih učinaka u budućnosti uvelike povećati.

### 1.3.8. Biološka aktivnost kurkume

Brojna istraživanja bilježe visoko farmakološko djelovanje kurkume uključujući antioksidacijska, protuupalna, antibakterijska i protugljivična svojstva (51).

Rizomi kurkume često se koriste za poboljšanje crijevne flore i probave, a kao lako dostupan antiseptik koristi se i za liječenje iritacija kože (modrice, posjekotine i opekline) (23). Mnoga istraživanja ukazuju na to da imaju povoljno djelovanje protiv upalnih procesa, stanica raka i AIDS-a te da pomažu u smanjenju kolesterola i sprječavanju bolesti srca (22,41,38). Može se smatrati lijekom protiv astme, bronhitisa i prehlade ukoliko se koristi pomiješana s toplim mlijekom (22).

**Tablica 6.** Biološka aktivnost kurkume i njezinih spojeva. (23)

<b>Spoj / ekstrakt</b>	<b>Biološka aktivnost</b>
Kurkuma u prahu	Antitumorska, protuupalna aktivnost i zacjeljenje rana, antiprotozalno
Metilkurkumin	Antiprotozalno
Dematoksikurkumin i bisdematoksikurkumin	Antioksidacijska
Hlapljivo ulje	Protuupalna, antibakterijska, protugljivična
Kurkumin	Antibakterijska, antivirusna, antiprotozalno, antitumorska i antioksidacijska

Bioaktivna komponenta kurkume je kurkumin i dobiva se od sušenog korijena (41,38). To je prirodno žuto do narančasto bojilo koje se koristi kao prehrambeni aditiv označen E-brojem E100. Zbog širokog spektra biološkog djelovanja, antioksidacijskih i protuupalnih svojstava koristi se za liječenje mnogih bolesti u Indiji i Kini (23).

Smatra se bezopasnim pa se u farmaceutskoj industriji koristi pri liječenju dermatoloških bolesti kao što je psorijaza, atopijski dermatitis, vitiligo i akne (22). Ima izražajno antimikrobno i antioksidacijsko djelovanje što ga čini snažnim hvatačem kisikovih slobodnih radikala. Antioksidacijsko djelovanje kurkumina očituje se kroz zaštitu lipida i hemoglobina od oksidacije i sprječavanje nastanka reaktivnih vrsta kisika. Na temelju toga njegovo djelovanje moguće je usporediti sa dobro poznatim antioksidansima, vitaminom C i vitaminom E (41). Poznato je i antikancerogeno djelovanje kurkumina i kurkuminoida zbog karbonilne skupine (39,40). Također, kurkumin je izvrstan prirodni antiseptik i dezinficijens (23).

### **1.3.9. Biološka aktivnost luka**

Luk pokazuje razne farmakološke efekte poput inhibicije rasta tumora i mikroba stanice, smanjenja rizika od raka, uklanjanja slobodnih radikala i zaštite od kardiovaskularnih bolesti, koji se pripisuju specifičnim spojevima koji sadrže sumpor i flavonoide (27).

Kvercetin, kao vrlo važan spoj luka, pokazuje najveću antioksidacijsku aktivnost koja je usporediva sa aktivnošću  $\alpha$ -tokoferola, pa stoga vanjski sloj luka predstavlja važan resurs prehrambenih sastojaka (26).

Dokazano je da redovita konzumacija luka smanjuje rizik od raka, mreene, oštećenja DNA te krvožilnih i srčanih bolesti. Prisutnost luka i češnjaka u prženom mesu smanjuje stvaranje kancerogenih heterocikličkih amina u uzorcima kuhanog mesa (26). Luku se također pripisuju mnoga ljekovita svojstva koja uključuju reguliranje bakterijskog sastava crijeva, poboljšanje probave i rada mokraćnog sustava. Također zahvaljujući antiseptičkim učincima pomaže radu dišnih organa prilikom upale grla, prehlade i kašlja (28).

## 2. EKSPERIMENTALNI DIO

### 2.1. BILJNI EKSTRAKTI

U eksperimentalnom dijelu ovog diplomskog rada korišteni su vodeni ekstrakti začinskog bilja pripremljeni ekstrakcijom 10 g liofiliziranog biljnog materijala s 100 mL destilirane vode u ultrazvučnoj kupelji u trajanju od dva sata pri 60 °C.

### 2.2. UREĐAJI I KEMIKALIJE

#### *Uređaji:*

- Tecan Microplates Reader, model SUNRISE, Tecan Group Ltd, Mannedorf, Švicarska
- Spektrofotometar LAMBDA EZ201 PERKIN ELMER, UK
- Analitička vaga, Kern, Model ALS 120-4, Kingston, UK

#### *Kemikalije:*

- Natrijev fosfat dihidrat,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, Missouri, SAD)
- Dinatrijev hidrogenfosfat,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, Missouri, SAD)
- Fluorescein (Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Germany)
- AAPH, 2,2 - azobis (2 - metilpropionamid) – dihidroklorid (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, Missouri, SAD)
- Trolox, (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-karboksilna kiselina)  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$ , 97% čistoće (Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Njemačka)
- Natrijev acetat,  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Alkaloid AD-Skopje, Skopje, Makedonija)
- Glacijalna octena kiselina,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$  (Alkaloid AD-Skopje, Skopje, Makedonija)
- Klorovodična kiselina, 37% HCl (Panreac, Barcelona, Španjolska)
- TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin),  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6$  (Fluka, Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Željezov(III) klorid,  $\text{FeCl}_3$  (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Etanol p.a. (Alkaloid AD-Skopje, Skopje, Makedonija)
- DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, free radical),  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_6$  (Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka)

## 2.3. METODE ODREĐIVANJA ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI

### 2.3.1. ORAC metoda

ORAC metoda predstavlja standardizirani test uz pomoć kojeg se reakcijskim mehanizmom prijenosa atoma vodika (HAT, engl. *Hydrogen Atom Transfer*) mjeri stupanj inhibicije peroksil radikala ( $R'O_2$ ). U osnovnom testu peroksilni radikal reagira sa fluorescentnom probom da bi formirao ne-fluorescentni produkt. Fluorescentna proba predstavlja staničnu molekulu koja je od strane peroksilnog radikala izložena oksidaciji. Naknadno dodani antioksidansi se potom natječe sa probom za radikale, što u posljedici inhibira i usporava oksidaciju same probe. ORAC test prati reakciju dulji vremenski period, a ukupni antioksidacijski učinak je predstavljen kao površina ispod krivulje mjerenja intenziteta fluorescencije. Treba napomenuti da je ovo jedina metoda koja daje informaciju o zaštitnom učinku antioksidansa tijekom dužeg vremenskog perioda. Prilikom reakcije probe s peroksilnim radikalom dolazi do slabljenja intenziteta fluorescencije tijekom vremena. Kao standardna otopina u testu se koristi u vodi topivi sintetski antioksidans Trolox (52).

#### *Reagensi:*

- Fosfatni pufer, pH=7, c=0,2 M
- Fosfatni pufer, pH=7,4, c=0,075 M
- Fluorescein: Stock otopina (c=4,2 mM)
- Radna otopina fluoresceina (c=0,8  $\mu$ M)
- AAPH: 0,207 g AAPH otopi se u 5 ml 0,075 M pufera. Svaki dan se priprema svježi reagens, do mjerenja se čuva u ledenoj kupelji i stabilan je 8 h
- Otopina standarda – Trolox: c=5-50  $\mu$ m

#### *Postupak:*

U svaku rupicu mikrotitarske pločice doda se 150  $\mu$ L fluoresceina i 25  $\mu$ L uzorka. Uzorak predstavljaju 0,075 M fosfatni pufer za slijepu probu (blank), otopina standarda Troloxa za izradu baždarne krivulje i uzorci ekstrakata začinskog bilja (pri odgovarajućem razrijeđenju). Tako pripremljene otopine se termostatiraju 30 minuta pri 37 °C.



Potom se dodaje 25  $\mu\text{L}$  AAPH te se svake minute mjeri promjena intenziteta fluorescencije pri  $\lambda_{\text{eks}} = 485 \text{ nm}$  i  $\lambda_{\text{em}} = 520 \text{ nm}$ . Mjerenja su provedena u 3 ponavljanja, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija (SD).

### 2.3.2. DPPH metoda

Pomoću DPPH metode može se lako procijeniti antioksidacijska sposobnost spojeva koji su prisutni u različitim ekstraktima ili nekim drugim biološkim izvorima. DPPH predstavlja vremenski stabilan organski dušikov radikal ljubičaste boje koji se tijekom redukcije gubi i prelazi u blijedo žuti hidrazinski oblik. Promjena boje posljedica je sparivanja nesparenog elektrona DPPH radikala s vodikom antioksidansa pri čemu se stvara reducirani DPPH-H. Mjerenjem promjene apsorbancije prati se sposobnost antioksidansa da reducira upravo DPPH radikal. Na temelju postotka obezbojenja DPPH radikala, u konačnici se izračuna antioksidacijski kapacitet uzorka (53).

*Reagensi:*

- Otopina DPPH radikala,  $c=0,04 \text{ mg/mL}$
- Radni DPPH priprema se razrjeđivanjem otopine DPPH radikala etanolom, sve dok se ne postigne apsorbancija otopine 1,2 ( $\pm 0,002$ ) pri 492 nm i to neposredno prije mjerenja

*Postupak:*

U mikrotitarske pločice otpipetira se volumen od 290  $\mu\text{L}$  radne otopine DPPH radikala i očitava se apsorbancija prije dodatka uzorka. Nakon toga, u otopinu DPPH radikala se doda 10  $\mu\text{L}$  uzorka. Promjena apsorbancije pri 492 nm očitava se nakon 30 minuta i nakon 1 h. Sve analize, odnosno mjerenja izvršena su u 3 ponavljanja, a rezultati su iskazani kao srednja vrijednost  $\pm$  SD. Antioksidacijska aktivnost izražena je kao % inhibicije DPPH radikala izračunata prema izrazu:

$$\% \text{ inhibicije DPPH} = \{(A C(0) - A A(t)) / A C(0)\} \times 100$$

gdje je:

$A C(0)$  – apsorbancija kontrole (otopina DPPH radikala) kod  $t = 0$  minuta;

$A A(t)$  – apsorbancija reakcijske smjese nakon 1 h

### 2.3.3. FRAP metoda

Antioksidansi doniranjem elektrona u kiselom mediju pri pH 3,6 imaju sposobnost reducirati žuti kompleks željeza(III) sa 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazinom (TPTZ) u plavo obojeni kompleks  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ. Prilikom toga se spektrofotometrijski mjeri intenzitet novonastale plave boje. Na ovaj način se lako može odrediti reduksijska sposobnost antioksidansa. Iako je FRAP metoda jednostavna, brza, pristupačna i robusna, njezin najveći nedostatak je što će svaka komponenta koja posjeduje niži standardni potencijal od redoks-para ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ)/( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ), čak i ona koja nema antioksidacijsku sposobnost, dovesti do redukcije kompleksa i povećati FRAP vrijednost uzorka odnosno dati lažno veće rezultate (54).

#### *Reagensi:*

- Acetatni pufer,  $c(\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 300 \text{ mmol/L}$ ,  $\text{pH} = 3,6$
- Otopina klorovodične kiseline (HCl),  $c(\text{HCl}) = 40 \text{ mmol/L}$
- Otopina 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) u 40 mmol/L HCl,  $c(\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6) = 10 \text{ mmol/L}$
- Otopina željezovog(III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ),  $c(\text{Fe}^{3+}) = 20 \text{ mmol/L}$
- FRAP reagens se priprema miješanjem 2,5 mL otopine TPTZ, 2,5 mL otopine  $\text{FeCl}_3$  i 25 mL acetatnog pufera.

#### *Postupak:*

U mikrotitarsku pločicu otpipetira se 300  $\mu\text{L}$  svježe pripremljene otopine FRAP reagensa i očita mu se apsorbancija pri 595 nm. Potom se u reagens doda 10  $\mu\text{L}$  uzorka i prati se promjena apsorbancije nakon 4 minute. Promjena apsorbancije izračunava se kao razlika konačne vrijednosti apsorbancije reakcijske smjese nakon 4 minute i apsorbancije FRAP reagensa prije dodatka uzorka, te se uspoređuje s vrijednostima dobivenim za otopinu standarda. Kao standard je korišten Trolox, a rezultati za FRAP otopinu ekstrakta izraženi su kao  $\mu\text{M}$  Trolox ekvivalenti (TE). Sva mjerenja izvršena su u 3 ponavljanja i rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  SD.

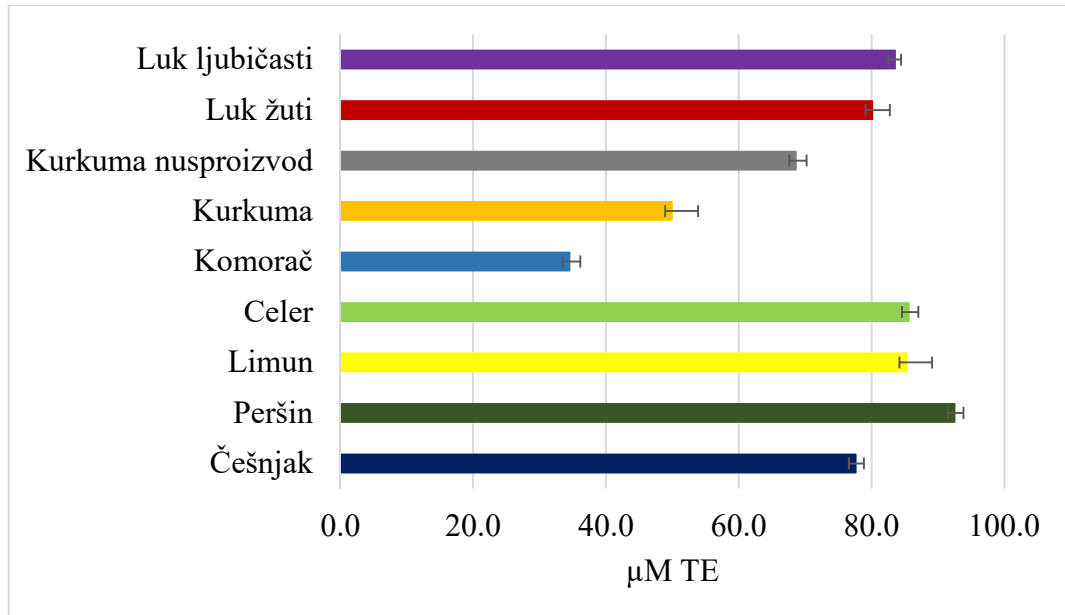
### 3. REZULTATI I RASPRAVA

Postoji velik broj metoda kojima se mjeri antioksidacijski kapacitet biljnih ekstrakata. Njihov najveći problem je nestandardiziranost, budući da niti jedna metoda ne prikazuje mehanizme djelovanja svih antioksidansa i slobodnih radikala koji se nalaze u nekom sustavu poput organizma ili hrane. Stoga je nužno kombinirati više metoda koje će u konačnici ukazati na aktivnost svih prisutnih antioksidansa. SET (engl. *Single Electron Transfer*) i HAT (engl. *Hydrogen Atom Transfer*) predstavljaju dva osnovna mehanizma pomoću kojih antioksidansi mogu deaktivirati slobodne radikale. Pomoću SET mehanizma mjeri se sposobnost kojom antioksidans doniranjem elektrona može reducirati radikale i slične komponente (55). Neke od metoda koje koristi SET mehanizam su: FRAP (engl. *Ferric Reducing Antioxidant power*) i TEAC (engl. *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) (56). S druge strane, u HAT mehanizmu donira se vodikov atom i na taj način mjeri sposobnost antioksidansa da reagira sa slobodnim radikalima (55). Najpoznatije metode koje djeluju na principu HAT mehanizma su: TRAP (engl. *Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*), metoda izbjeljivanja krocina (engl. *Crocic bleachng assay*), ORAC metoda (engl. *Oxygen Radical Absorbance Capacity*) te DPPH (engl. *2,2-diphenyl-1-picryl-hidrazil-hydrate*) metoda (56).

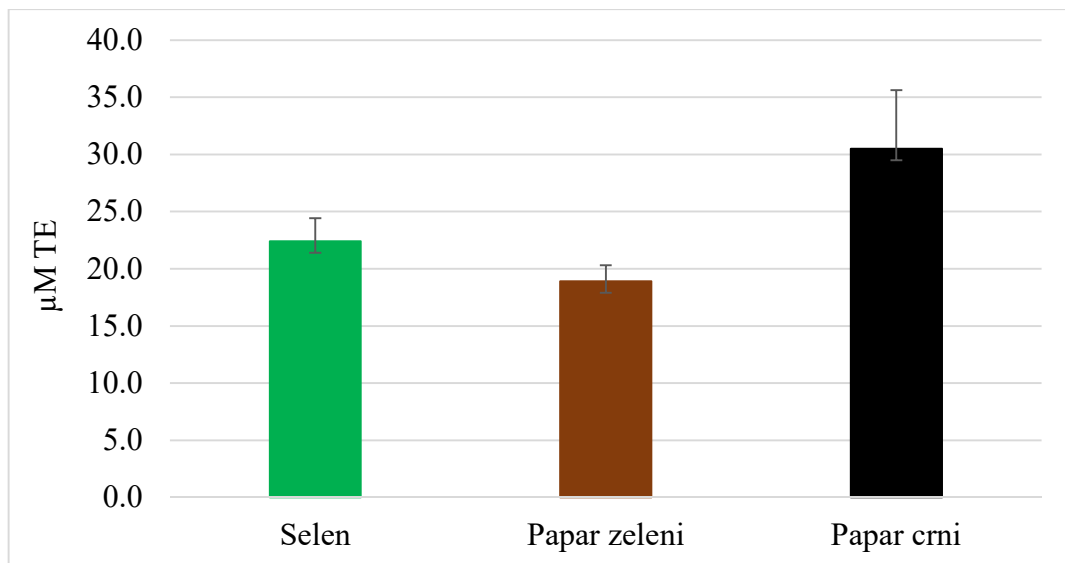
Cilj ovog diplomskog rada bio je odrediti antioksidacijski kapacitet 9 različitih uzoraka začinskog bilja korištenjem ORAC, DPPH i FRAP metode. Rezultati ispitivanja prikazani su na slikama 19-22.

### 3.1. Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti ORAC metodom

Kod rezultata dobivenih ORAC metodom uočava se da su ekstrakti selena i papra (crni i zeleni) pokazali najbolju aktivnost obzirom da su prikazani rezultati (slika 20) dobiveni pri razrjeđenju 1:1000 u odnosu na druge testirane ekstrakte pri razrijeđenju 1:100.



*Slika 19.* Grafički prikaz rezultata antioksidacijske aktivnosti začinskog bilja određene ORAC metodom (Ekstrakti razrijeđeni 1:100)



*Slika 20.* Grafički prikaz rezultata antioksidacijske aktivnosti začinskog bilja određene ORAC metodom (Ekstrakti razrijeđeni 1:1000)

Iako cilj ovog rada nije bila priprava ekstrakta i određivanje udjela fenola, valja istaknuti da ova tri izdvojena ekstrakta sadrže i najveći udio ukupnih fenola (selen 557,2; papar zeleni 561,4 i papar crni 1463,9 mg GAE/L) (57). Ostali testirani ekstrakti su pokazali dobru antioksidacijsku aktivnost, dok je najslabiju aktivnost pokazao uzorak komorača s ORAC vrijednosti 34,5  $\mu\text{M TE}$ . Zanimljivo je da je uz komorač, češnjak imao najmanji udio ukupnih fenola, dok je češnjak u ovoj metodi pokazao dvostruko bolju aktivnost od komorača (ORAC vrijednost iznosila je 77,6  $\mu\text{M TE}$ ). Iako su žuti i ljubičasti luk sadržavali gotovo jednak udio fenola ipak je luk ljubičasti pokazao nešto bolju aktivnost. Posebno se izdvaja i peršin s izvrsnom aktivnosti (ORAC vrijednosti iznosila je 92,5  $\mu\text{M TE}$ ) obzirom da je udio ukupnih fenola u ovom ekstraktu bio prosječan i (cca 400 mg GAE/L) u odnosu na druge testirane ekstrakte sa sličnim sadržajem fenola, ali manjim antioksidacijskim učinkom (pr. limun s 425 mg GAE/L imao je ORAC vrijednosti 85,2  $\mu\text{M TE}$ ).

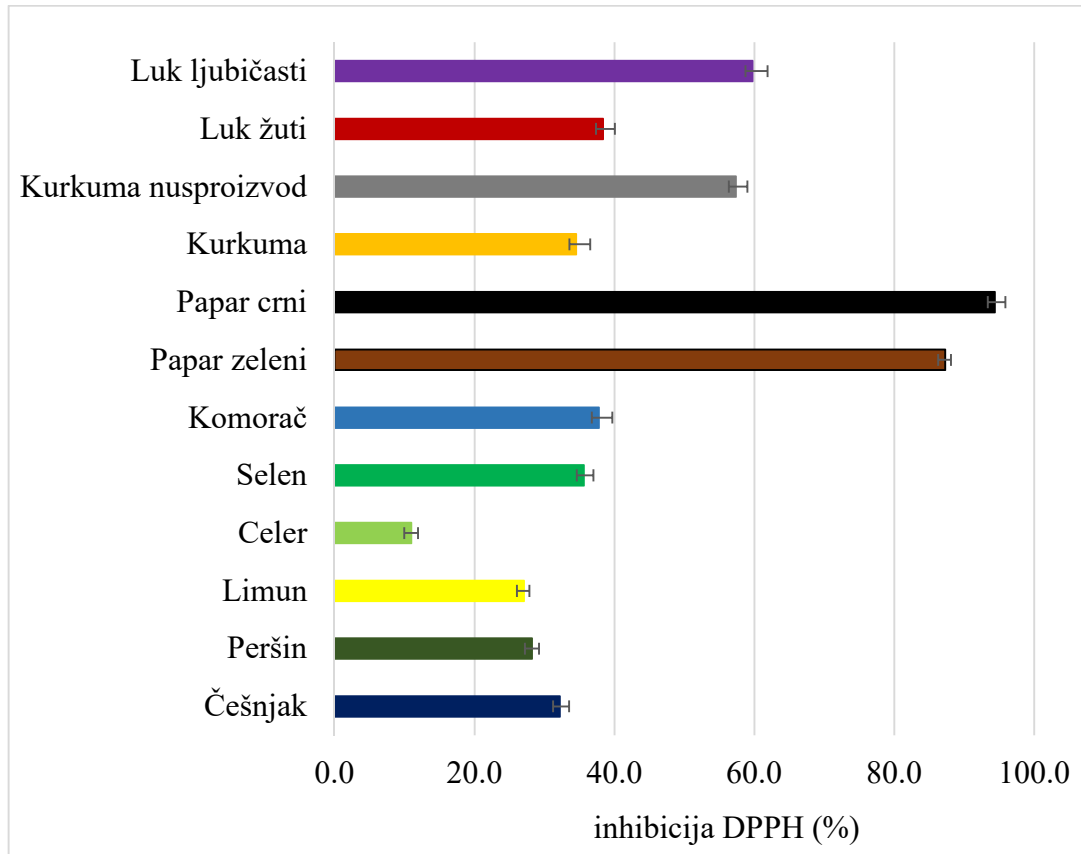
Znanstvena studija koju su proveli Ninfali i sur. (2005) uspoređivala je antioksidacijsku aktivnost povrća i začinskog bilja, uključujući celer, komorač, češnjak i luk. Zanimljivo je istaknuti kako je češnjak imao daleko najveću antioksidacijsku aktivnost (ORAC vrijednost 5346  $\mu\text{M TE}$ ) u odnosu na druge testirane ekstrakte, čija je ORAC vrijednost bila približno jednaka (cca 350  $\mu\text{M TE}$ ) (58). Rezultati navedenog istraživanja se ne podudaraju sa rezultatima iz ovog rada, budući da su u ovom diplomskom radu celer, luk i češnjak imali približno jednaku antioksidacijsku aktivnost, dok je komorač imao znatno niže vrijednosti.

Čiž i sur. (2010) također su mjerili antioksidacijsku aktivnost u različitim vrstama povrća. Prema dobivenim rezultatima listovi peršina i celera imali su najveću antioksidacijsku aktivnost (ORAC vrijednost peršina iznosila je 113,5; ORAC vrijednost celera iznosila je 108,6  $\mu\text{M TE}$ ) u usporedbi s drugim analiziranim povrćem. ORAC vrijednost za selen iznosila je 57,3  $\mu\text{M TE}$  (59) što je znatno niža vrijednost u odnosu na rezultate dobivene u ovom radu.

Bitno je napomenuti da razlike u antioksidacijskoj aktivnosti navedenih začinskih biljaka mogu biti zbog načina priprave biljnog materijala i ekstrakata. U ovom radu su pripravljeni vodeni ekstrakti, dok su Ninfali i sur. (2005) začinsko bilje testirali svježe, a u znanstvenoj studiji koju su proveli Čiž i sur. (2010) uzorci su nakon ekstrakcije pomiješani sa 80% acetona u 0,2 % mravlje kiseline.

### 3.2. Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom

Antioksidacijski kapacitet testiran DPPH metodom određen je nakon 1 h i dobiveni rezultati prikazani su na slici 21.



**Slika 21.** Grafički prikaz rezultata antioksidacijske aktivnosti začinskog bilja određene DPPH metodom

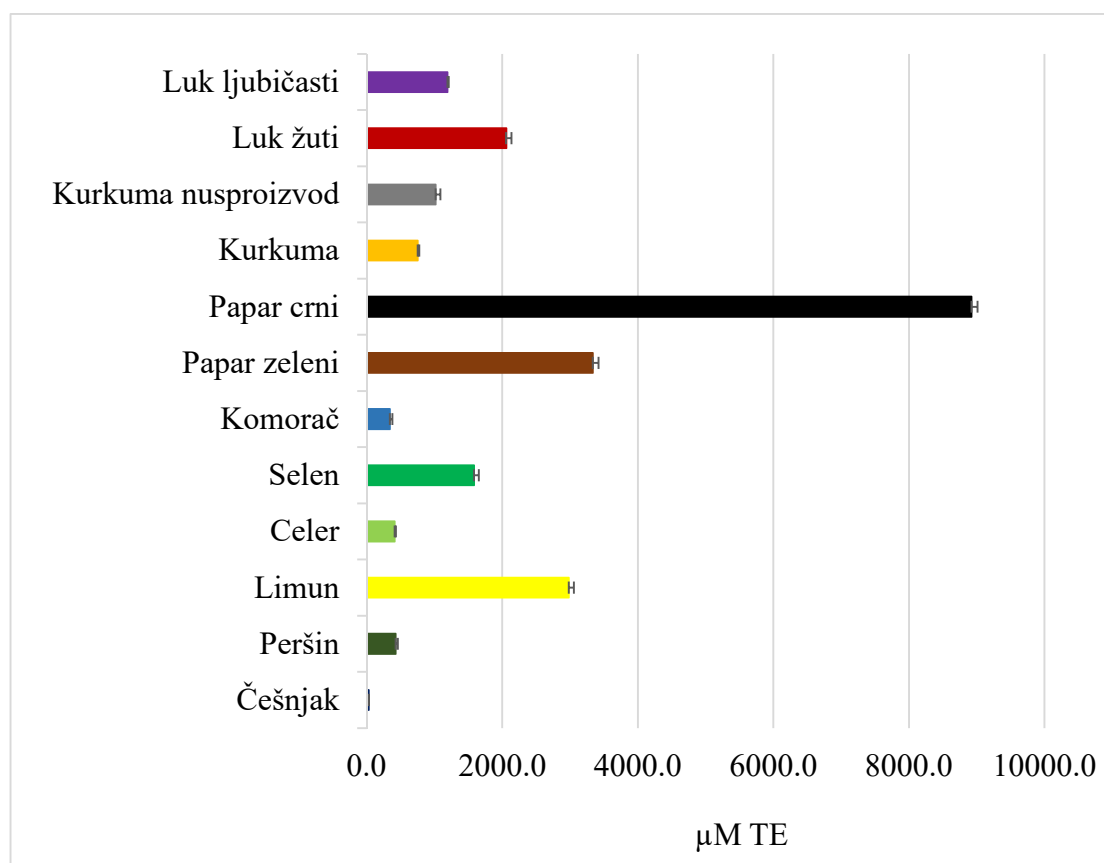
Iz grafičkog prikaza može se uočiti da od svih testiranih ekstrakata najveći % inhibicije DPPH radikala pokazuju ekstrakti papra i to crni  $94,4 \pm 1,5\%$  i zeleni  $87,3 \pm 0,81\%$  inhibicije. Najslabiji antioksidacijski kapacitet imao je celer (11% inhibicije), a slijedili su ga limun s 27,1% i peršin s 28,2% inhibicije. Zanimljivo je kako ekstrakt svena za razliku od ORAC metode, u ovom slučaju nije pokazao tako snažan antioksidacijski kapacitet (35,6% inhibicije). Kod ekstrakta luka, ponovno ljubičasti luk ima bolji učinak u odnosu na žuti (1,6 puta veći postotak inhibicije). Isti trend se uočava i kod ekstrakta kurkume, gdje je ekstrakt nusproizvoda imao 1,7 puta bolji učinak u odnosu na ekstrakt kurkume.

Uspoređujući prikazane rezultate sa drugim studijama, vrlo slična razlika u antioksidacijskoj aktivnosti crnog papra i komorača dobivena je u znanstvenoj studiji koju su proveli Politeo i sur. (2006). Naime, ekstrakt komorača pokazao je svega 9% inhibicije, dok je ekstrakt crnog papra pri istoj koncentraciji (50 g/L) pokazao 61% inhibicije DPPH radikala (60).

S druge strane, Pereira i Tavano (2014) DPPH metodom su, između ostalog bilja, određivali antioksidacijsku aktivnost češnjaka, luka i peršina. Rezultati se ne podudaraju sa prethodno prikazanim budući da je peršin imao najveći antioksidacijski učinak, dok je ovdje u potpunosti suprotno (61).

### 3.3. Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti FRAP metodom

Redukcijska snaga određena FRAP metodom dala je nešto drugačiji poredak aktivnosti testiranih ekstrakata, a dobiveni rezultati su prikazani na slici 22.



**Slika 22.** Grafički prikaz rezultata antioksidacijske aktivnosti začinskog bilja određene FRAP metodom

Antioksidacijska aktivnost bila je najbolja kod ekstrakta crnog papra s FRAP vrijednosti 8924,36  $\mu\text{M TE}$ . Zanimljivo je uočiti kako postoji iznimno velika razlika u antioksidacijskoj aktivnosti između papra i ostalog začinskog bilja, a posebno češnjaka (FRAP vrijednost iznosila je 28,53  $\mu\text{M TE}$ ). Ove velike razlike u aktivnosti su u korelaciji i sa sadržajem ukupnih fenola obzirom da papar crni sadržava 8,2 puta više ukupnih fenola u odnosu na češnjak (s najmanjim udjelom ukupnih fenola), stoga je bilo i očekivano da će imati manju aktivnost. U odnosu na crni papar, zeleni papar i limun su pokazali također izvrsnu redukcijsku sposobnost. Luk ljubičasti ovog puta nije imao bolji antioksidacijski učinak od žutog, naime luk žuti je imao gotovo dva puta bolju redukcijsku snagu od ljubičastog.

Wojdylo i sur. (2007) odredili su fenolni sastav i antioksidacijsku aktivnost (FRAP metodom) u 32 različite biljne vrste. Među odabranim biljkama našli su se peršin, komorač i kurkuma. Dobiveni rezultati pokazuju da komorač ima najveću antioksidacijsku aktivnost (FRAP vrijednost iznosila je 123  $\mu\text{M TE}$ ), što je u korelaciji sa njegovim također najvećim sadržajem fenolne kiseline (630 mg/100 g dw). Rezultati ove studije se ne podudaraju s rezultatima dobivenim u ovom radu za ekstrakt komorača (62). Naime, kako je i vidljivo iz grafa (slika 22) ekstrakt komorača je u ovom diplomskom radu imao najmanju antioksidacijsku aktivnost od svog istraživanog začinskog bilja uz češnjak. Ta razlika u rezultatima mogla bi se pripisati različitom načinu pripreme ekstrakata, budući da se u znanstvenoj studiji mljeveni suhi biljni materijal miješao sa metanolom, dok su u ovom radu pripremljeni vodeni ekstrakti.

Znanstvena studija koju su proveli Hossain i sur. (2008) također uključuje antioksidacijsku aktivnost ekstrakata različitih začina, ekstrakt kurkume, celera, crnog papra, komorača, peršina, luka i češnjaka. Zanimljivo je da su prikazani rezultati upućivali na najveću redukcijsku snagu kurkume i celera. Papar se našao na trećem mjestu, a slijede ga komorač i peršin. Luk i češnjak su imali najmanju antioksidacijsku aktivnost. Važno je napomenuti da su svi uzorci pripremljeni na način da su osušeni i samljeveni te nakon toga homogenizirani u 25 ml 80%-tnog metanola na sobnoj temperaturi (63). U potpunosti drugačiji način pripreme ekstrakata najvjerojatnije je doveo do različitih rezultata između znanstvene studije i ovog diplomskog rada.



## 4. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata mogu se izdvojiti slijedeći zaključci:

- Svim korištenim metodama najbolju antioksidacijsku aktivnost pokazao je ekstrakt crnog papra.
- Najslabiju antioksidacijsku aktivnost ORAC metodom pokazao je ekstrakt komorača, DPPH metodom ekstrakt celera, dok je kod FRAP metode najmanju aktivnost pokazao češnjak.
- Ostali dobiveni rezultati ukazuju na dobra antioksidacijska svojstva nekoliko začinskih biljaka od kojih se izdvajaju selen, peršin, luk ljubičasti, kurkuma nusproizvod i limun.
- Rezultati DPPH analize se podudaraju s rezultatima ORAC metode, obzirom da se obje metode temelje na istom mehanizmu djelovanja (HAT mehanizam).

## 5. LITERATURA

1. Tyagi S, Chirag PJ, Poonam D, Dhruv M, Ishita S, Labu ZK, *et al.* Importance of garlic (*Allium Sativum*): an exhaustive review. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics*. 2013;1(4):23-27.
2. Sun YE, Wang W, Qin J. Anti-hyperlipidemia of garlic by reducing the level of total cholesterol and low-density lipoprotein. *Medicine*. 2018;97(18).  
doi: 10.1097/md.00000000000010255
3. URL:<https://www.krenizdravo.hr/zdravlje/alternativna-medicina/biljna-ljekarna/cesnjak-sva-ljekovita-svojstva> (PRISTUPLJENO 31.8.2020.)
4. Šagud A. Sadržaj bioaktivnih i kemijskih spojeva različitih sorata peršina (*Petroselinum crispum Mill.*) [Diplomski rad]. Zagreb, Hrvatska: Agronomski fakultet; 2016.
5. URL:<https://www.tablicakalorija.com/zacini/persin.html> (PRISTUPLJENO 31.8.2020.)
6. Ali SH, Obaid QA, Awaid KG. Lemon Juice antioxidant activity against oxidative stress. *Baghdad Sci.J.* 2020;17(1):207-213.  
doi: [https://dx.doi.org/10.21123/bsj.2020.17.1\(Suppl.\).0207](https://dx.doi.org/10.21123/bsj.2020.17.1(Suppl.).0207)
7. John S, Monica SJ, Priyadarshini S, Sivaraj C, Arumugam P. Antioxidant and Antimicrobial Efficacy of Lemon (*Citrus limonum L.*) Peel. *Int. J Pharm Sci Rev Res.* 2017;46(1):115-118.
8. Diankov S, Karsheva M, Hinko I. Extraction of natural antioxidants from lemon peels, kinetics and antioxidant capacity. *J. Chem. Technol. Metall.* 2011;46(3):315-319.
9. URL:<https://www.24sata.hr/lifestyle/kako-posaditi-stablo-limuna-u-nekoliko-jednostavnih-koraka-683266> (PRISTUPLJENO 31.8.2020.)
10. Kooti W, Daraei N. A Review of the Antioxidant Activity of Celery (*Apium graveolens L.*). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2017;22(4):1029-1034.  
doi: 10.1177/2156587217717415
11. URL:<http://studiomteslic.net/zdravlje/324-celer-cuva-arterije> (PRISTUPLJENO 1.9.2020.)
12. Mascoloti Sprea R, Fernandes A, Calhelha RC, Pereira C, Pires TCSP, Alves MJ, *et al.* Chemical and bioactive characterization of the aromatic plant *Levisticum officinale* W.D.J. Koch: a comprehensive study. *Food Funct.* 2020.

13. Afarnegan H, Shahraki A, Shahraki J. The hepatoprotective effects of aquatic extract of *Levisticum officinale* against paraquat hepatocyte toxicity. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2017;30:2363-2368.
14. URL:<https://vipscena.com/wp-content/uploads/2019/12/biljka-selen-kao-lek.jpg> (PRISTUPLJENO 1.9.)
15. Devčić A. Ljekovita svojstva komorača (*Foeniculum vulgare Mill.*), Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo, Osijek, 2016.
16. Shahat AA, Ibrahim AY, Hendawy SF, Omer EA, Hammouda FM, Abdel-Rahman FH, Saleh MA. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Organically Cultivated Fennel Cultivars. *Molecules.* 2011;16:1366-1377.  
doi:10.3390/molecules16021366
17. URL:<https://hr.wikipedia.org/wiki/Komora%C4%8D> (PRISTUPLJENO 1.9.2020.)
18. Ravindran PN, Kallapurackal JA, editors. Black pepper. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 2012;1:86-115.  
doi: <https://doi.org/10.1533/9780857095671.86>
19. URL: <http://aromateka-eskulap.hr/crni-papar> (PRISTUPLJENO 1.9.2020.)
20. URL:<https://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/crni-papar> (PRISTUPLJENO 1.9.2020.)
21. Nelson SC, Cannon-Eger KT. Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Black pepper (*Piper nigrum*). Specialty Crops for Pacific Island Agroforestry. 2011.
22. Mueen Ahmed KK, Gupta BM, Gupta R. *Curcuma longa* (Medical Plant) Research: Assessment of Global Publications Output during 1997-2016. *Pharmacogn J.* 2018;10(5):998-1006.
23. Verma RK, Kumari P, Maurya RK, Kumar V, Verma RB, Singh RK. Medicinal properties of turmeric (*Curcuma longa L.*): A review. *Int. J. Chem. Stud.* 2018;6(4):1354-1357.
24. URL:<https://www.plantea.com.hr/kurkuma/> (PRISTUPLJENO 11.9.2020.)
25. URL:<https://portal.terra-organica.hr/prirodni-lijekovi/ljekovito-bilje/kurkuma-kao-lijek/> (PRISTUPLJENO 11.9.2020)

26. Corzo-Martínez M, Corzo N, Villamiel M. Biological properties of onions and garlic. *Trends Food Sci Technol.* 2007;18(12):609-625. doi: 10.1016/j.tifs.2007.07.011
27. Roldan E, Sanchez-Moreno C, de Ancos B, Pilar Cano M. Characterisation of onion (*Allium cepa* L.) by-products as food ingredients with antioxidant and antibrowning properties. *Food Chem.* 2008;108(3):907-916. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.058>
28. Janković H. Tehnološki postupak skladištenja luka (*Allium cepa* L.) [Diplomski rad]. Osijek, Hrvatska: Poljoprivredni fakultet u Osijeku; 2013.
29. URL: <https://vitamini.hr/hrana-i-zivot/hrana/luk-2530/>
30. Shang A, Cao SY, Xu XY, Gan RY, Tang GY, Corke H, *et al.* Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.). *Foods.* 2019;8:246. doi:10.3390/foods8070246
31. URL:[https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structures-of-the-main-organosulfur-compounds-in-garlic\\_fig1\\_334260430](https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structures-of-the-main-organosulfur-compounds-in-garlic_fig1_334260430) (PRISTUPLJENO 15.9.2020.)
32. URL:[https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-kaempferol\\_fig5\\_260253002](https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-kaempferol_fig5_260253002) (PRISTUPLJENO 15.9.2020.)
33. URL:<https://www.medchemexpress.com/Luteolin.html> (PRISTUPLJENO 15.9.2020.)
34. URL:[https://www.researchgate.net/figure/FIGURA-1-Estrutura-quimica-da-cumarina-1-2-benzopirona\\_fig1\\_303467158](https://www.researchgate.net/figure/FIGURA-1-Estrutura-quimica-da-cumarina-1-2-benzopirona_fig1_303467158) (PRISTUPLJENO 16.9.2020.)
35. Bylaite E, Venskutonis RP, Roozen JP. Influence of Harvesting Time on the Composition of Volatile Components in Different Anatomical Parts of Lovage (*Levisticum officinale* Koch.). *J. Agric. Food Chem.* 1998;46(9):3735-3740. doi: <https://doi.org/10.1021/jf9800559>
36. Kruk V. Komorač kao potencijalni izvor bioaktivnih molekula za razvoj funkcionalnih proizvoda. *Funkcionalna hrana u Hrvatskoj*, Zagreb, 2019.
37. Šarko N. Upotreba kurkume kod nefarmakoloških metoda liječenja osteoartritisa [Diplomski rad]. Zagreb, Hrvatska: Farmaceutsko-biokemijski fakultet; 2018.
38. Burger N. Osnovni elementi navodnjavanja u uzgoju kurkume (*Curcuma longa* L.) [Diplomski rad]. Osijek, Hrvatska: Fakultet agrobiotehničkih znanosti; 2019.

39. Braga MEM, Leal PF, Carvalho JE, Meireles MAA. Comparasion of Yield, Composition, and Antioxidant Activity of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts Obtained Using Various Techniques. *J. Agric. Food Chem.* 2003;51:6604-6611
40. Maizura M, Aminah A, Wan Aida WM. Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. *Int. Food Res. J.* 2011;18:526-531.
41. Nasri H, Sahinfard N, Rafieian M, Rafieian S, Shirzad M, Rafieian-kopaei M. Turmeric: A spice with multifunctional medicinal properties. *J HerbMed Pharmacol.* 2014;3(1):5-8.
42. URL:<https://www.usda.gov/> (PRISTUPLJENO 17.8.2020.)
43. URL:<https://sos-chefs.com/products/dried-lemon-peel> (PRISTUPLJENO 17.8.2020.)
44. Hassanen NHM, Eissa AMF, Hafez SAM, Mosa EAM. Antioxidant and antimicrobial activity of celery (*Apium graveolens*) and coriander (*Coriandrum sativum*) herb and seed essential oils. *Int J of Curr Microbiol Appl Sci.* 2015;3(4):284-296.
45. URL:<http://old.dubrovniknet.hr/kolumna.php?id=35697#.X14NTGgzZPY> (PRISTUPLJENO 13.9.202.)
46. Shafaghat A. Chemical constituents, antimicrobial and antioxidant activity of the hexane from root and seed *Levisticum persicum* Freyn and Bornm. *J. Med. Plants Res.* 2011;5(20):5127-5131. doi: <https://doi.org/10.5897/JMPR.9000357>
47. Zlotek U, Szymanowska U, Pecio L, Kozachok S, Jakubczyk A. Antioxidative and Potentially Anti-inflammatory Activity of Phenolics from Lovage Leaves *Levisticum officinale* Koch Elicited with Jasmonic Acid and Yeast Extract. *Molecules.* 2019;24(7):1441. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24071441>
48. Santos PAG, Figueiredo AC, Oliveira MM, Barroso JG, Pedro LG, Deans SG, *et al.* Growth and essential oil composition of hairy root cultures of *Levisticum officinale* W.D.J. Koch (lovage). *Plant Sci.* 2005;168(4):1089-1096. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.12.009>
49. Srinivasan K. Black Pepper and its Pungent Principle-Piperine: A Reviw of Diverse Physiological Effects. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013;53(9):735-748.
50. Vijayakumar RS, Surya D, Nalini N. Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum* L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. *Redox Rep.* 2004;9(2):105-10. doi: 10.1179/135100004225004742

51. Akter J, Hossain MA, Takara K, Islam MZ, Hou DX. Antioxidant activity of different species and varieties of turmeric (*Curcuma* spp): Isolation of active compounds. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2019;215:9-17.
52. Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Prior RL. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well form. *J Agric Food Chem*. 2002;50:4437–4444.
53. Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF. Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*),  $\alpha$ -Tocopherol, BHT, and BHA. *J. Agric. Food. Chem*. 1997;45(3):632-638.
54. Benzie IFF, Strain JJ. Feric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic acid Concentration. *Methods Enzymol*. 1999;299:15-27.
55. Mandić V. Razvoj i validacija novog tipa HPLC detektora za određivanje bioaktivnih sastojaka u hrani [Diplomski rad]. Zagreb, Hrvatska: Prehrambeno-biotehnološki fakultet; 2017.
56. Skroza D. Učinak odabranih fenolnih spojeva na antioksidacijsku i antimikrobnu aktivnost resveratrola u binarnim fenolnim smjesama [Doktorska disertacija]. Zagreb, Hrvatska: Prehrambeno-biotehnološki fakultet; 2015.
57. Rašić TM. Određivanje antimikrobnog učinka začinskog bilja na *Enterococcus faecalis* [Diplomski rad]. Split, Hrvatska: Kemijsko-tehnološki fakultet; 2019.
58. Ninfali P, Mea G, Giorgini S, Rocchi M, Bacchiocca M. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *Br. J. Nutr*. 2005;93:257–266. doi: 10.1079/bjn20041327
59. Čiž M, Čižova H, Denev P, Kratchanova M, Slavov A, *et al*. Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables. *Food Control*. 2010;21(4):518-523. doi: 10.1016/j.foodcont.2009.07.017
60. Politeo O, Jukić M, Miloš M. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils of Twelve Spice Plants. *Croat. Chem. Acta*. 2006;79(4);545-552.

61. Pereira MP, Tavano OL. Use of Different Spices as Potential Natural Antioxidant Additives on Cooked Beans (*Phaseolus vulgaris*). Increase of DPPH Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content. *Plant Foods Hum Nutr.* 2014;69:337-343.
62. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* 2007;105(3):940-949.
63. Hossain MB, Brunton NP, Barry-Ryan C, Martin-Diana AB, Wilkinson M. Antioxidant activity of spice extracts and phenolics in comparison to synthetic antioxidant. *Rasayan J. Chem.* 2008;1(4):751-756.