

Trava iva neiskorišteni funkcionalni potencijal tradicionalne biljne vrste *Teucrium montanum* L.

Iveković, Sofija

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:980290>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-04**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Sofija Iveković

7375/PT

**Trava iva – neiskorišteni funkcionalni potencijal
tradicionalne biljne vrste *Teucrium montanum* L.**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Kemija i tehnologija ugljikohidrata i konditorskih proizvoda

Mentor: Prof. dr. sc. Draženka Komes

Zagreb, 2020.

Ovaj završni rad izrađen je u okviru projekta „*Formuliranje inkapsuliranih sustava bioaktivnih sastojaka tradicionalnih biljnih vrsta: trave ive i dobričice namijenjenih razvoju inovativnih funkcionalnih prehrambenih proizvoda*“ (IP-2019-04-5879) financiranog sredstvima Hrvatske zaklade za znanost.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za Prehrambeno – tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Trava iva - neiskorišteni funkcionalni potencijal tradicionalne biljne vrste *Teucrium montanum* L.

Sofija Iveković, 0058210434

Sažetak: Ljekovite biljke od davnina se koriste u ljudskoj prehrani i liječenju različitih bolesti, što je ponajprije rezultat njihovog bogatog bioaktivnog sastava. Trava iva (*Teucrium montanum* L.) je biljna vrsta iz porodice Lamiaceae koja je rasprostranjena na području Hrvatske i Mediterana, a tradicionalno se koristi za liječenje brojnih zdravstvenih tegoba zbog izraženih antioksidacijskih, protuupalnih i antimikrobnih svojstava. Cilj ovog rada je sumirati podatke o bioaktivnom sastavu i biološkoj aktivnosti trave ive. Prema dostupnim podacima *T. montanum* izuzetno je bogata polifenolnim spojevima, posebice flavonoidima i fenolnim kiselinama koji su zaslužni za antioksidacijsko djelovanje te terpenoidima koji su odgovorni za antimikrobno djelovanje. U radu je prezentirana i važnost uporabe tradicionalnih ljekovitih biljaka te metode prikladne za ekstrakciju bioaktivnih sastojaka ljekovitih biljaka, posebice trave ive, ali potrebna su daljnja istraživanja sastava koja bi rezultirala primjenom u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.

Ključne riječi: ljekovite biljke, metode ekstrakcije, polifenoli, terpenoidi, *Teucrium montanum*

Rad sadrži: 29 stranica, 6 slika, 4 tablice, 40 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Prof. dr. sc. Draženka Komes

Pomoć pri izradi: mag. ing. Danijela Šeremet

Datum obrane: srpanj 2020

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor Thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering

Laboratory for technology of carbohydrates and confectionery products

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food technology

Mountain germander - the unused functional potential of *Teucrium montanum* L., a traditional plant species

Sofija Iveković, 0058210434

Abstract: Medicinal plants have been used for generations as a source of food and medicine for humans due to their rich bioactive composition. Mountain germander (*Teucrium montanum* L.) belongs to the Lamiaceae family, it grows in Croatia and the Mediterranean region and is traditionally used to treat many diseases due to its antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties. The aim of this paper is to summarize data available about the bioactive composition and biological activity of mountain germander. According to available data *T. montanum* is rich in polyphenols, especially flavonoids and phenolic acids which are responsible for antioxidant properties and in terpenoids responsible for antimicrobial properties. This paper also presents the importance of using traditional medicinal plants and methods suitable for the extraction of bioactive compounds from medicinal plants, especially mountain germander, but further research needs to be done which would result in the use of mountain germander in the food and pharmaceutical industry.

Keywords: medicinal plants, extraction methods, polyphenols, terpenoids, *Teucrium montanum*

Thesis contains: 29 pages, 6 figures, 4 tables, 40 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD Draženka Komes, Full professor

Technical support and assistance: Danijela Šeremet, MSc

Defence date: July 2020

Sadržaj

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. LJEKOVITE BILJKE | 2 |
| 2.1. Povijest uporabe ljekovitih biljaka | 2 |
| 2.2. Ljekoviti biljni pripravci..... | 4 |
| 2.2.1. Ljekoviti biljni pripravci u Europi | 5 |
| 2.3. Kemijski sastav ljekovitih biljaka | 6 |
| 2.3.1 Akumulacija elemenata iz tla | 6 |
| 2.3.2. Sekundarni biljni metaboliti | 6 |
| 3. POLIFENOLNI SPOJEVI..... | 7 |
| 3.1. Polifenoli kao antioksidansi..... | 9 |
| 3.2. Metode ekstrakcije polifenolnih spojeva | 10 |
| 3.2.1. Konvencionalne metode | 11 |
| 3.2.2. Inovativne metode | 11 |
| 4. TRAVA IVA..... | 14 |
| 4.1. Osnovna obilježja | 14 |
| 4.2. Bioaktivni sastav <i>T. montanum</i> | 15 |
| 4.2.1. Sastav polifenola i antioksidacijski kapacitet..... | 15 |
| 4.2.2. Eterična ulja i sastav terpenoida | 19 |
| 4.3. Biološka aktivnost..... | 24 |
| 4.4. Potencijal u prehrambenoj industriji | 25 |
| 5. ZAKLJUČCI..... | 25 |
| 6. POPIS LITERATURE | 26 |

1. UVOD

Biljke su oduvijek bile neizostavan dio čovjekove svakodnevice, bilo kao hrana ili kao lijek. Među mnogim narodima širom svijeta i do danas se zadržala tradicija uporabe ljekovitih biljaka. Osim tradicionalne uporabe, ljekovite biljke postale su izvor bioaktivnih tvari za proizvodnju farmaceutskih pripravaka. Procjenjuje se kako 30 – 50% lijekova sadrži spojeve izolirane iz ljekovitih biljaka koje se već tisućama godina koriste u prevenciji i liječenju bolesti (Anand i sur., 2019; Ortega-Ramirez i sur., 2014).

O tradicionalnoj medicini temeljenoj na ljekovitim biljkama ovisi 70 – 90% zemalja u razvoju, ali potražnja i konzumacija ljekovitih biljaka i njihovih pripravaka raste i u razvijenim zemljama. Razlog tomu su sintetski proizvedeni lijekovi koji su sve manje efikasni i pokazuju brojne nuspojave na organizam. Također, zbog pretjerane uporabe sintetskih lijekova, došlo je do razvoja mikrobne rezistencije i potrebe za pronalaskom novih izvora ljekovitih tvari (Anand i sur., 2019). Procijenjeno je da se u svijetu godišnje prodajom biljnih lijekova zaradi oko 20 milijardi američkih dolara, a glavni razlozi za sve veću popularnost biljnih lijekova njihova su dobra podnošljivost, slabe nuspojave i sposobnost sprječavanja ili ublažavanja simptoma bolesti (Grünwald i Jänicke, 2006).

Razvoj mikrobne rezistencije i zahtjevi potrošača utjecali su na prehrambenu industriju koja je također počela primjenjivati antioksidanse i antimikrobne tvari izolirane iz ljekovitih biljaka sigurnih za konzumaciju. Na njihovu primjenu u prehrambenoj industriji utjecao je i rastući trend funkcionalne hrane koja, osim povećane nutritivne vrijednosti, ima i pozitivan učinak na zdravlje (Ortega-Ramirez i sur., 2014).

Hrvatska ima razvijenu tradiciju uporabe ljekovitih biljaka, a jedna od najznačajnijih vrsta je trava iva (*Teucrium montanum* L.) koja se tradicionalno koristi za liječenje raznih zdravstvenih tegoba zbog čega je posljednjih godina postala predmetom brojnih istraživanja kojima se nastoje izolirati bioaktivni spojevi i odrediti njihova biološka aktivnost. Stoga je cilj ovoga rada prikazati važnost uporabe tradicionalnih, ljekovitih biljnih vrsta te na temelju rezultata provedenih istraživanja prikazati funkcionalni potencijal *T. montanum*.

2. LJEKOVITE BILJKE

2.1. Povijest uporabe ljekovitih biljaka

Uporaba biljaka u svrhu liječenja brojnih zdravstvenih tegoba seže sve do samih početaka razvoja čovječanstva. Pripravci biljnoga podrijetla su još od davnina bili osnova za liječenje različitih bolesti u gotovo svim dijelovima svijeta. Čovjek je instinktivno i često oponašajući životinje iz svoje okoline počeo upotrebljavati biljke iz svoje okoline u svrhu liječenja bolesti ili ublažavanja simptoma te time stjecao znanje o učinku pojedinih biljaka na organizam (Alamgir, 2017).

Arheološki dokazi o uporabi ljekovitog bilja sežu sve do doba paleolitika prije 60 000 godina, a prvi pisani dokazi do Sumeranskog naroda koji je živio prije više od 5000 godina o čemu svjedoči glinena pločica iz Nagpura na kojoj je zapisano 12 recepata za biljne pripravke koji uključuju preko 250 biljaka kao što su mak, bunika i mandragora. Narodi širom svijeta kroz povijest su razvili svoju tradiciju i načine korištenja ljekovitog bilja gotovo neovisno o utjecajima drugih naroda.

Kineska knjiga „Pen T´sao“ (2500 pr. Kr.) opisuje 365 ljekovitih biljaka kao što su kamfor, ginseng, cimet, čajevac, rabarbara, kositrenica, žuti srčanik, bijeli kužnjak i dr. Indijske svete knjige Vede također spominju liječenje biljkama (prvenstveno začinskim) kao što su papar, klinčić, muškatni oraščić i dr. Biblija i Talmud, svete knjige Kršćana, odnosno Židova, spominju korištenje aromatskih biljaka kao što su mirta i tamjan tijekom raznih obreda. Prema zapisima na Ebersovom papirusu iz 1550. pr. Kr. Egipćani su koristili preko 700 ljekovitih biljaka kao što su nar, aloe vera, češnjak, luk, smokva, vrba, borovica, korijander i dr.

U Grčkoj su ljekovite biljke također bile vrlo cijenjene. Književnik Homer u svojem epu „Ilijada i Odiseja“ (800 pr. Kr.) spominje 63 biljne vrste, a neke su dobile imena prema likovima iz grčke mitologije, primjerice oman (lat. *Inula Helenium*) dobiva ime prema Heleni iz Trojanskog rata. Biljke roda *Artemisia*, za koje se vjerovalo da vraćaju snagu i štite zdravlje, ime su dobile prema grčkoj riječi *artemis*, što znači zdravo.

Hipokrat (459.-370. pr. Kr.) u svojim djelima klasificira 300 biljaka prema njihovom djelovanju: pelin i prava kičica koriste se za snižavanje temperature, češnjak protiv probavnih parazita, mak, mandragora, bunika i velebilje kao narkotici, peršin, šparoge, češnjak i celer kao diuretici, a nar i hrast kao adstringensi. Teofrast (371.-287. pr.Kr.) u svojim djelima „De causis Plantarum“ i „De Historia Plantarum“ klasificira više od 500 do tada poznatih biljaka među kojima su se našli cimet, menta, nar, kardamom i kukurijek. S obzirom na njegov doprinos klasifikaciji i detaljnom opisu ljekovitih biljaka smatra se osnivačem botanike. Zanimljivo je što opisujući toksičnost nekih biljaka navodi kako je moguće da se čovjek navikne

na toksične biljke tako da postupno povećava dozu konzumacije. Grčki vojni liječnik Dioskorid u svome dijelu „De Materia Medica“ opisuje 944 lijeka od kojih je 657 biljnoga podrijetla. Biljke koje najviše cijeni su vrba, kamilica, češnjak, luk, bršljan, kopriva, sljez, kadulja, korijander, kukurijek, peršin te prava kičica. Ova knjiga datira iz 1. stoljeća, a služila je kao glavni medicinski priručnik za liječenje sve do srednjeg vijeka i renesanse.

Slavenski narodi u 7. stoljeću koriste ružmarin, mentu, peruniku i bosiljak u kozmetici, češnjak za razne tegobe, jedić kao otrov pri lovu, a lavandu, koprivu, stolisnik i pelin protiv uboda kukaca. U srednjem vijeku samostani tj. redovnici posjeduju sve znanje i vještine o uzgoju i pripremi ljekovitih biljaka. Liječenje se temeljilo na 16 biljaka kao što su kadulja, anis, menta, piskavica i dr. Arapi su utjecali na dolazak brojnih vrsta iz Indije u Europu kao što su đumbir, kava, šafran, papar, cimet, kurkuma i dr. Veliki doprinos dovođenju novih biljnih vrsta u Europu imalo je razdoblje velikih geografskih otkrića u 15. i 16. stoljeću kada iz Amerike dolaze kakaovac, vanilija, duhan, mate, čili i dr.

U 18.st. Carl Linné u svojem dijelu „Species Plantarum“ uvodi binomnu nomenklaturu tj. klasifikaciju biljaka prema rodu i vrsti kakva se i danas koristi. Najveću prekretnicu donosi razvoj znanosti u 19. stoljeću koja omogućuje izolaciju i analizu spojeva iz biljaka, npr. alkaloida iz maka, strihninovca, kininovca te izolaciju glikozida. Daljnjim unapređivanjem metoda izolirani su tanini, saponini, vitamini, eterična ulja i hormoni. Napretkom znanosti počela je rasti potražnja za izoliranim spojevima iz biljaka naspram samih biljaka (Petrovska, 2012).

Iako je u novije doba zbog razvoja znanosti, naročito farmacije i medicine, došlo do udaljavanja od liječenja bolesti biljkama, tradicija uporabe ljekovitog bilja zadržala se u narodu te danas ljekovite biljke ponovno postaju sve traženije (Alamgir, 2017). Prema podacima svjetske zdravstvene organizacije (WHO – engl. *World Health Organisation*) 80% svjetskog stanovništva koristi biljne pripravke za liječenje bolesti ili ublažavanje zdravstvenih tegoba (Pandey i sur., 2011). Većinom se radi o stanovnicima zemalja u razvoju koji i dalje ovise o tradicionalnoj biljnoj medicini kao primarnom načinu liječenja. Iako je industrija lijekova u posljednjih 100 godina potpuno revolucionirala zdravstveni sustav širom svijeta biljni pripravci su cjenovno puno pristupačniji i širom dostupni. Tako u Africi 90%, a u Indiji 70% populacije ovisi o tradicionalnim metodama liječenja, a u Kini više od 90% bolnica ima odjele za tradicionalnu medicinu temeljenu na ljekovitim biljkama (Alamgir, 2017). Većoj potražnji doprinose i sve brojnija znanstvena istraživanja koja dokazuju djelotvornost i funkcionalna svojstva ljekovitih biljaka (Pandey i sur., 2011). Procijenjeno je da će u razdoblju od 2010. do 2020. godine prodaja biljnih i tradicionalnih proizvoda porasti sa 7,4 milijuna američkih dolara na 8,8 milijuna američkih dolara, što je porast za gotovo 19% (Statista, 2016). Prema anketi provedenoj 2015. godine u Ujedinjenom Kraljevstvu, 44% ispitanika smatralo je da su biljni

lijekovi učinkoviti pri liječenju bolesti, a 10% smatralo je kako uopće nisu učinkoviti (Statista, 2015).

2.2. Ljekoviti biljni pripravci

Kako bi se što bolje iskoristila i što duže sačuvala ljekovita svojstva biljaka, razvijene su brojne metode obrade biljaka i pripreme različitih vrsta biljnih pripravaka. Međutim, postoje brojni faktori na koje treba obratiti pažnju. Prije svega, biljke je potrebno sakupljati na pravilan način, odnosno postoji određeno godišnje doba kada se neka biljka ili pojedini njezini dijelovi beru. Cvjetovi i listovi se beru kada biljka procvate, plodovi i sjeme kada su zreli, a korijenje u proljeće ili jesen. Kod pripreme treba voditi računa o veličini biljnog materijala kako bi ekstrakcija bila pravilna i potpuna te o temperaturi vode koja se koristi ili pak o korištenju nekog drugog otapala (npr. alkohol ili ulje) ako ljekoviti sastojci nisu topivi u vodi. Također, postoji razlika u uporabi svježeg ili sušenog bilja. Sušenjem može doći do gubitka nekih sastojaka, ali se time omogućava upotreba bilja tijekom cijele godine. Osušeni dijelovi biljke ili proizvodi dobiveni od biljaka poput smola i eteričnih ulja služe kao osnova za pripravke i većinom se dalje prerađuju. Postoje brojni pripravci od ljekovitog bilja, a na našim prostorima tradicionalno se najčešće koristi biljna infuzija koja se priprema prelijevanjem biljnog materijala vrućom ili kipućom vodom.

Ostali pripravci su:

- Macerat - ekstrakt dobiven kuhanjem tvrdih dijelova, npr. korijena ili kore
 - Tinkture - dio osušene biljke se ekstrahira vodom ili alkoholom, a zatim se dalje obrađuju u gotove lijekove (kapi, sokovi, masti)
 - Uljni macerati - dobivaju se ekstrakcijom svježe ili osušene biljke, ali se kao otapalo koristi ulje (npr. maslinovo ulje ili repičino ulje)
 - Ekstrakti - dobivaju se postupkom ekstrakcije vodom ili alkoholom, a potom se uparuju do željene konzistencije; mogu biti tekući, viskozni i praškasti
 - Sirupi - dobiveni slaganjem biljnog materijala u staklenku zajedno sa šećerom, a nakon određenog vremena sirup se procijedi
 - Masti - tinkture, ekstrakti ili macerati dodaju se osnovi za mast
- (Grünwald i Jänicke, 2006).

2.2.1. Ljekoviti biljni pripravci u Europi

U Europi se svake godine proda biljnih pripravaka u vrijednosti oko 7 milijardi eura pri čemu Njemačka i Francuska čine više od dvije trećine europskog tržišta. Od 4000 poznatih europskih biljaka s ljekovitim djelovanjem njih oko 500 registrirane su kao ljekovite biljke. Polovica gotovih pripravaka sadrži ekstrakte, 30% osušene biljke ili dijelove biljke, a 20% tekuće pripravke od svježih biljaka.

Tradicionalni biljni pripravci koriste se kod bolesti dišnih puteva, probavnog i krvožilnog sustava, za izazivanje apetita, jačanje imunološkog sustava, djeluju na izmjenu tvari i poboljšanje općeg zdravstvenog stanja organizma. Aktivni sastojci ljekovitog bilja djeluju kao analgetici, antiseptici, diuretici, sedativi, stimulansi, kardiomiociti i dr. (Alamgir, 2017). U Europi se biljni pripravci najviše koriste za srčane i krvožilne bolesti, liječenje prehlade, želučanih i probavnih tegoba te kao sedativi. Deset najpopularnijih i najprodavanijih biljaka u Europi prikazane su u Tablici 1.

Tablica 1. Najpopularnije i najprodavanije biljke u Europi i njihovo djelovanje na zdravstveno stanje organizma (Grünwald i Jänicke, 2006)

| Biljka | Uporaba/djelovanje |
|--------------------------|--|
| <i>Gingko</i> | demencija i gubitak sposobnosti uzrokovan starenjem |
| <i>Gospina trava</i> | depresija, tjeskoba, nervoza, predmenstrualni sindromi, opekline |
| <i>Ginseng</i> | stres, iscrpljenost, gubitak sposobnosti uzrokovan starenjem |
| <i>Sabal palma</i> | bolesti mokraćnog sustava |
| <i>Pupavica</i> | jačanje imuniteta |
| <i>Ljekoviti odoljen</i> | nervoza, tjeskoba, poremećaji spavanja |
| <i>Češnjak</i> | arterioskleroza, visok krvni tlak, žučne bolesti |
| <i>Divlji kesten</i> | bolesti vena |
| <i>Sikavica</i> | jetrene bolesti |
| <i>Bijeli glog</i> | srčane tegobe |

2.3. Kemijski sastav ljekovitih biljaka

2.3.1 Akumulacija elemenata iz tla

Ono što biljke čini ljekovitima jest njihov kemijski sastav koji ovisi o uvjetima u kojima pojedina biljna vrsta raste, tj. o geokemijskim karakteristikama tla te o sposobnosti biljaka da selektivno akumuliraju određene elemente iz tla. Radi se o elementima koji su esencijalni za čovjeka jer ih organizam ne može sam sintetizirati, već se moraju unositi putem hrane, a važni su za normalan rast i razvoj te za svakodnevni život pošto su prisutni u sastavu brojnih enzima te tako sudjeluju u važnim biokemijskim procesima u stanicama. Neki elementi kao što su Ca, K, Mg i Na potrebni su u većim količinama kao makronutrijenti, a drugi kao što su Cu, Fe, Ni, Zn i Mn u manjim količinama kao mikronutrijenti. Međutim, ponekad prevelika količina ovih elemenata prisutnih u ljekovitom bilju može biti toksična, a mogu biti prisutni i neki teški metali (Pb, Cd, Al, Hg, Cr) pa je obavezna kontrola kvalitete biljaka i provjera njihovog podrijetla (Juranović-Cindrić i sur., 2012.).

2.3.2. Sekundarni biljni metaboliti

Osim sposobnosti selektivnoga akumuliranja elemenata iz tla, za ljekovitost pojedinih biljaka najviše je zaslužan njihov metabolizam, odnosno spojevi koji spadaju u tzv. sekundarne biljne metabolite.

Sekundarni metaboliti su spojevi koji nemaju ulogu u rastu, razvoju i primarnim biljnim procesima koji uključuju fotosintezu, stanično disanje, asimilaciju nutrijenata i transport tvari, već služe kao zaštita protiv virusa, bakterija, plijesni, drugih biljaka, UV-zračenja te biljojeda. Također služe kao antioksidansi, ali i kao signal koji privlači životinje za oprašivanje ili raznošenje sjemenki. Iako je istraženo samo 20% viših biljaka, deseci tisuća sekundarnih metabolita uspješno su izolirani i identificirani. Sekundarni metaboliti se dijele u 2 osnovne skupine, one s dušikom u koje se ubrajaju alkaloidi i terpenoidi te one bez dušika kojima pripadaju fenolni spojevi (van Wyk i Wink , 2017).

Alkaloidi su prstenasti spojevi s dušikom koji su prisutni u 20% cvjetajućih biljaka, a njihovo djelovanje usmjereno je na živčani sustav. Primarni metaboliti iz kojih nastaju su aminokiseline poput triptofana, tirozina i lizina. Neki od najpoznatijih alkaloida su kafein prisutan u kavi i čaju, morfin i kodein dobiveni iz opijuma te vinkristin i vinblastin koji se koriste u kemoterapiji (Alamgir, 2017).

Terpenoidi su građeni od terpena, a svaki terpen od dva izoprena. Ovisno o broju izoprenskih jedinica razlikuju se monoterpeni, diterpeni, triterpeni i seskviterpeni. Terpenoidi

su spojevi izvedeni od terpena u kojima je premještena ili uklonjena metilna skupina i dodan kisikov atom. Prisutni su u brojnim eteričnim uljima gdje su zaslužni za prepoznatljiv miris i aromu neke biljke, npr. geraniol, linalool i mentol, a uključuju i karotenoide koji su zaslužni za crvenu, žutu i narančastu boju voća i povrća.

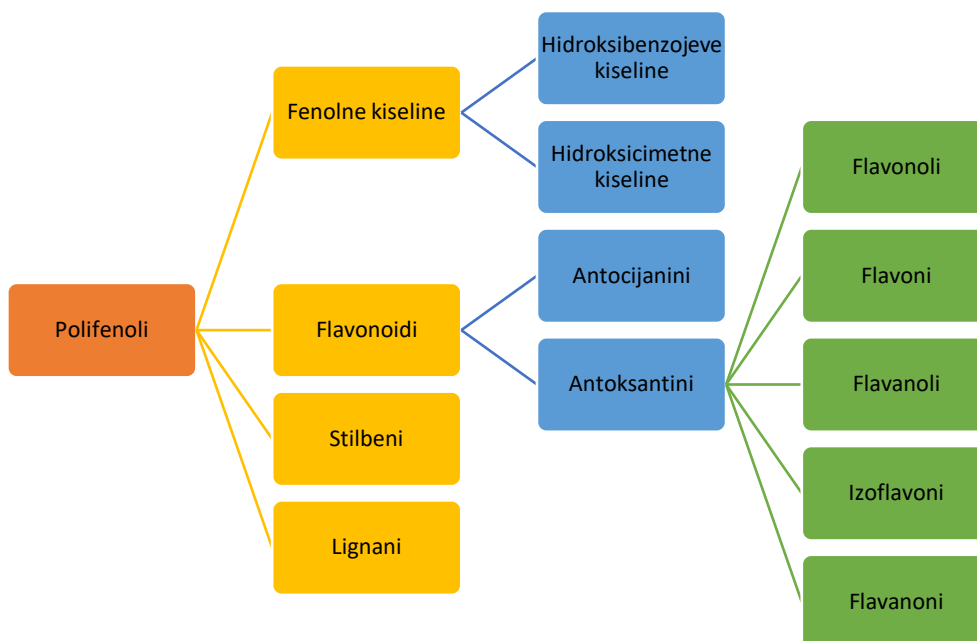
Fenolni spojevi su aromatski spojevi s jednom ili više hidroksilnih skupina vezanih na ugljikov atom benzenskoga prstena, a najjednostavniji je fenol (karbolna kiselina) građen od jednog benzenskog prstena na koji je vezana jedna hidroksilna skupina (Chikara i sur., 2011).

3. POLIFENOLNI SPOJEVI

Danas je sve izraženiji interes potrošača za tzv. funkcionalnom hranom i to najviše zbog visokog udjela polifenola u pojedinim namirnicama. Potražnja za proizvodima bogatim polifenolima raste jer imaju dokazano antioksidacijsko djelovanje, odnosno doprinose prevenciji brojnih bolesti povezanih s oksidacijskim stresom kao što su razni oblici tumora te kardiovaskularne i neurodegenerativne bolesti.

Polifenoli su veoma raznolika, heterogena skupina molekula koje se međusobno razlikuju u svojoj kemijskoj strukturi i upravo se zbog ove raznolikosti smatraju puno učinkovitijima od ostalih antioksidansa. Polifenoli pripadaju skupini fenolnih spojeva, najvećoj i najraširenijoj skupini sekundarnih biljnih metabolita čija je osnovna gradivna jedinica benzenski prsten s hidroksilnim (-OH) skupinama kao supstituentima. Prema novijim istraživanjima izraz „polifenol“ trebao bi se koristiti za sekundarne biljne metabolite nastale isključivo putem fenilpropanoida nastalog iz šikiminske kiseline i/ili putevima poliketona, a sadržava više od jednog fenolnog prstena bez funkcionalnih skupina s dušikom (Quideau i sur., 2011).

Najčešća podjela polifenola prema kemijskoj strukturi je na flavonoide, fenolne kiseline, stilbene i lignane (Slika 1).



Slika 1. Podjela polifenolnih spojeva (Han i sur., 2007)

Flavonoidi su najraširenija podskupina polifenola (od nekoliko tisuća identificiranih većina su flavonoidi), a najvažniji su flavonoli, flavanoli, flavoni, izoflavoni, antocijanidini i flavanoni. Mogu biti hidroksilirani, ali i metilirani i sulfitirani te tvoriti komplekse s oligosaharidima, lipidima, aminima, karboksilnim kiselinama, organskim kiselinama i dr. Flavonoli su najprisutniji u ljudskoj prehrani, a neki od izvora su brokula, borovnica, čaj i crno vino.

Fenolne kiseline uz benzenski prsten i hidroksilnu skupinu imaju karboksilnu skupinu, a dijele se na hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline te njihove derivate. Čine otprilike jednu trećinu fenola u ljudskoj prehrani, a prisutne su primjerice u kavi, borovnicama, šljivama, trešnjama, jabukama (klorogenska kiselina), cerealijama (ferulinska kiselina) i čaju (galna kiselina).

Stilbeni su u malim količinama prisutni u ljudskoj prehrani. U osnovnoj strukturi sadrže 1,2-difeniletlen. Najjednostavniji je *trans*-resveratrol koji posjeduje antimikrobnu aktivnost i ishodni je stilben koji se različitim modifikacijama prevodi u druge spojeve.

Lignani su polifenoli nastali od dvije fenilpropanske jedinice. Najviše ih ima u lanenim sjemenkama, a u znatno manjim količinama u nekim žitaricama, voću i povrću (Han i sur., 2007).

3.1. Polifenoli kao antioksidansi

Antioksidansi su spojevi koji u prisustvu drugog spoja sklonog oksidaciji mogu značajno usporiti ili spriječiti oksidaciju tog spoja. Prema načinu djelovanja, razlikuju se preventivni antioksidansi, koji sprječavaju sintezu reaktivnih kisikovih i dušikovih radikala, „hvatači“ slobodnih radikala, koji uklanjaju aktivne slobodne radikale prije nego što oksidiraju biološki važne molekule te regenerirajući antioksidansi, koji popravljaju oštećenja nastala zbog djelovanja slobodnih radikala (Niki, 2010). Polifenolni spojevi svojim antioksidacijskim djelovanjem sudjeluju u brojnim procesima koji uključuju neutralizaciju slobodnih radikala, keliranje metalnih iona koji sudjeluju u formiranju slobodnih radikala, inhibiranju enzima koji sudjeluju u sintezi slobodnih radikala te regeneraciji membranskih antioksidansa.

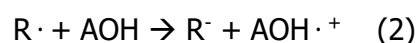
Slobodni radikali su atomi ili molekule koji u vanjskoj ljusci elektronskog omotača imaju nespareni elektron što ih čini izuzetno nestabilnima i reaktivnima, a kako bi se stabilizirali pokreću niz lančanih reakcija oksidacije u kojima nastaju novi radikali. Najčešće prisutni radikali su reaktivni spojevi kisika (engl. *Reactive Oxygen Species*, ROS) te reaktivni spojevi dušika (engl. *Reactive Nitrogen Species*, RNS). Neki od njih su superoksidni anion, hidroksilni i peroksilni radikal, vodikov peroksid te dušikov(II) oksid. Do njihovog nastanka dolazi kada u organizmu prevladavaju reakcije oksidacije u odnosu na reakcije redukcije, odnosno kada je organizam u stanju oksidacijskog stresa. Oksidacijski stres nastaje pod utjecajem radijacije, kemijskih tvari, mikroorganizama, virusa, alergena, autoimunih i kroničnih bolesti. Tijelo u ovom stanju ne može nadvladati nastale slobodne radikale što dovodi do ireverzibilnih promjena proteina, lipida, nukleinskih kiselina, a u konačnici i do poremećaja u funkciji stanice te smrti stanice (Quideau i sur., 2011).

Postoje dva osnovna mehanizma kojima polifenoli neutraliziraju slobodne radikale:

1. Prijenos atoma vodika (engl. *hydrogen-atom-transfer*, HAT) - funkcionalna skupina polifenola (AOH) donira atom vodika slobodnom radikal (R·) pri čemu sam polifenol postaje radikal (AO·) (1). Učinkovitost ovog mehanizma ovisi o brzini prijenosa vodika te o stabilnosti fenolnog radikala.



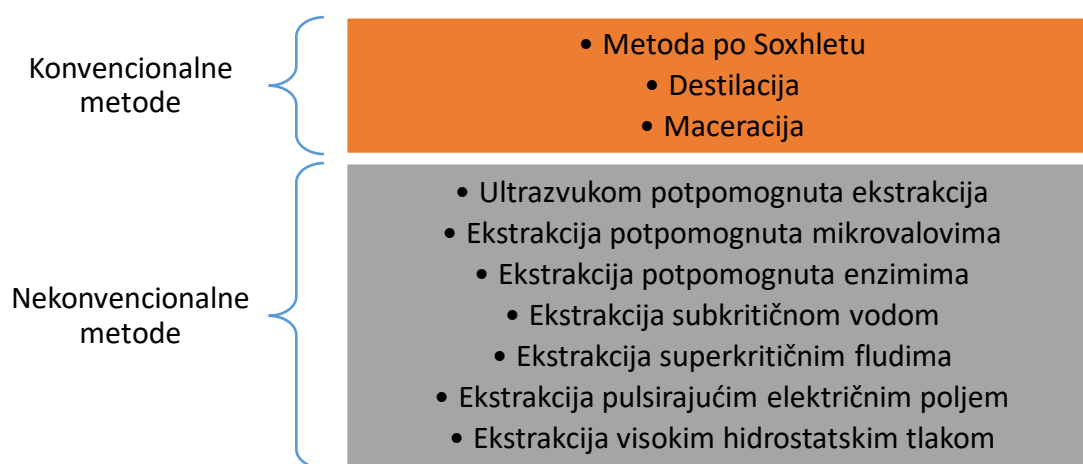
2. Prijenos elektrona (engl. *single-electron-transfer*, SET) sa polifenola na slobodni radikal pri čemu polifenol postaje radikalni kation (AOH·⁺) (2).



Faktori koji utječu na ove mehanizme tj. na antioksidacijski kapacitet polifenola su energija disocijacije OH veze (engl. *Bond Dissociation Energy*, BDE) te ionizacijski potencijal. BDE bi trebala biti niska jer to označava slabu OH vezu funkcionalne skupine, a što je ta veza slabija, prijenos protona će biti brži. Ionizacijski potencijal bi također trebao biti nizak jer je time lakši prijenos elektrona. Nastali fenolni radikal mora biti stabilan kako ne bi djelovao kao reaktivni radikal koji nastavlja kemijsku reakciju oksidacije, tj. pokreće lančane reakcije. Stabilizacija se postiže delokalizacijom slobodnih elektrona (rezonancijska stabilizacija), nastankom intramolekulskih vodikovih veza ili dodatnom oksidacijom u reakciji s drugim radikalom (Quideau i sur., 2011).

3.2. Metode ekstrakcije polifenolnih spojeva

Ekstrakcija je vrlo važan korak jer o njoj ovisi indentifikacija i kvantifikacija polifenolnih spojeva te se njome uzorak priprema za analizu. Pošto su polifenoli izrazito kompleksna i raznolika skupina spojeva koji se međusobno razlikuju u kemijskoj strukturi i polarnosti te mogu biti prisutni u različitim koncentracijama i u obliku raznih kompleksa unutar biljnog materijala, razvijene su brojne metode ekstrakcije (Plaza i sur., 2018). Na slici 2. prikazana je podjela ekstrakcijskih metoda (Azmir, 2013 ; Oreopoluou i sur., 2019).



Slika 2. Podjela ekstrakcijskih metoda

3.2.1. Konvencionalne metode

Uporaba konvencionalnih metoda temelji se na ekstrakcijskoj moći raznih otapala uz zagrijavanje i/ili miješanje. Efikasnost ovih metoda najviše ovisi o izboru otapala pri čemu je najvažniji faktor polarnost. U ove metode ubrajaju se metoda po Soxhletu, maceracija i destilacija.

Metoda po Soxhletu prvo je bila namjenjena ekstrakciji masti, a kasnije se počela upotrebljavati i za ekstrakciju drugih spojeva, prvenstveno slabo topljivih spojeva iz čvrstog matriksa. Ekstrakcija se provodi u Soxhletovoj aparaturi otapalom koje zagrijavanjem isparava, prolaskom kroz hladilo kondenzira i pada na uzorak. Kada sva količina otapala ispari, ono se putem sifona na nastavku za ekstrakciju vraća u tikvicu i ponovno isparava. (Azmir, 2013). Prednost ove metode je njena jednostavnost, niski troškovi te mogućnost dobivanja više ekstrakta nego s ostalim konvencionalnim metodama. Nedostatak je što se ekstrakcija odvija pri točki vrelišta otapala pa postoji opasnost termičke razgradnje bioaktivnih komponenti (Oreopoulou i sur., 2019).

Maceracija ili ekstrakcija kruto/tekuće je jedna od najstarijih metoda ekstrakcije, a provodi se tako što se uzorak prvo usitni kako bi se povećala ukupna dodirna površina s otapalom. Zatim se dodaje odgovarajuće otapalo i sve se ostavi u zatvorenoj posudi uz povremeno protresanje kako bi se pospješila difuzija. Nakon određenog vremena tekućina se ocijedi i filtrira od nečistoća te se uparava i koncentrira (Azmir, 2013).

Destilacija je tradicionalna metoda ekstrakcije bioaktivnih sastojaka i eteričnih ulja iz biljaka, a uključuje 3 fizikalno-kemijska procesa: difuzija, hidroliza i termička razgradnja. Postoje 3 vrste destilacije: destilacija vodom, destilacija parom te destilacija vodom i parom. Voda i vodena para glavni su faktori koji utječu na oslobađanje bioaktivnih sastojaka iz uzoraka, a njihova ekstrakcija i razdvajanje temelji se na razlici vrelišta. Nedostatak ove metode je postizanje visokih temperatura što može dovesti do razgradnje termolabilnih spojeva pa je stoga uporaba destilacije ograničena (Azmir, 2013; Oreopoulou i sur., 2019).

3.2.2. Inovativne metode

Inovativne metode ekstrakcije nastale su kao rezultat savladavanja brojnih nedostataka konvencionalnih metoda, kao što su dugotrajnost ekstrakcije, visoka cijena, čistoća otapala, gubitak velikog dijela otapala, mala selektivnost metoda te termalno razlaganje termolabilnih spojeva.

Inovativne metode nazivaju se još „zelenim metodama“ jer koriste „sigurnije“ kemikalije i kemijske reakcije, energetski su učinkovitije, održive, daju manje otpadnih produkata i sl. U ove metode ubrajaju se primjerice ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija, ekstrakcija pulsirajućim električnim poljem, ekstrakcija potpomognuta enzimima, ekstrakcija subkritičnom vodom, ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima, ekstrakcija superkritičnim fluidima i ekstrakcija visokim hidrostatskim tlakom (Azmir, 2013).

Ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija (engl. *Ultrasound Assisted Extraction*) koristi ultrazvučne valove frekvencije od 20 kHz do 2000 kHz za ekstrakciju bioaktivnih sastojaka iz biljnih stanica. Prolaskom valova ove frekvencije kroz medij dolazi do kompresije i ekspanzije što dovodi do kavitacije. Kavitacija podrazumijeva formiranje sitnih mjehurića koji rastu sve dok ne dođe do njihovog prsnuća, a oslobođena energija ubrzava proces razaranja stanica, prodiranja otapala do stanica i prijenos mase između otapala i stanica. Usitnjavanje biljnog materijala prije ekstrakcije povećava broj stanica koje su pod direktnim utjecajem kavitacije (Oreopolou i sur., 2019). Prednosti korištenja ultrazvuka za ekstrakciju su bolje prodiranje otapala do stanica, brži prijenos mase, efikasnije miješanje, veća selektivnost, niža temperatura procesa, manje opreme te laka kontrola procesa (Azmir, 2013).

Ekstrakcija pulsirajućim električnim poljem (engl. *Pulsed Electric Field Assisted Extraction*) podrazumijeva propuštanje struje (100-300 V/cm ili 20-80 kV/cm) kroz uzorak koji se nalazi između dvije elektrode u kratkim vremenskim intervalima (mikrosekunde ili milisekunde). Rezultat je reverzibilno ili ireverzibilno povećavanje permeabilnosti membrane stanice čime se povećava prijenos mase i ekstrakcija bioaktivnih komponenti, a istovremeno je skraćeno vrijeme ekstrakcije i troši se manje energije. Ova metoda ne razara staničnu stijenu što omogućava selektivnu ekstrakciju, a pogodna je i za termolabilne komponente jer ne dolazi do velikog porasta temperature (Plaza i sur., 2018).

Ekstrakcija potpomognuta enzimima (engl. *Enzyme Assisted Extraction*) koristi se jer su neki spojevi u biljnom materijalu vezani vodikovim vezama ili hidrofobnim interakcijama u složenim polisaharidnim i lignanskim strukturama čime su nedostupni otapalu prilikom uobičajenog postupka ekstrakcije. Korištenjem enzima kao što su pektinaze ili celulaze, pospješuje se oslobađanje spojeva iz tih složenih struktura, a time i njihova ekstrakcija iz stanica (Oreopolou i sur., 2019).

Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima (engl. *Microwave Assisted Extraction*) koristi elektromagnetske valove frekvencija 300 MHz do 300 GHz, a mehanizam ekstrakcije uključuje tri koraka: prvo se pod utjecajem visoke temperature i tlaka dolazi do razaranja stanične stijene te se otopljene tvari odvajaju od čvrstog matriksa, zatim slijedi difuzija otapala kroz čvrsti matriks i na kraju otopljene tvari prelaze iz matriksa u otapalo. Kako bi došlo do brzog

zagrijavanja otapala pod utjecajem mikrovalova, otapalo mora imati visoku dielektričnu konstantu pa se zbog toga voda pokazala najboljim izborom otapala za ovu metodu. Voda također može povećati polarnost drugih otapala koja se koriste za ekstrakciju polifenola (etanol, metanol, aceton) te naposljetku dielektričnu konstantu čitavog uzorka. Ova metoda ekstrakcije daje veće količine ekstrakta, a vrijeme ekstrakcije je skraćeno (Oreopoulou i sur., 2019).

Ekstrakcija superkričnim fluidima (engl. *Supercritical Fluid Assisted Extraction*) je metoda kod koje se superkrično stanje fluida postiže podvrgavanjem fluida temperaturi i tlaku iznad kritične točke fluida kada više ne postoje karakteristične plinovite i tekuće faze. Superkrični fluid je po viskozitetu, površinskoj napetosti i procesu difuzije sličan plinovima, a po gustoći i sposobnosti otapanja tvari tekućinama. Korištenje superkričnog fluida daje više ekstrakta u kraćem vremenu, selektivnost je veća nego kod tekućih otapala, a može se i reciklirati odnosno upotrebljavati više puta (Azmir, 2013). Brojna otapala se mogu koristiti u superkričnom stanju, a za ekstrakciju polifenola najčešće se koristi superkrični CO₂ u kombinaciji sa polarnim otapalima (metanol, etanol) jer pruža brojne prednosti: niska kritična točka (31 °C i 7,3 MPa), netoksičnost, nije zapaljiv ni eksplozivan, jeftin je i siguran za primjenu u hrani (Plaza i sur., 2018).

Ekstrakcija subkričnom vodom (engl. *Subcritical Water Extraction*) ubraja se i u metode ekstrakcije otapalom pod povišenim tlakom, a radi se o korištenju visokog tlaka do 10 bara i temperature 100 - 474 °C kako bi voda ostala u tekućem stanju i iznad normalne točke vrelišta. Prednosti korištenja subkrične vode kao otapala prilikom ekstrakcije su bolji prijenos mase, bolja kvaliteta i količina ekstrakta, kraće vrijeme procesa, manji troškovi te ekološka prihvatljivost. Također, ova metoda povećava topljivost, a time i ekstrakciju onih spojeva koji pri sobnoj temperaturi nisu ili su slabo topljivi u vodi (Oreopolou i sur., 2019).

Ekstrakcija visokim hidrostatskim tlakom (engl. *High Hydrostatic Pressure Assisted Extraction*) se bazira na povećanju permeabilnosti i prijenosa mase korištenjem hidrostatskog tlaka 100 - 800 MPa. Primjenom visokog tlaka nastaje diferencijalni tlak između unutrašnjosti stanice i njene okoline što dovodi do veće permeabilnosti stanice. Ovom metodom dolazi do razaranja biljnih tkiva, staničnih membrana i organela čime se povećava prijenos mase otapala u uzorak te prijenos topljivih tvari u otapalo. Primjenom visokog hidrostatskog tlaka vrijeme ekstrakcije je kraće, dobivaju se veće količine ekstrakta, a pošto se provodi pri sobnoj temperaturi, ova metoda je pogodna za termolabilne spojeve te ne utječe na strukturu i aktivnost bioaktivnih spojeva. Također, ovo je energetski učinkovit proces i uporabom različitih otapala mogu se selektivno ekstrahirati tvari različite polarnosti (Oreopoulou i sur., 2019; Plaza i sur., 2018).

4. TRAVA IVA

4.1. Osnovna obilježja

Trava iva (lat. *Teucrium montanum* L.) pripada rodu *Teucrium* (hrv. *dubačac*), porodici Lamiaceae (hrv. *usnače*) iz reda Lamiales (hrv. *medicólike*). U narodu je poznata i pod nazivima gorski cmilj, dubčac, dubačac, ivica, dučac, a strani su joj nazivi: engleski *Mountain Germander*, francuski *Germandrèe des montagnes*, njemački *Berg Gamander*, *Alpenbalsam*, *Alpengamander*, slovenski *vrednik* te talijanski *Camedrio monto* (Petrović, 2014).

Rod *Teucrium* je široko rasprostranjen u Europi, Aziji, Americi i Australiji, ali je najrasprostranjeniji na području Mediterana gdje raste 96% svih vrsta ovog roda. Na području Mediterana prisutno je 195 vrsta i podvrsta od čega 83 na Pirenejskom poluotoku, 72 na području sjeverne Afrike (Alžir i Maroko), 61 u Maloj Aziji, 41 na Balkanskom poluotoku te 23 na Apeninskom poluotoku.

Na području Balkanskog poluotoka, vrste roda *Teucrium* rasprostranjene su od obale Crne Gore na jugu sve do Panonske nizine na sjeveru te od Jadranske obale do Dinarida na iznad 1200 m nadmorske visine. Najviše vrsta raste na području Mediterana tj. uz obalna područja, a neke vrste, uključujući *T. montanum*, prisutne su i na kontinentalnim šumovitim područjima.

Većina vrsta raste na visini do 500 m nadmorske visine, a *T. montanum* je nađena i iznad 1500 m te čak na 2100 m nadmorske visine.

Rod *Teucrium* uspijeva na različitim tlima kao što su lužnata i jako lužnata tla, kisela tla, neutralna tla, tla bogata karbonatima te serpentinska tla. Međutim, uočena je preferencija za vapnenačka tla i tla dolomitskog porijekla. *T. montanum* je pronađena na kiselim tlima, serpentinskom te vapnenačkom tlu s time da preferira kamenita područja s kontinentalnom klimom i listopadne šume umjerene klime (Lakušić i sur., 2009).

T. montanum raste kao patuljasti, plegli i razgranati polugrm (Slika 3.). Listovi su uski s rubom uvijenim prema dolje, gornja strana je glatka, sjajna i tamnozeleno boje, a donja strana lista je sivo-bijele boje. Cvjetovi su blijedožute ili krem boje, jednousnati i gusto zbijeni u vršnom dijelu biljke (Slika 3.). Tijekom berbe, sakuplja se nadzemni dio u fazi cvjetanja od kraja lipnja do kolovoza. Spada u skupinu vrlo dobrih medonosno-peludonosnih biljaka (250 – 500 kg meda ha⁻¹). Primjenjuje se u narodnoj medicini za izradu ljekovitih pripravaka te u prehrani kao začim ili za pripremu gorkih napitaka i čajeva. Koristi se kao sredstvo za jačanje imuniteta, liječenje želučanih i probavnih tegoba, bolesti žučnog mjehura i žučnih puteva, kao diuretik, za bolesti dišnog sustava, bolesti usta i grla, liječenje apscesa i konjunktivitisa, a također ima i protuupalna, antioksidacijska, antimikrobna i antihelmnična svojstva te

pospješuje razgradnju masnih stanica (Dajić-Stevanović i sur., 2013; Stanković i sur., 2011; Stanković i sur., 2012; Petrović, 2014).



Slika 3. Trava iva (lat. *Teucrium montanum* L.) (Chenais, 2010; Dajić-Stevanović i sur. 2013)

4.2. Bioaktivni sastav *T. montanum*

Bioaktivne komponente koje su do sada identificirane u *T. montanum* uključuju polifenolne spojeve među kojima se ističu fenolne kiseline i flavonoidi te terpenoidi koji su odgovorni za različita antioksidacijska, antimikrobna i biološka svojstva ekstrakta i eteričnih ulja ekstrahiranih iz *T. montanum*.

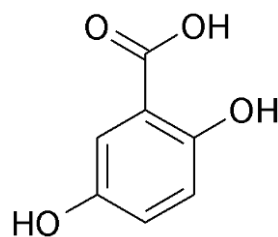
4.2.1. Sastav polifenola i antioksidacijski kapacitet

Prema rezultatima istraživanja koje su proveli Stanković i suradnici (2011), a u kojemu su pripremljeni i analizirani različiti ekstrakti cijele biljke i dijelova biljke (listovi, cvjetovi i stabljike) *T. montanum*, ekstrakcijska učinkovitost polifenola ovisi o korištenom otapalu, ali i o dijelu biljke koji se koristi za ekstrakciju. Naime, korištenjem polarnog otapala, najviše polifenola ekstrahirat će se iz listova, a u slučaju nepolarnog otapala iz stabljike. Za ekstrakciju ukupnih polifenola iz *T. montanum* najboljim su se pokazala polarna otapala te su najveći udjeli određeni u metanolnom ekstraktu cijele biljke (169,06 mg GAEg⁻¹ s.tv.) te u vodenom ekstraktu listova (154,81 mg GAEg⁻¹ s.tv.) koji je pokazao više ukupnih polifenola nego vodeni ekstrakti *Camelie sinensis* i *Gingko Bilobe* koji su poznati po svojim antioksidacijskim učincima. Najveći udio flavonoida određen je u acetonskim ekstraktima listova (88,31 mg rutina g⁻¹ s.tv.) i etil acetatnim ekstraktima (58,40 mg RUg⁻¹ s.tv.) što ukazuje da su za ekstrakciju flavonoida

najprikladnija umjereno polarna otapala. Najveći antioksidacijski kapacitet *in vitro* zapazili su kod uzoraka s najvećim udjelom polifenola, posebno vodenih ekstrakata koji su neutralizirali 50% slobodnih radikala (DPPH metoda) pri udjelui od 29,41 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Ovi uzorci imali su sličan antioksidacijski kapacitet kao *Camelia sinensis*, a u usporedbi s *Gingko bilobom* imali su veći antioksidacijski kapacitet.

Stanković i suradnici (2012) određivali su ukupne polifenole i flavonoide u ekstraktima 7 vrsta roda *Teucrium* (*T. chamaedrys*, *T. montanum*, *T. arduini*, *T. polium*, *T. scordium* podvrsta *scordium*, *T. scordium* podvrsta *scordioides* i *T. botrys*) pripremljenima u metanolu, acetonu i etilnom acetatu. Najviše ukupnih polifenola odredili su u metanolnim ekstraktima, a u ekstraktu *T. montanum* odredili su 149,16 mg CAg^{-1} (ekvivalent klorogenske kiseline). Od svih uzoraka *T. montanum*, najviše flavonoida odredili su u ekstraktu pripremljenom u acetonu (48,55 mg RUg^{-1}).

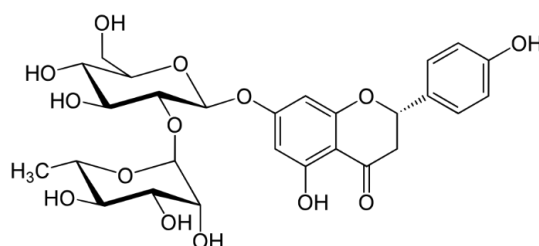
Tumbas i suradnici (2004) određivali su ukupne polifenole te su identificirali i kvantificirali fenolne kiseline u ekstraktima *T. montanum* pripremljenima u petroleteru, kloroformu, etilnom acetatu, 1-butanolu i vodi. Ekstrakt pripremljen u 1-butanolu imao je najviše ukupnih polifenola (296,00 mgg^{-1}), a petroleterni uzorak nije sadržavao fenolne spojeve. HPLC analizom ekstrakata identificirali su derivate hidroksibenzojeve kiseline (galna, protokatehinska, vanilinska, siringinska i gentisična kiselina) te hidroksicimetne kiseline (klorogenska, *p*-kumarinska, ferulinska, kafeinska kiselina i 3,5-dimetoks-4-hidroksicimetna kiselina) kako je prikazano u Tablici 2. Najveće udjele odredili su u ekstraktima pripremljenima etilnim acetatom (28,619 mgg^{-1}), a najviše je zastupljena bila gentisična kiselina (14,432 mgg^{-1}) čija je struktura prikazana na Slici 4. Unatoč visokom udjelu fenolnih spojeva 1-butanolni ekstrakt sadržavao je samo 3,740 mgg^{-1} fenolnih kiselina. Ovi rezultati ukazuju na važnost odabira otapala odgovarajuće polarnosti za ekstrakciju određene skupine polifenola pri čemu se etilni acetat pokazao najprikladnijim za ekstrakciju fenolnih kiselina.



Slika 4. Gentisična kiselina (Hoffmeier, 2006)

Nastić i suradnici (2018) analizirali su polifenolni sastav ekstrakta *T. montanum* dobivenog ekstrakcijom subkritičnom vodom. Pri optimalnim uvjetima (160 °C i 10 bar) dobili

su ekstrakt s 174,61 mg GAEg⁻¹ ukupnih polifenola. HPLC analiza pokazala je kako je flavanon naringin (Slika 5.) činio 49% ukupnih polifenola, a galna kiselina 17% ukupnih polifenola. Ostali flavonoidi koje su identificirali bili su katehin i epikatehin iz skupine flavan-3-ola te rutin iz skupine flavonola (Tablica 2). Najveći antioksidacijski kapacitet određen je u ekstraktu pripremljenom pri 160 °C i 10 bara, odnosno pri jednakim uvjetima kod kojih su odredili najviše ukupnih polifenola, a povećanjem temperature iznad 160 °C isti se smanjio zbog termičke razgradnje polifenola. DPPH metodom detektirali su antioksidacijski kapacitet od 176,23 mg TEg⁻¹ (Trolox ekvivalent), a FRAP metodom 141,31 mg AAEg⁻¹ (ekvivalent askorbinske kiseline).



Slika 5. Naringin (Anonymous 1, 2006)

Tablica 2. Sastav fenolnih kiselina i flavonoida u *Teucrium montanum*

| Derivati hidroksibenzojeve kiseline | | | | | |
|--|--|---|--|---|----------------------|
| <i>Galna kiselina</i> | <i>Gentisična kiselina</i> | <i>Protokatehinska kiselina</i> | <i>Vanilinska kiselina</i> | <i>Siringinska kiselina</i> | <i>Referenca</i> |
| 0,132 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | 14,432 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | 1,337 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | 1,944 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | 4,588 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | Tumbas i sur. (2004) |
| 3,45 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | / | 1,17 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | 0,453 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | / | Nastić i sur. (2018) |
| Derivati hidroksicimetne kiseline | | | | | |
| <i>Klorogenska kiselina</i> | <i>Kafeinska kiselina</i> | <i>p-kumarinska</i> | <i>Ferulinska kiselina</i> | <i>3,5-dimetoksi-4-hidroksicimetna kiselina</i> | <i>Referenca</i> |
| 3,076 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | 0,515 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | 1,794 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | 0,811 mgg ⁻¹ s.tv. ^a | 0,252 mgg ⁻¹ s.tv. ^b | Tumbas i sur. (2004) |
| 0,799 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | 0,560 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | / | 0,489 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | / | Nastić i sur. (2018) |
| Flavonoidi | | | | | |
| <i>(+)-Katehin</i> | <i>Epikatehin</i> | <i>Naringin</i> | <i>Rutin</i> | <i>Referenca</i> | |
| 1,15 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | 1,20 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | 9,96 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | 1,25 mgg ⁻¹ s.tv.e. ^c | Nastić i sur. (2018) | |

s.tv.= suha tvar uzorka; s.tv.e.=suha tvar ekstrakta;

a=određeno u etil acetatnom ekstraktu; b=određeno u 1-butanol ekstraktu; c=ekstrakcija subkritičnom vodom

Zlatic i suradnici (2017) određivali su ukupne polifenole, flavonoide i antioksidacijski kapacitet metanolnih ekstrakata i uzoraka nadzemnih dijelova *T. montanum* prikupljenih na vapnenačkim i serpentinskim staništima. Rezultati su pokazali veći udio ukupnih polifenola i veći antioksidacijski kapacitet u uzorcima prikupljenima na serpentinskim staništima. U metanolnim ekstraktima sa serpentinskih staništa udjeli ukupnih polifenola iznosili su 160,21-190,20 mg GAg⁻¹, flavonoida 53,82-54,19 mg RUg⁻¹, a antioksidacijski kapacitet iznosio je 47,99-53,91 μgmL⁻¹. U ekstraktima s vapnenačkih staništa udjeli ukupnih polifenola iznosili su 143,42 i 148,21 mg GAg⁻¹, flavonoida 46,50 i 49,53 mg RUg⁻¹, a antioksidacijski kapacitet iznosio je 60,30 i 61,99 μgmL⁻¹. U uzorcima nadzemnih dijelova sa serpentinskih staništa udjeli ukupnih polifenola iznosili su 44,07-66,52 mg GAg⁻¹, flavonoida 19,07-20,90 mg RUg⁻¹, a antioksidacijski kapacitet iznosio je 177,99-263,07 μgmL⁻¹. U uzorcima s vapnenačkih staništa udjeli ukupnih polifenola iznosili su 31,11 i 39,63 mg GAg⁻¹, flavonoida 15,38 i 17,57 mg RUg⁻¹, a antioksidacijski kapacitet iznosio je 302,56 i 315,98 μgmL⁻¹. Također su analizirali udio metala u tlu, a rezultati su pokazali kako su serpentinska tla sadržavala više Mg, Fe, Ni, Mn i Cr dok su vapnenačka tla sadržavala više Ca, Zn i Pb. Vrijednosti ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidacijskog kapaciteta bile su veće kod uzoraka sa serpentinskih staništa upravo zbog većeg udjela pojedinih metala. Naime, povećana sinteza polifenola način je na koji se biljka brani od štetnog utjecaja visokog udjela metala.

Prema Vujanoviću i suradnicima (2018) ukupni polifenoli u ekstraktu *T. montanum*, dobivenom ekstrakcijom potpomognutom mikrovalovima, iznosili su 73,60 mg GAEG⁻¹, a ukupni flavonoidi 65,31 mg RUg⁻¹, računato na masu suhog ekstrakta. ABTS metodom utvrđen je antioksidacijski kapacitet 74,29 mg TEg⁻¹, CUPRAC metodom 125,91 mg TEg⁻¹, fosfomolibden metodom 1,09 mmol TEg⁻¹, a metodom keliranja metala 1,38 mg EDTAg⁻¹.

Panovska i suradnici (2005) odredili su sastav flavonoida i antioksidacijski kapacitet ekstrakata *T. montanum*, *T. polium* i *T. chamaedrys* pripremljenih u dietil-eteru, etilnom acetatu i *n*-butanolu. U *T. montanum* odredili su ukupno 0,15% flavonoida, što je bilo manje od uzoraka *T. polium* (0,20%) i *T. chamaedrys* (0,18%). Antioksidacijski kapacitet odredili su *in vitro* DPPH metodom, testom obezbojenja β-karotena i metodom „hvatanja“ hidroksilnog radikala, a prema dobivenim rezultatima uzorci *T. montanum*, unatoč najmanjem udjelu flavonoida, pokazali su veći antioksidacijski kapacitet od uzoraka *T. polium*. Ovi rezultati ukazuju da udio flavonoida nije jedini uvjet za veći antioksidacijski kapacitet, već postoji mogući sinergizam flavonoida s ostalim spojevima prisutnim u ekstraktima.

Jurišić Grubešić i suradnici (2012) određivali su ukupne polifenole, tanine, β-sitosterol i vrijednosti gorčine u uzorcima samoniklih i kultiviranih vrsta roda *Teucrium* (*T. arduini*, *T. botrys*, *T. chamaedrys*, *T. flavum*, *T. montanum*, *T. polium* i *T. scordium*). Ukupne polifenole

i tanine odredili su spektrofotometrijski, a veće vrijednosti dobivene su kod uzoraka samoniklih vrsta. Uzorak *T. montanum* pokazao je najveći udio polifenola (13,68%) i tanina (3,48%). Prema rezultatima, između uzoraka samoniklih i kultiviranih vrsta nije bilo značajne razlike u udjelu β -sitosterola i vrijednosti gorčine. Najviše β -sitosterola odredili su u uzorku *T. montanum* (0,056%), a vrijednost gorčine je također bila najveća u uzorku *T. montanum* (15659).

4.2.2. Eterična ulja i sastav terpenoida

Eterična ulja predmet su brojnih istraživanja jer pokazuju izrazitu biološku aktivnost koja omogućuje njihovu široku primjenu. Ona pokazuju antimikrobna, antiviralna, antiparazitska i insekticidna svojstva, a primjenjuju se u razvoju otpornosti na bolesti i insekte.

Bezić i suradnici (2011) analizirali su sastav eteričnog ulja *T. montanum* ekstrahiranog vodenom destilacijom (Tablica 3). Ekstrakcijski prinos iznosio je 0,4% eteričnog ulja na ukupnu suhu tvar uzorka, a glavne sastavnice ulja bili su seskviterpeni germakren D (17,2%) i β -kariofilen (7,1%) te monoterpeni β -pinen (12,3%) i limonen (4,6%).

Vuković i suradnici (2007) također su proveli analizu sastava eteričnog ulja *T. montanum* ekstrahiranog vodenom destilacijom te zabilježili prinos od 0,47% eteričnog ulja na ukupnu suhu tvar uzorka, a identificirano je 45 spojeva (Tablica 3). Glavne komponente ulja su bili seskviterpeni δ -kadinen (17,19%) i β -selinen (8,16%). Od ostalih spojeva u značajnijem udjelu bili su prisutni seskviterpeni α -kalakoren (4,97%), kariofilen (4,35%), kopaen (4,23%), δ -kadinol (3,91%), γ -kurkumen (3,18%) i monoterpenski alkohol 4-terpineol (3,90%), dok su ostali identificirani terpenodi bili prisutni u tragovima.

Kovačević i suradnici (2001) analizirali su sastav eteričnih ulja različitih *Teucrium* vrsta metodom plinske kromatografije u kombinaciji s masenom spektrometrijom. Identificirali su preko 60 spojeva, a u eteričnom ulju *T. montanum* bilo je najviše terpenoida α -pinena (12,4%), germakrena D (15,0%) i β -eudesmola (10,1%) (Tablica 3).

Malakov i suradnici (1992) proveli su analizu terpenoida prisutnih u nadzemnim dijelovima *T. montanum* te su uspješno izolirali i identificirali diterpenoide 19-acetilgnafalin, montanin B, D, E i H te teubotrin.

Tablica 3. Sastav terpenoida (%) *T. montanum*

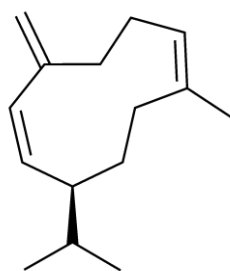
| Monoterpenski ugljikovodici | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|--------------------|---------------------------|---------|-------------------------------|---------------|--------------------|-------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|
| <i>α</i> -Pinen | <i>β</i> -pinen | | Mircen | <i>(Z)</i> - <i>β</i> -Ocimen | | Limonen | <i>α</i> -tujene | Terpinolen | Referenca | | | | |
| 1,9 | 12,3 | | 4,2 | 0,8 | | 4,6 | / | 0,6 | Bezić i sur. (2011) | | | | |
| 12,4 | 4,8 | | 0,3 | 0,2 | | 1,8 | 0,2 | / | Kovacevic i sur. (2001) | | | | |
| tr. | / | | / | / | | / | / | / | Vuković i sur. (2006) | | | | |
| Oksigenirani monoterpeni | | | | | | | | | | | | | |
| Linalool | <i>β</i> -tujon | <i>trans</i> -pinokarveol | Kamfhor | Borneol | Terpinen-4-ol | Mirtenol | Mirtenal | Bornil acetat | Linalil acetat | <i>α</i> -Terpeni / acetat | Referenca | | |
| 3,6 | 0,3 | 1,2 | 1,3 | 1,6 | 1,5 | 1,2 | / | 0,2 | 0,5 | 1,0 | Bezić i sur. (2011) | | |
| / | / | / | 0,2 | / | / | / | / | / | / | 0,2 | Kovacevic i sur. (2001) | | |
| / | / | / | / | / | 3,9 | / | 0,98 | / | / | / | Vuković i sur. (2006) | | |
| Seskviterpenski ugljikovodici | | | | | | | | | | | | | |
| <i>α</i> -kubeben | <i>β</i> -burbonen | <i>α</i> -kopaen | Kopaen | <i>β</i> -kariofilen | Kariofilen | <i>β</i> -farnesen | Germakren D | Germacren B | <i>β</i> -selinen | <i>β</i> -bisabolen | <i>γ</i> -kadinen | <i>δ</i> -cadinen | Referenca |
| / | 3,4 | / | / | 7,1 | / | 2,9 | 17,2 | / | / | 1,8 | / | 2,7 | Bezić i sur. (2011) |
| 0,2 | 1,9 | 0,5 | / | 6,9 | / | 0,2 | 15,0 | 0,3 | 1,2 | / | 4,1 | 4,5 | Kovacevic i sur. (2001) |
| 0,78 | / | 1,14 | 4,23 | / | 4,35 | 1,76 | / | / | 8,16 | 0,71 | / | 17,19 | Vuković i sur. (2006) |
| Oksigenirani seskviterpeni | | | | | | | | | | | | | |
| Spatulenol | | | Torejol | Kariofilen oksid | Viridiflorol | <i>α</i> -kadinol | <i>τ</i> -kadinol | Referenca | | | | | |
| 1,9 | | | / | 1,0 | / | 2,2 | / | Bezić i sur. (2011) | | | | | |
| 1,1 | | | / | 2,6 | 0,2 | 3,5 | / | Kovacevic i sur. (2001) | | | | | |
| / | | | 3,91 | / | / | / | 3,12 | Vuković i sur. (2006) | | | | | |

4.3. Antimikrobna aktivnost

Biljke su se pokazale kao bogati izvor raznih antimikrobnih tvari koje uništavaju patogene mikroorganizme ili inhibiraju njihovo razmnožavanje. Ovisno o vrsti mikroorganizma kojega uništavaju, antimikrobne tvari dijele se na antibakterijske, antiviralne, antifungalne i antineoplastične te utječu na permeabilnost membrana, odvijanje enzimskih reakcija i inhibiciju translacije proteina (Stanković i sur., 2012). U usporedbi sa sintetičkim antimikrobnim tvarima, one biljnoga podrijetla ne utječu na razvoj rezistencije mikroorganizama prilikom njihove primjene. Sekundarni metaboliti, posebno polifenolni spojevi i terpenoidi, koji su u značajnim udjelima prisutni u *T. montanum*, zaslužni su za antimikrobnu aktivnost ekstrakata i eteričnog ulja.

Antimikrobnu aktivnost eteričnog ulja i metanolnog ekstrakta *T. montanum* istražili su Vuković i suradnici (2007), a prema dobivenim rezultatima eterično ulje pokazalo je snažno antimikrobno djelovanje prema Gram-pozitivnim (*Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) i Gram-negativnim bakterijama (*Klebsiella pneumoniae*, *Azotobacter chlorococcum*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas phaseolicola*, *Pseudomonas fluorescens*), kao i prema nekim vrstama plijesni (*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium canescens*). Antimikrobno djelovanje pripisuje se terpenoidima i fenolnim spojevima koji su identificirani u eteričnom ulju. Metanolni ekstrakt pokazao je slabiju antimikrobnu aktivnost od eteričnog ulja što proizlazi iz manjeg udjela terpenoida.

Bezić i suradnici (2011) ispitali su antifitoviralno djelovanje eteričnih ulja različitih *Teucrium* vrsta na mozaičan virus krastavca (engl. *Cucumber Mozaic Virus* – CMV). Rezultati su pokazali kako je esencijalno ulje *T. montanum*, među svim ispitivanim vrstama, najviše smanjilo infekciju CMV virusom (44,3%). Antiviralnu aktivnost pripisali su terpenoidima β -kariofilenu, germakrenu D (Slika 6.), β -pinenu i limonenu koji su u eteričnom ulju bili prisutni u visokim udjelima.



Slika 6. Germakren D (Anonymous 2, 2009)

Stanković i suradnici (2012) istražili su antimikrobnu aktivnost ekstrakata *T. montanum* pripremljenih u metanolu, acetonu i etilnom acetatu, a rezultati su pokazali najbolju aktivnost metanolnih ekstrakata, posebno naspram bakterija *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Aspergillus niger*. Također su uočili kako su uzorci pokazivali veću antibakterijsku nego antifungalnu aktivnost, što potvrđuju i Djilas i suradnici (2006) koji su također uočili aktivnost prema *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*, ali ne i prema kvascima *Saccharomyces cerevisiae* i *Candida pseudotropicalis*. U oba istraživanja najveća antimikrobna aktivnost zapažena je u uzorcima s najvećim udjelom polifenolnih spojeva što ukazuje na njihovu ulogu u antimikrobnoj aktivnosti. Rezultati istraživanja prema Stankoviću i suradnicima (2012) te Djilas i suradnicima (2006), izraženi kao minimalna koncentracija inhibicije (engl. Minimal Inhibitory Concentration – MIC) i minimalna mikrobicidna koncentracija (engl. Minimal Microbicidal Concentration – MMC), prikazani su u Tablici 4.

Tablica 4. Antibakterijska i antifungalna aktivnost ekstrakata *T. montanum*

| Ekstrakt | <i>E. coli</i> ATCC 25922 | | <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | | <i>E. coli</i> | | <i>S. aureus</i> | | <i>P. euruginosa</i> | | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | | <i>C. albicans</i> | | <i>A. niger</i> | | <i>S. lutea</i> | | <i>Bacillus</i> <i>sp.</i> | | Referenca |
|-------------------|---------------------------------|-----|-----------------------------------|------|----------------|-----|------------------|-----|----------------------|-----|-------------------------------------|-----|--------------------|-----|-----------------|-----|-----------------|-----|-------------------------------|-----|-------------------------------|
| | MIC | MMC | MIC | MMC | MIC | MMC | MIC | MMC | MIC | MMC | MIC | MMC | MIC | MMC | MIC | MMC | MIC | MMC | MIC | MMC | |
| Metanol | 5 | 5 | 0,15 | 0,3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 2,5 | 5 | >20 | >20 | >20 | >20 | >20 | >20 | / | / | / | / | Stanković i sur. (2012) |
| Aceton | 10 | 10 | 0,15 | 0,15 | 20 | 20 | 10 | 10 | 5 | >20 | >20 | >20 | >20 | 20 | 20 | / | / | / | / | | |
| Etilni acetat | >10 | >10 | 0,3 | 0,3 | >10 | >10 | >10 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | / | / | / | / | | |
| Petroleter | / | / | / | / | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | / | / | / | / | / | / | 10 | >10 | 7,5 | 10 | Djilas i sur. (2006) |
| Kloroform | / | / | / | / | 10 | >10 | 5,0 | 5,0 | 10 | 10 | / | / | / | / | / | / | 10 | >10 | 10 | >10 | |
| <i>n</i> -butanol | / | / | / | / | >10 | >10 | 1,0 | 2,5 | 2,5 | 5,0 | / | / | / | / | / | / | 10 | >10 | 7,5 | 10 | |

MIC=minimalna koncentracija inhibicije (engl. Minimal Inhibitory Concentration – MIC)

MMC=minimalna mikrobicidna koncentracija (engl. Minimal Microbicidal Concentration – MMC)

MIC i MMC vrijednosti izražene su u mgmL⁻¹

4.3. Biološka aktivnost

Uz antimikrobnu aktivnost koja proizlazi iz sastava terpenoida eteričnog ulja, biološka aktivnost *T. montanum* najviše proizlazi iz visokog udjela polifenola, posebno iz skupine flavonoida, koji djeluju kao antioksidansi u borbi protiv oksidacijskog stresa izazvanog djelovanjem slobodnih radikala. Međutim, visoke vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta dobivene *in vitro* istraživanjima ne znače nužno i jednaku aktivnost *in vivo*. Kako bi mogli djelovati kao antioksidansi, polifenoli se moraju apsorbirati, transportirati, distribuirati i zadržati u biološkim tekućinama, tkivima i stanicama. Neki antioksidansi, pa tako i polifenoli, pod utjecajem metabolizma mogu proći kroz reakcije biotransformacije te djelovanjem enzima konjugiraju sa sulfatnim, metilnim ili glukuronidnim skupinama čime se smanjuje njihova antioksidacijska aktivnost u organizmu. Kako bi se odredila efikasnost djelovanja polifenola *in vivo*, potrebno je pratiti stupanj oksidacije u biološkim tekućinama i tkivima, kao što su krvna plazma, urin, eritrociti, cerebrospinalna tekućina, slina i suze. Biomarkeri su neophodni kako bi se odredio stupanj oksidacije, a neki od najvažnijih biomarkera koji se koriste u tu svrhu su produkti oksidacije lipida, proteina, šećera i dušičnih baza DNA (Niki, 2010).

Polifenoli prisutni u *T. montanum* pokazali su potencijal u razvoju novih terapija za liječenje nekih vrsta tumora. Nikodijević i suradnici (2016) uočili su citotoksičnost i utjecaj na apoptozu (programiranu staničnu smrt) metanolnog ekstrakta *T. montanum* na stanice raka dojke i raka debelog crijeva, a ovaj učinak se najviše pripisuje polifenolima iz skupine flavonoida.

Vujanović i suradnici (2018) istražili su sposobnost inhibicije enzima i citotoksičnost uzoraka ljekovitih biljaka među kojima je bio i uzorak *T. montanum*. Inhibicija α -amilaze iznosila je $0,58 \text{ mmol ACAEg}^{-1}$ (ekvivalenti akarboze), α -glukozidaze $4,55 \text{ mmol ACAEg}^{-1}$ te tirozinaze $4,62 \text{ mg KAEg}^{-1}$ (ekvivalenti kojične kiseline). Citotoksična aktivnost (IC_{50} vrijednost) naspram stanica karcinoma vrata maternice iznosila je $34,35 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, stanica mišjeg fibroblasta $18,37 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, a stanica ljudskog rabdomyosarkoma $13,45 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Da bi neka tvar bila citotoksična, IC_{50} vrijednost mora biti manja od $30 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ te je prema tom kriteriju uzorak *T. montanum* bio citotoksičan naspram stanica mišjeg fibroblasta i rabdomyosarkoma.

Milošević-Djordjević i suradnici (2013) proveli su istraživanje o genotoksičnom potencijalu metanolnih ekstrakata *T. chamaedrys* i *T. montanum* koristeći mikronukleus (MN) test na limfocitima ljudske periferne krvi. Prema rezultatima, ekstrakt *T. montanum* značajno je povećao broj mikronukleusa samo pri koncentraciji $1000 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, a pri koncentraciji $125 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ smanjio je rast broja mikronukleusa induciran mitomicinom C (kemoterapijsko

sredstvo). Također, ekstrakt *T. montanum* je pri koncentracijama 125, 250, 500 i 1000 µg mL⁻¹ značajno smanjio indeks diobe jezgre u odnosu na stanice tretirane mitomicinom C.

4.4. Potencijal u prehrambenoj industriji

S obzirom na to da su prethodno opisana istraživanja pokazala kako je *T. montanum* izrazito bogata polifenolnim spojevima, posebno iz skupina fenolnih kiselina i flavonoida, ali i terpenoidima, može se zaključiti kako posjeduje izrazit potencijal za primjenu u medicini i farmaceutskoj industriji te u prehrambenoj industriji kao izvor antioksidansa ili kao antimikrobni agens. Međutim, polifenoli su prilično nestabilni i podložni degradaciji kada su izloženi nepovoljnim uvjetima tijekom proizvodnje i skladištenja, osjetljivi su na kisik, svjetlost, vlagu i toplinu. Također, uporaba je često ograničena zbog njihove slabe topljivosti i biodostupnosti, brzog otpuštanja u organizmu te gorkog i trpkog okusa. Zbog ovih se nedostataka u prehrambenoj industriji primjenjuju u obliku nanoemulzija, jestivih filmova ili u inkapsuliranom obliku (Fang i Bhandari, 2010; Popović i sur., 2019).

5. ZAKLJUČCI

1. Prema dostupnim podacima o bioaktivnom sastavu i biološkoj aktivnosti, trava iva (*Teucrium montanum* L.) izuzetno je bogata polifenolnim spojevima, posebice flavonoidima i fenolnim kiselinama te terpenoidima, a udio istih ovisi o geografskom podrijetlu biljke, kao i o metodi ekstrakcije.
2. Visok udio polifenola odgovoran je za izraženo antioksidacijsko djelovanje ekstrakata trave ive *in vitro*.
3. Visok udio terpenoida u eteričnom ulju trave ive odgovoran je za antimikrobnu, posebice antibakterijsku i antiviralnu aktivnost.
4. Potrebna su daljnja istraživanja bioaktivnog sastava i biološke aktivnosti trave ive, posebice *in vivo*, koja bi omogućila njezinu primjenu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.

6. POPIS LITERATURE

- Alamgir A.N.M. (2017) Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Volume 1. Progress in Drug Research, Springer International Publishing, str. 2-3 ; 70.
- Anand U., Jacobo-Herrera N., Altemimi A., Lakhssassi N. (2019) A Comprehensive Review on Medicinal Plants as Antimicrobial Therapeutics: Potential Avenues of Biocompatible Drug Discovery. *Metabolites* **9**: 258-271.
- Anonymous 1 (2006), dostupno na <<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Naringin.svg>> Pristupljeno 22. lipnja 2020.
- Anonymous 2 (2009), dostupno na <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Germacrene_D_chemical_structure.png&oldid=99584744> Pristupljeno 22. lipnja 2020.
- Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N , Omar A.K.M. (2013) Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* **117**: 426-436.
- Bezić N., Vuko E., Dunkić V., Ruščić M., Blažević I., Burčul F. (2011) Antiphytoviral Activity of Sesquiterpene-Rich Essential Oils from Four Croatian Teucrium Species. *Molecules* **16**: 8119–8129.
- Chenais G. (2010), *Teucrium montanum* [Slika], dostupno na <<http://www.fleurs-des-montagnes.net/T/T1.htm#03>> Pristupljeno 6. svibnja 2020.
- Dajić Stevanović Z., Stešević D., Pljevljakušić D. (2013) Regionalni priručnik za sakupljače ljekovitog bilja. 1. izd., općina Plužine i općina Ljubvija. str. 80.
- Djilas S. M., Markov S. L., Cvetković D. D., Čanadanović-Brunet J. M., Četković G. S., Tumbas V. T. (2006) Antimicrobial and free radical scavenging activities of *Teucrium montanum* *Fitoterapia* **77**: 401-403.
- Fang Z. i Bhandari B. (2010) Encapsulation of Polyphenols- A Review. *Trends in Food Science & Technology* **21**: 510-523
- Grünwald J. i Jänicke C. (2006) Zelena ljekarna, 1. izd., Mozaik knjiga. str. 49-58; 64-67.
- Han X., Shen T., Lou H. (2007) Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences* **8**: 950–988.

- Hoffmeier K. (2006) Chemical structure of gentisic acid [Slika], dostupno na <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gentisic_acid.png#filelinks> Pristupljeno 22. lipnja 2020.
- Juranović Cindrić I., Zeiner M., Glamuzina E., Stingeder G. (2012) Elemental characterisation of the medical herbs *Salvia officinalis* L. And *Teucrium montanum* L. grown in Croatia. *Microchemical Journal* **107**: 185-189.
- Jurišić Grubešić R., Kremer D., Vladimir-Knežević S. i Rodríguez J. (2012) Analysis of polyphenols, phytosterols, and bitter principles in *Teucrium* L. species. *Open Life Sciences* **7**: 542-550.
- Kovacevic N. N. , Lakusic B. S., Ristic M. S. (2001) Composition of the Essential Oils of Seven *Teucrium* Species from Serbia and Montenegro. *Journal of Essential Oil Research* **13**: 163-165.
- Lakušić B., Stevanović B., Jančić R., Lakušić D. (2009) Habitat-related adaptations in morphology and anatomy of *Teucrium* (Lamiaceae) species from the Balkan peninsula (Serbia and Montenegro) *Flora* **205**: 633-646.
- Malakov P.Y., Papanov G.Y., Boneva I.M. (1992) Neo-clerodane Diterpenoids from *Teucrium Montanum*. *Phytochemistry* **31**: 4029-4030.
- Milošević-Djordjević O., Stošić I., Stanković M., Grujičić D. (2013) Comparative study of genotoxicity and antimutagenicity of methanolic extracts from *Teucrium chamaedrys* and *Teucrium montanum* in human lymphocytes using micronucleus assay. *Cytotechnology* **65**: 863–869.
- Nastić N., Švarc-Gajić J., Delerue-Matos C., Morais S., Barroso M. F., Moreira M. M. (2018) Subcritical water extraction of antioxidants from mountain germander (*Teucrium montanum* L.). *The Journal of Supercritical Fluids* **138**: 200-206.
- Niki E. (2010) Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine* **49**: 503-515.
- Nikodijević D., M. Milutinović, D. Cvetković, M. Stanković, M. N. Živanović, S. Marković (2016) Effects of *Teucrium polium* L. and *Teucrium montanum* L.: Extracts on mechanisms of apoptosis in breast and colon cancer cells. *Kragujevac Journal of Science* **38**: 147-159.
- Oreopoulou A., Tsimogiannis D., Oreopoulou V. (2019) Extraction of Polyphenols From Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction

- Parameters. U: Polyphenols in Plants: Isolation, Purification and Extract Preparation, 2. izd., Watson R. R., ur., Academic Press, str. 243 – 259.
- Ortega-Ramirez L. A., Rodriguez-Garcia I., Leyva J. M., Cruz-Valenzuela M. R., Silva-Espinoza B. A., Gonzalez-Aguilar G. A., Ayala-Zavala J. F. (2014). Potential of Medicinal Plants as Antimicrobial and Antioxidant Agents in Food Industry: A Hypothesis. *Journal of Food Science* **79**: 29-37.
- Pandey M., Debnath M., Gupta S., Chikara S. K. (2011) Phytomedicine: An ancient approach turning into future potential source of therapeutics. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* **3**: 27-37.
- Panovska T. K., Kulevanova S., Stefova M. (2005) In vitro antioxidant activity of some Teucrium species (Lamiaceae) *Acta Pharmaceutica* **55**: 207-214.
- Petrovska B. B. (2012) Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews* **6**: 1–5.
- Plaza M., Domínguez-Rodríguez G., Castro-Puyana M., Marina M. L. (2018) Polyphenols analysis and related challenges. U: Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications, 1. izd., Galanakis C. M., ur., Woodhead Publishing, str. 177-232.
- Petrović D. (2014) Trava iva od mrtva pravi živa. *Pčela - časopis saveza pčelara „Kadulja“* **6**: 7-8.
- Popović D.A., Milinčić D.D., Pešić M.B., Kalušević A.M., Tešić Ž.LJ., Nedović V.A. (2019) Encapsulation technologies for polyphenol-loaded microparticles in food industry. U: Green Food Processing Techniques, 1. izd., Chemat F. i Vorobiev E., ur., str. 335-367.
- Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouységu L. (2011) Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition* **50**: 586-621.
- Stanković M. S., Niciforović N., Topuzović M., Solujić S. (2011) Total Phenolic Content, Flavonoid Concentrations and Antioxidant Activity, of The Whole Plant and Plant Parts Extracts from *Teucrium Montanum* L. Var. *Montanum*, F. *Supinum* (L.). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **25**: 2222-2227.
- Stanković M., Stefanović O., Čomić L., Topuzović M., Radojević I., Solujić S. (2012) Antimicrobial activity, total phenolic content and flavonoid concentrations of Teucrium species. *Open Life Sciences* **7**: 664-671.

- Statista Research Department (2015) Do you think herbal medicine is effective at treating illness?. Statista – The Statistics Portal, <<https://www.statista.com/statistics/415253/herbal-medicine-effective-at-treating-illness-in-the-united-kingdom/>> Pristupljeno 6. svibnja 2020.
- Statista Research Department (2015) Retail sales forecast of herbal and traditional products in Europe from 2010 to 2020. Statista–The Statistics Portal, dostupno na <<https://www.statista.com/statistics/646801/retail-sales-forecast-of-herbal-products-european-union-eu/>> Pristupljeno 6. svibnja 2020.
- Tumbas V.T., Mandić A. I., Četković G. S., Đilas S. M., Čanadanović-Brunet J. M. (2004) HPLC analysis of phenolic acids in Mountain germander (*Teucrium montanum* L.) extracts. *Acta periodica technologica* **35**: 265-273.
- Van Wyk B.E. i Wink M. (2017) Medicinal Plants of The World, str.- 408-409.
- Vujanović M., Zengin G., Đurović S., Mašković P., Cvetanović A., Radojković M. (2018) Biological activity of extracts of traditional wild medicinal plants from the Balkan Peninsula. *South African Journal of Botany* **120**: 213-218.
- Vuković N., Milošević T., Sukdolak S., Solujić S. (2007) Antimicrobial Activities of Essential Oil and Methanol Extract of *Teucrium montanum*. *Evid Based Complement Alternat Med* **4**: 17-20.
- Zlatić N. M., Stanković M. S., Simić Z. S. (2017) Secondary metabolites and metal content dynamics in *Teucrium montanum* L. and *Teucrium chamaedrys* L. from habitats with serpentine and calcareous substrate. *Environmental Monitoring and Assessment* 189:110.

Izjava o izvornosti

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

Sofija Iveković

Ime i prezime studenta