

Bioaktivni spojevi iz tradicionalno korištenih biljaka u rakiji travarici

Rončević, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:435177>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-15**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

BIOAKTIVNI SPOJEVI IZ TRADICIONALNO KORIŠTENIH
BILJAKA U RAKIJI TRAVARICI

DIPLOMSKI RAD

Katarina Rončević

Zagreb, rujan, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Hortikultura - Vinogradarstvo i vinarstvo

**BIOAKTIVNI SPOJEVI IZ TRADICIONALNO KORIŠTENIH
BILJAKA U RAKIJI TRAVARICI**

DIPLOMSKI RAD

Katarina Rončević

Mentor:

doc. dr. sc. Marin Mihaljević Žulj

Zagreb, rujan, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Katarina Rončević**, JMBAG 0178109175, rođen/a 20.9.1997. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

BIOAKTIVNI SPOJEVI IZ TRADICIONALNO KORIŠTENIH BILJAKA U RAKIJI TRAVARICI

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Katarina Rončević**, JMBAG 0178109175, naslova

BIOAKTIVNI SPOJEVI IZ TRADICIONALNO KORIŠTENIH BILJAKA U RAKIJI TRAVARICI

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|---------------------------------------|--------|-------|
| 1. | doc. dr. sc. Marin Mihaljević Žulj | mentor | _____ |
| 2. | izv. prof. dr. sc. Luna Maslov Bandić | član | _____ |
| 3. | doc. dr. sc. Hrvoje Kutnjak | član | _____ |

Zahvala

Zahvaljujem svojem mentoru doc. dr. sc. Marinu Mihaljeviću Žulju na iskazanom strpljenju, razumijevanju i pomoći tijekom procesa izrade diplomskog rada. Hvala na dobroj volji i prenesenom znanju tijekom cijelog diplomskog studija.

Zahvaljujem svim profesorima na prenesenom znanju tijekom studija.

Hvala kolegama i dragim prijateljima koji su obogatili moje iskustvo studiranja.

I na kraju, posebno zahvaljujem mojoj obitelji na podršci tijekom cijelog školovanja.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Pregled literature	2
2.1 Jaka alkoholna pića	2
2.2. Opće značajke rakije Travarice	3
2.3 Bioaktivne tvari	7
3. Materijali i metode	11
3.1. Kemijska analiza rakije komovice.....	11
3.1.1. Određivanje alkoholne jakosti.....	11
3.1.2. Određivanje ukupne kiselosti rakije komovice	12
3.1.3. Određivanje ukupnih estera u rakiji komovici	13
3.2. Travarica.....	14
3.2.1. Priprema biljnog materijala	14
3.2.2. Postupak maceracije	14
3.3. Određivanje ukupnog sadržaja fenola Folin – Ciocalteu metodom.....	16
3.4. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta primjenom metode ABTS	17
4. Rezultati i rasprava.....	18
4.1. Analiza kemijskih parametara rakije komovice	18
4.2. Analiza rakije Travarice	20
4.2.1. Ukupni fenoli.....	21
4.2.2. Antioksidacijski kapacitet	25
4.3. Usporedba s literaturnim podacima.....	28
5. Zaključak	33
Literatura	34
Popis slika, grafova i tablica.....	39
Životopis	40

Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Katarina Rončević**, naslova

BIOAKTIVNI SPOJEVI IZ TRADICIONALNO KORIŠTENIH BILJAKA U RAKIJI TRAVARICI

U ovom radu ispitan je ukupan sadržaj ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet u rakijama travaricama. Korištena je rakija komovica alkoholne jakosti 50 % vol. za maceraciju 11 samoniklih mediteranskih biljaka. Analizirani su: alkoholna jakost, ukupne kiseline i ukupni esteri bazne rakije. Spektrofotometrijskim metodama određeni su: sadržaj ukupnih fenola (metodom Folin-Ciocalteu) te antioksidacijski kapacitet (metodom ABTS). Najveći sadržaj ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet dobiven je u maceratu gospine trave (158 GAE mg/L; 1,089 mM TE). Macerati majčine dušice, ružmarina i stolisnika pokazali su značajne udjele analiziranih bioaktivnih tvari. U maceratu smjese 11 biljaka statističkom obradom podataka (ANOVA, SAS) dobivena je visoka pozitivna korelacija mjerenih bioaktivnih tvari za ispitivane macerate. Rezultati rada mogu poslužiti u izboru biljaka za kreiranje rakije travarice optimalnih ljekovitih svojstava.

Ključne riječi: rakija, travarica, fenoli, antioksidacijski kapacitet, ljekovito bilje

Summary

Of the master's thesis – student **Katarina Rončević** entitled

BIOACTIVE COMPOUNDS OF TRADITIONALLY USED HERBS IN HERB BRANDY

In this paper, the total phenol content and antioxidant capacity of herbal spirit were examined. Pomace brandy, alcohol strength of 50% vol., was used for the maceration of 11 wild Mediterranean plants. The following were analyzed: alcoholic strength, total acidity and total esters of base brandy. Spectrophotometric methods were used to determine: the content of total phenols (Folin-Ciocalteu method) and antioxidant capacity (ABTS method). The highest content of total phenols and antioxidant capacity was obtained in St. John's wort (158 GAE mg/L; 1.089 mM TE). Macerates of thyme, rosemary and yarrow showed significant proportions of analyzed bioactive substances. In the macerate of a mixture of 11 plants, a high positive correlation of the measured bioactive substances for the tested macerate was obtained by statistical data processing (ANOVA, SAS). The results of the work can be used in the selection of plants for the creation of herbal brandy with optimal medicinal properties.

Keywords: brandy, herb brandy, phenols, antioxidant capacity, medicinal herbs

1. Uvod

Uporaba aromatičnih biljaka u pripravi jakih alkoholnih pića u mediteranskom dijelu Europe seže još od antičkih vremena. Pema Pravilniku o jakim alkoholnim pićima (NN 61/2009) koja su namijenjena za ljudsku potrošnju jaka alkoholna piće dijele se u nekoliko skupina: čisti destilati i likeri koji se proizvode maceriranjem biljaka i voća u etilnom alkoholu poljoprivrednog podrijetla. Rakija travarica, dobiva se aromatiziranjem vinskih destilata, komovice, loze ili voćnih rakija samoniklim biljem poput: majčine dušice, kadulje, vrijeska, ružmarina i dr. Tradicija proizvodnje rakije travarice u Hrvatskoj njeguje se u mnogim domaćinstvima Dalmacije, Like, Istre i Gorskog kotara. Suvremena proizvodnja travarica temelji se na dodavanju cijele i/ili dijelova biljke u svježem ili suhom stanju u bazni alkoholni destilat. Prisutni bioaktivni spojevi iz aromatičnog bilja dodanog u rakiju, umjerenom konzumacijom mogu imati pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Količina bioaktivnih komponenti, odnosno kakvoća travarice ovisi o količini upotrjebljene sirovine, udjelu alkohola, temperaturi i vremenu maceracije.

U ovom radu pripravljene su travarice postupkom maceracije odabranih ljekovitih biljaka u rakiji komovici.

Cilj ovog rada bio je 1) odrediti sadržaj ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet za odabranih 11 biljaka i njihovu smjesu 2) utvrditi koje od odabranih tradicionalno korištenih aromatičnih biljaka nakon postupka maceracije u rakiji komovici alkoholne jakosti 50 % v.v. pokazuju najveći sadržaj biološki aktivnih tvari 3) odrediti u kakvom su odnosu sadržaj ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet.

2. Pregled literature

2.1 Jaka alkoholna pića

Jaka alkoholna pića su pića koja su namijenjena za ljudsku potrošnju, sadrže minimalno 15 % vol. alkohola te imaju prepoznatljiva senzorna svojstva. Jaka alkoholna pića mogu biti proizvedena:

- destilacijom (sa ili bez dodavanja aroma) prirodno prevrelih sirovina poljoprivrednog podrijetla
- maceracijom ili sličnom preradom bilja u etilnom alkoholu poljoprivrednog podrijetla i/ili u destilatima poljoprivrednog podrijetla, i/ili u jakim alkoholnim pićima
- dodavanjem aroma, šećera, drugih sladila ili drugih poljoprivrednih ili prehrambenih proizvoda etilnom alkoholu ili destilatu poljoprivrednog podrijetla
- miješanjem jakog alkoholnog pića s jednim ili više: drugih jakih alkoholnih pića, etilnim alkoholom poljoprivrednog podrijetla ili destilatima poljoprivrednog podrijetla, drugih alkoholnih pića i/ili pića (Pravilnik o jakim alkoholnim pićima, NN 61/2009).

Prema Pravilniku o jakim alkoholnim pićima (NN 61/2009), podrijetlo etilnog alkohola koji se koristi u proizvodnji jakih alkoholnih pića i svih njihovih sastojaka mora biti poljoprivrednog podrijetla. Alkoholna pića ne smiju sadržavati alkohol sintetičkog podrijetla, niti neki drugi alkohol koji nije poljoprivrednog podrijetla. Također, etilni alkohol koji se koristi za razrjeđivanje ili otapanje bojila, aroma ili drugih dopuštenih aditiva koji se koriste u proizvodnji jakih alkoholnih pića treba biti poljoprivrednoga podrijetla.

Rakije su proizvodi dobiveni destilacijom prevrelog soka, masulja ili komine grožđa ili nekog drugog voća na manje od 86% vol. alkohola. Dijele se na rakije od grožđa (vinjak, brandy, lozovača, komovica, droždjenka i vinovica), voćne rakije, rakije od voćne komine i specijalne rakije (travarica, orahovica itd) (Mujić I., 2010).

U Hrvatskoj i ostalim zemljama južne i jugoistočne Europe postoji sociološki fenomen ispijanja rakije. U mnogim kućanstvima i restoranima rakija se pije kao aperitiv ili digestiv te se vrlo često može naći u ponudi prilikom obilježavanja važnih društvenih događaja. Fenomen se može povezati uz njegovanje duge tradicije proizvodnje na ovim prostorima (Karabegović i sur., 2012). Nakon što je Republika Hrvatska postala jedna od zemalja članica Europske unije 2013. godine, proizvodnja i prodaja rakije na kućnom pragu ipak je strože

regulirana (Łuczaj i sur., 2019). Proizvodnja rakije na području Hrvatske veže se uz gotovo svako seosko domaćinstvo te se svaka regija ističe svojom karakterističnom rakijom. U smislu doprinosa većoj tržišnoj vrijednosti ovakvih proizvoda bitno je istaknuti Oznaku zemljopisnog podrijetla koja se pripisuje proizvodima osobite kvalitete i svojstava određenog područja. Primjerice, oznaku zemljopisnog podrijetla jakih alkoholnih pića u Hrvatskoj imaju: Hrvatska loza, Hrvatski pelinkovac, Zadarski maraschino, Slavonska šljivovica, Hrvatska stara šljivovica i Hrvatska travarica (Web 1).

2.2. Opće značajke rakije Travarice

U Hrvatskoj, pretežno u Dalmaciji, postoji duga tradicija dodavanja aromatičnog bilja najčešće rakiji komovici ili lozovači te se takva rakija naziva „rakija travarica“ ili „travarica“. Travarica se u Hrvatskoj najčešće proizvodi za kućnu potrošnju. Proizvodi se u kućnoj radinosti nestandardiziranim postupcima te također industrijski standardiziranim postupcima. Biljke kojima se bazna rakija aromatizira su najčešće samonikle. Gotovo svako domaćinstvo radi prema vlastitoj recepturi te tradicionalno koristi vlastiti popis biljaka za rakiju travaricu. Unatoč vrlo dugoj tradiciji proizvodnje travarice u Hrvatskoj, nisu pronađeni dokumentirani podaci o povijesti proizvodnje pića. Za aromatiziranje pića biljkama upotrebljavaju se cijele biljke ili neki njihovi dijelovi: korijen, list, cvijet, plod, kora i stabljika. Biljke se dodaju češće u suhom, rjeđe u svježem stanju. Osim za proizvodnju rakije travarice aromatične biljke koriste se i u drugim alkoholnim pićima primjerice aromatiziranim vinima i likerima. Razlika aromatiziranih i aromatičnih jakih alkoholnih piće je u postupku dodavanja biljaka, njihovih dijelova ili aromatičnih ulja. Aromatizirana alkoholna pića su alkoholna pića kojima se biljke dodaju nakon destilacije, dok se u proizvodnji aromatičnih alkoholnih pića dodaju prije postupka fermentacije i destilacije (Sučević, 1997).

U rakiji travarici svaka biljka koja se koristi pridonosi kakvoći i senzorskim svojstvima pića svojim specifičnim aromatičnim i nearomatičnim tvarima. Biljke koje se dodaju rakijama sadrže farmakološki djelatne tvari, koje osim što imaju svoju funkciju u organizmu biljke, djeluju povoljno i na ljudsko zdravlje. U skupine biljnih bioaktivnih tvari ubrajaju se:

- Alkaloidi
- Eterična ulja
- Flavonoidi pigmenti
- Glikozidi
- Saponini

- Tanini
- Vitamini

Dio bioaktivnih tvari podložan je kemijskoj razgradnji tijekom sušenja biljaka. Kako bi se bioaktivne i aromatične tvari iz biljaka očuvale, potrebno je biljni materijal pravilno preraditi i skladištiti. Za izradu tinktura ili macerata najčešće se koriste sušene biljke. Ubrani biljni materijal u svježem stanju ima vrlo kratak rok upotrebe, stoga su osmišljeni načini za konzerviranje biljaka. Uobičajeni način sušenja biljaka je sušenje u hladu čime se smanjuju procesi foto-redukcije ili foto-oksidacije kojima su podložni bioaktivni spojevi (Žilić, 2014).

Za izdvajanje aroma i bioaktivnih tvari iz biljaka uobičajene su metode maceracije, digestije, perkolacije, infuzije, destilacije, ultrazvučne ekstrakcije, ekstrakcije superkritičnim fluidom, vakumska mikrovalno potpomognuta ekstrakcija i slične (Tonutti i Liddle, 2010).

Postupak maceracije jedna je od najstarijih metoda ekstrakcije biljnih tvari u proizvodnji alkoholnih pića koja se i danas primjenjuje. Zasniva se na principima molekularne difuzije namakanjem biljnog materijala u zatvorenoj posudi s otapalom. Kao otopinu za ekstrakciju (otapalo) može se koristiti vodeno-alkoholna otopina, samo voda ili alkohol. Tradicionalnim postupkom maceracije u proizvodnji alkoholnih pića biljni materijal stavlja se u tankove u koje se ulijeva vodeno-alkoholna tekućina uz povremeno miješanje. Vrijeme maceracije može se produžiti ovisno o korištenom biljnom materijalu, primjerice za korjenasto bilje (Tonutti i Liddle, 2010). Biljni je materijal prije namakanja poželjno usitniti ili samljeti kako bi se povećala dodirna površina materijala i otapala čime se postupak može ubrzati te poboljšati učinkovitost ekstrakcije. Završenom ekstrakcijom smjesa se filtrira kako bi se ekstrakt odvojio od netopivog biljnog materijala. Kvalitetu ekstrakta određuju vrijeme, temperatura i omjer biljnog materijala i otapala. Maceracija veće količine biljnog materijala u industrijskoj proizvodnji se provodi kontinuiranom cirkulacijom otapala u ekstraktoru uz pomoć pumpe ili višestupanjskom ekstrakcijom. Razvojem tehnologije došlo je i do primjene naprednijih postupaka za ekstrakciju bioaktivnih tvari (Tonutti i Liddle, 2010; Poljanec, 2017). Za maceraciju u proizvodnji rakije travarice najčešće se uzima 0,5 – 4 kg usitnjenih biljaka na 100 l rakije. Po završetku maceracije dolazi do obojenja travarice zelene ili smeđe boje, a s vremenom zelena boja može preći u smeđu boju (Nikićević i Paunović, 2013). Odabrano samoniklo ljekovito bilje za dobivanje rakije travarice macerira se u baznoj rakiji, najčešći odabir su tradicionalne rakije lozovača ili komovica.

Rakija lozovača ili Hrvatska loza

Rakija loza ili lozovača rakija je od grožđa, dobivena destilacijom prevrelog groždanog masulja plemenite sorte vinove loze. Destilat sadrži 60-75% vol. alkohola, estera najmanje 50 g/hL a.a, viših alkohola najmanje 150 g/hL a.a., metanola od 80-400 g/hL a.a. Loza je jako alkoholno piće koje pripada kategoriji rakija od voća, a dobivena je destilacijom prevrelog groždanog masulja na 60-75% vol. alkohola. Tradicionalno je bezbojno alkoholno piće prepoznatljivo po osebujnim senzorskim karakteristikama te se razlikuje po detektiranim analitičkim parametrima od ostalih rakija od grožđa. Za proizvodnju se koristi grožđe koje sadrži 10-15% šećera i 6-12% kiselina, pogodno i za proizvodnju stolnih vina.

Grožđe se izmulja u cijelosti, bez peteljkovine i takvo se podvrgne fermentaciji. Fermentacija se provodi do kraja (bez ostatka šećera), a destilira se zajedno tekući i kruti sadržaj masulja na uređajima za destilaciju ili koloni za destilaciju. Nakon destilacije proizvod se uz dodatak demineralizirane vode svodi na željenu jačinu: 30-55 % vol. alkohola (Pravilnik o jakim alkoholnim pićima, NN 61/2009).

Rakija od groždane komine ili komovica

Komovica je groždana rakija dobivena destilacijom i/ili retifikacijom fermentirane komine grožđa plemenitih sorti roda *Vitis vinifera*. Fermentirana groždana komina destilira se do najviše 86% vol. etanola, neposredno s vodenom parom ili nakon dodavanja vode grožđanoj komini. Prema Pravilniku (NN 61/2009) u proizvodnji komobvice dopušteno je dodavanje vinskog taloga u količini ograničenoj do 25 kg taloga na 100 kg korištenog groždanog koma. Količina alkohola koja potječe od taloga ne smije prijeći 35% ukupne količine alkohola u gotovom proizvodu. Alkoholna jakost rakije od groždane komine tj. komovice za stavljanje na tržište kao gotov proizvod može imati najmanje 37,5% vol.. Kada se rakija komovica stavlja na tržište mora udovoljavati zahtjevima:

- alkoholna jakost gotovog proizvoda mora iznositi najmanje 37,5% vol.;
- količina hlapivih tvari najmanje 140 grama na hektolitar, preračunato na 100% vol. alkohola;
- količina metilnog alkohola najviše 1000 grama na 1 hektolitar, preračunato na 100% vol. alkohola (Pravilnik o jakim alkoholnim pićima, NN 61/2009).

Rakija komovica proizvodi se u gotovo svim vinogradarsko-vinarskim zemljama. Najcjenjenija je u Italiji gdje je poznata pod nazivom „grappa“, a također je poznata u Francuskoj kao „l'eau-de-vie de marc de raisin“, u Španjolskoj „aguardiente“, u Portugalu „bagaceiras“, u Njemačkoj „Tresterbranntwein“, a u Grčkoj „tsipouro“. Posebna je talijanska „grappa“ koja se vrednuje kao nacionalno jako alkoholno piće te je njenoj proizvodnji posvećena najveća pažnja i želja za usavršavanjem (Nikićević i Paunović, 2013).

Tradicionalno korištene biljke u izradi rakije travarice

Aromatično, ljekovito i začinsko bilje koje se upotrebljava za pripremu rakije travarice treba zadovoljavati određene standarde kvalitete. Koriste se samo zdravi dijelovi biljke koji imaju prirodnu boju i izgled te karakterističan miris. U kućnoj proizvodnji rakije travarice najčešće se upotrebljavaju samonikle biljke karakteristične za određeno podneblje. U industrijskoj proizvodnji često se dodaju eterična ulja koja se proizvode destilacijom iz cvjetova, listova, uglavnom iz nadzemnih dijelova biljke.

U procesu prikupljanja bilja potrebno je pravilno provesti postupak pripreme biljnog materijala. Berba ljekovitog bilja vrši se u periodu kada je sadržaj aromatičnih i farmakološki vrijednih tvari najveći. Također, biljke se beru po suhom vremenu, ručno ili uz pomoć adekvatnog alata – škare, nož, srp i lopatica (Žilić, 2014). Važno je pravilno ubrati biljni materijal, tako se primjerice nadzemni dio biljke reže iznad površine tla, lišće se nakon branja odmah usitnjava, cvijeće se bere u komadu, a sjeme se nakon prikupljanja prosušuje, a zatim prosijava, korijenje se vadi ručno ili oranjem te ga je vrlo važno očistiti od zemlje i vršnih dijelova, ispiru se vodom i usitnjava (Nikićević i Paunović, 2013).

Zahvaljujući svojem geografskom položaju i klimi, Hrvatska je zemlja s velikom bioraznolikošću. Ispitivanje provedeno na području Dalmacije i Kvarnera obuhvatilo je 36 otoka te je anketiranjem populacije pronađeno kako se za aromatiziranje alkoholnih pića koristi 114 različitih biljnih vrsta iz 38 različitih porodica. Najviše biljaka pripada porodici *Lamiaceae* (usnače), zatim *Rosaceae* (ruže), *Asteraceae* (glavočike) i *Rutacea* (rute). Najčešće se koristi nekultivirano bilje (46%), zatim kultivirano u manjoj mjeri (38%), te neki koriste i divlje i kultivirano (15%).

Na području Hrvatske najčešće se dodaju: koromač (*Foeniculum vulgare* Mill.), ružmarin (*Rosmarinus officinalis* L.), kadulja (*Salvia officinalis* L.), majčina dušica (*Thymus vulgaris* L.), matičnjak (*Melissa officinalis* L.), ruta (*Ruta graveolens* L.), šmrika (*Juniperus*

oxycedrus L.), rogač (*Ceratonia siliqua* L.), orah (*Juglans regia* L.), smokva (*Ficus carica* L.), lovor (*Laurus nobilis* L.), pravi pelin (*Artemisia absinthium* L.), mirta (*Myrtus communis* L.), mažuran (*Origanum majorana* L.), paprena metvica (*Mentha x piperita* L.) te kora i lišće agruma, najčešće limun (*Citrus limon* (L.) Burm. f.) i gorka naranča (*Citrus aurantium* L.).

Količina i sastav biljaka ovisi o lokalitetu, recepturi i vlastitom nahodjenju proizvođača. Primjena nekih biljaka ograničena je ovisno o lokalitetu, tako su neke biljke specifične za određena područja, primjerice morski pelin (*Artemisia caerulescens* L.) koji raste samo na otoku Cresu. Za otok Vis karakteristične su biljke crveni bušin (*Cistus × incanus* L.) i vazdazelena krkavina (*Rhamnus alaternus* L.). Na otoku Braču to su primorska bresina (*Micromeria juliana* (L.) Benth. Ex Rchb.) i pustenasti dubačac (*Teucrium polium* L.). Na otoku Korčuli koristi se limunova verbena ili citronovac (*Aloysia citriodora* Paláu, dok je za područje Dubrovnika i okolice karakteristična gorka naranča (*Citrus × aurantium* L.). Zabilježeno je kako su se neke biljke poput planike, odnosno maginje (*Arbutus unedo* L.) na području srednje i južne Dalmacije koristile za dobivanje rakije do unazad 60 godina. Danas se koriste samo za aromatiziranje alkoholnih pića. Dugu tradiciju i specifičnost proizvodnje travarice na hrvatskoj obali omogućilo je neiscrpno prirodno bogatstvo domaćeg bilja tog područja (Łuczaj i sur., 2019).

2.3 Bioaktivne tvari

Biljke kojima se pripisuje ljekovito djelovanje u svojem bio-kemijskom sastavu sadrže mnoge farmakološki djelatne tvari. Tvari i smjese tvari kojima se pripisuje bioaktivno djelovanje čine uglavnom složene organske molekule. Kao što je prethodno navedeno, koriste se samo zdravi dijelovi biljke u kojima je sadržaj bioaktivnih tvari najveći. Na količinu i sastav bioaktivnih tvari utječu ekološki, odnosno okolišni čimbenici: voda, temperatura, svjetlost, tlo, geografska položaj, alelopatija. Antropološki čimbenici su: gnojdba, genotip i oplemenjivanje, vrijeme i gustoća sjetve/sadnje, zaštita, navodnjavanje te način i vrijeme berbe.

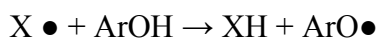
Općenito, tvari uključene u biokemizam biljke dijele se na primarne i sekundarne metabolite. Primarni metaboliti su ugljikohidrati, proteini, tvari nužne biljci za rast i reprodukciju. Sekundarni metaboliti koji se nazivaju bioaktivnim tvarima su: alkaloidi, organske kiseline, polifenoli, eterična ulja, glikozidi, biljne ljepljive sluzi, gume, smole, tanini, vitamini i mnoge druge. Sekundarne tvari ne utječu izravno na razvoj biljke iako to ne umanjuje njihovu funkciju i vrijednost (Šilješ i sur., 1992).

Polifenoli

Zbog povoljnog učinka za ljudsko zdravlje i bolju kvalitetu života, danas postoji veliki interes iskorištavanja bioaktivnih tvari u kozmetičke, medicinske i kulinarske svrhe. Ovdje se posebno ističu polifenoli zbog svojeg antioksidacijskog djelovanja. Nalaze se u sjemenkama i plodovima mnogih kritosjemenjača. Fenol je najjednostavniji aromatski alkohol koji sadrži jedan benzenski prsten i funkcionalnu hidroksilnu skupinu. Upravo zbog hidroksilnih skupina i nezasićenih dvostrukih veza su osjetljivi na oksidaciju što ih čini dobrim antioksidansima. Zbog svoje kompleksne građe podijeljeni su u brojne skupine te je jedna od podjela polifenola:

- Fenolne kiseline (hidroksicimetne, hidroksibenzojeve)
- Flavonoide (antocijanini, flavonoli, flavanoli, flavoni)
- Tanine (kondenzirani i hidrolizirani)
- Ostale fenolne spojeve (lignani, kumarini) (Naczki i Shahidi, 2006).

Podjela se temelji na broju sadržanih fenolnih prstena te na temelju strukturnih elemenata koji međusobno povezuju te prstene (Jedrejčić 2017). Imaju sposobnost prelaska u fenoksil – radikale otpuštajući vodikov atom, koji se veže na slobodne radikale te zahvaljujući tome imaju antioksidacijsko djelovanje. Zbog svojih strukturnih karakteristika polifenoli su u mogućnosti donirati vodikov atom koji reagira sa slobodnim radikalom s jednim nesparenim elektronom. Reakcijom radikala s vodikovim atomom, dolazi do njihove inaktivacije, a polifenolna komponenta koja je donirala vodikov atom postaje polifenol radikal koji je manje reaktivan te ima mogućnost stabilizacije. Stabilizacija je moguća jer dolazi do delokalizacije nesparenog elektrona preko aromatskog prstena hiperkonjugacijskim efektom. Za taj mehanizam važno je djelovanje disocijacijske energije veze kisika i vodika u hidroksilnoj skupini. Što je veza slabija lakši je i prijenos vodika te je time polifenol potentniji. Moguće je izravno vezivanje reaktivnih kisikovih oblika kao što su superoksid radikal, hidroksil radikal, peroksil radikal, vodikov peroksid te kisikov singletni oblik. Osim sposobnosti sparivanja elektrona slobodnih radikala, polifenolne spojeve karakterizira i sposobnost vezanja iona metala: Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} te aktiviranja antioksidacijskih enzima i inhibiranja oksidaza (Ličanin, 2016; Jedrejčić, 2017).



$X \bullet$ predstavlja slobodni radikal

$ArO\bullet$ predstavlja polifenolni stabilni slobodni radikal

Na ovaj način polifenoli neutraliziraju slobodne radikale u organizmu te pokazuju antioksidacijsko djelovanje.

Antioksidansi i antioksidacijski kapacitet

Antioksidansi tvari koje svojom prisutnošću u malim količinama odgađaju ili u potpunosti sprječavaju proces oksidacije supstrata (proteina, lipida, ugljikohidrata, DNA, itd.) do kojeg dolazi pod utjecajem atmosferskog kisika ili reaktivnih kisikovih vrsta (eng. *reactive oxygen species*, ROS) (Halliwell B., 2002).

Mnoge ljekovite biljake sadrže veliku količinu antioksidansa kao što su fenolne kiseline, flavonoidi, terpeni, tokoferoli, vitamin C (askorbinska kiselina), te skupinu karotenoida (β -karoten, itd.), koji mogu igrati važnu ulogu u adsorpciji i neutralizaciji slobodnih radikala. Glavna funkcija antioksidansa, u biološkom smislu, je zaštita tijela od destruktivnih efekata i štete koju mogu nanijeti slobodni radikali. Sposobnost antioksidansa da neutralizira radikale naziva se ukupni antioksidacijski kapacitet. Ukupni antioksidacijski kapacitet nekog uzorka ovisi o vrsti antioksidansa, koncentraciji, molekulskoj masi i njihovom međusobnom sinergističkom djelovanju. Slobodni radikali uzročnici su mnogih negativnih promjena za ljudsko zdravlje. Povezuju se s nastankom tumora, kardiovaskularnim problemima, Alzheimerovom bolesti te ostalim poremećajima u radu vitalnih organa (Sharma i sur., 2013).

Za ispitivanje antioksidacijskog kapaciteta ne postoji univerzalna metoda, već se koriste različite metode koje se temelje na različitim reakcijskim mehanizmima. Danas su razvijene brojne metode za određivanje ukupnog antioksidacijskog kapaciteta. Mogu se podijeliti u tri kategorije: spektrofotometrijske, elektrokemijske i kromatografske metode. Spektrofotometrijske metode koje su najčešće u primjeni su: ABTS, DPPH, FRAP i ORAC (Pérez-Jiménez i Saura-Calixto, 2006). Spektrofotometrijske metode imaju nekoliko ograničenja kao što su: dugotrajna priprema uzoraka što produljuje vrijeme analize, potreba za promjenom pH vrijednosti, niska stabilnost nekih od reagenasa, visok limit detekcije, niska osjetljivost i interferencije uzorkovane mutnoćom i bojom uzorka.

Najčešće korištene elektrokemijske metode su: voltometrija, amperometrija, potenciometrija i kulometrija. U primjeni su još i kromatografske metode: plinska kromatografija (GC) i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC). Odabir metode prvenstveno ovisi o dostupnosti potrebnih alata, prirodi uzorka, jednostavnosti

primjene, trajanju analize, izvedbi metode (osjetljivost, preciznost, točnost granica detekcije) (Pregiban, 2017). Za spektrofotometrijske metode potreban je UV/VIS spektrofotometar.

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta polifenola upotrebljava se više od 20 metoda. Metode se temelje na hvatanju različitih radikala:

- peroksil radikala – ORAC, TRAP
- redukcija metala – FRAP, CUPRAC
- hidrokstil radikala - deoksiriboza-metoda
- organskih radikala - ABTS, DPPH
- kvantifikaciji produkata nastalih tijekom oksidacije lipida - TBARS, LDL oksidacija itd.

Od ovih metoda, najčešće su u primjeni ABTS, FRAP, DPPH i ORAC metode (Pérez-Jiménez i Saura-Calixto, 2006).

Metoda ABTS

Spektrofotometrijska metoda, ABTS, u literaturi još pod nazivom TEAC Test (Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity), zasniva se na reakciji između antioksidansa i slobodnog radikala $ABTS^{+\bullet}$ (Amorati i Valgimigli, 2015). Drugim riječima, metoda ABTS zasniva se na sposobnosti antioksidanata da hvataju dugoživući radikal-kation 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat ($ABTS^{+\bullet}$). Reakcijom ABTS i kalijeva peroksisulfata ($K_2S_2O_8$) nastaje plavozelena obojeni radikal $ABTS^+$ koji ima apsorpcijske maksimume pri valnim duljinama 645 nm, 734 nm i 820 nm. Radikal $ABTS^{+\bullet}$ stabilan je najmanje dva dana uz uvjet da je čuvan u tami na sobnoj temperaturi. Dodatkom antioksidansa dolazi do redukcije radikala $ABTS^{+\bullet}$. Reakcija ovisi o antioksidacijskoj aktivnosti i koncentraciji ispitivanog antioksidansa te o trajanju reakcije. Udio reduciranog radikala $ABTS^{+\bullet}$ mjeri se praćenjem apsorpcije radikala, a antioksidacijska aktivnost se izražava kao postotak inhibicije radikala $ABTS^{+\bullet}$ (Matašić, 2008; Re R. i sur., 1999). Metoda je primjenjiva za ispitivanje lipofilnih i hidrofилnih antioksidansa uključujući fenole, hidroksicinamate, karotenoide i plazmatske antioksidanse. Pokazala se prikladnom za analizu alkoholnih pića i hrane. Primjenjuje se za određivanje sposobnosti uklanjanja radikala pomoću flavonoida i fenola (Halliwell B., 2002).

3. Materijali i metode

Pri izvođenju kemijskih analiza za potrebe izrade ovog diplomskog rada korišteni su laboratorijski materijali s detaljnim uputama o pripremi uzoraka za svaku analizu. Pokus je proveden u laboratoriju Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

3.1. Kemijska analiza rakije komovice

Analiza kemijskog sastava destilata (alkoholna jakost, titracijska kiselost i ukupni esteri) provedena je metodama propisanim Pravilnikom o analitičkim metodama za jaka alkoholna i alkoholna pića (N.N. 138/2005). Analizirani destilat, rakija komovica, predstavlja kontrolni uzorak za istraživanje.

3.1.1. Određivanje alkoholne jakosti

Stvarna alkoholna jakost izražena volumenom je broj litara etanola sadržanog u 100 litara mješavine vode i alkohola koja ima istu gustoću kao i alkohol ili alkoholno piće nakon destilacije. Izražava se simbolom „% vol“. Referentne vrijednosti za alkoholnu jakost po volumenu (vol. %) na 20 °C u odnosu na gustoću na 20 °C za različite mješavine vode i alkohola koje se moraju koristiti su one vrijednosti koje su dane u međunarodnoj tablici koju je usvojila Međunarodna organizacija za zakonsko mjeriteljstvo (International Legal Metrology Organisation) u svojoj Preporuci br. 22.

Za mjerenje alkoholne jakosti korišten je prenosivi digitalni denzitometar (Slika 1). Instrument koji natemelju titranja šuplje staklene cijevi u obliku sova“U“ automatski mjeri gustoću tekućeg uzorka, zatim automatski pretvara izračunatu vrijednost u alkoholni postotak.



Slika 1. Digitalni denzitometar
Izvor: slika autora rada

3.1.2. Određivanje ukupne kiselosti rakije komovice

Ukupna ili titracijska kiselost pokazatelj je količine organskih kiselina u rakiji. Primjenom metode titriranja određuje se količina kiselina. Za neutralizaciju se koristi standardna otopina NaOH. Ukupna kiselost izražava se u mg/L ili mg/L a.a. (izražena kao octena kiselina).

U 50 mL uzorka dodano je 10-20 mL destilirane vode koja je kvantitativno prenesena u tikvicu od 200 mL. Kako bi se dobili precizniji rezultati, je zagrijana u vodenoj kupelji 10 minuta uz povratno hlađenje. Na taj način odstranjen je CO₂. Nakon hlađenja pod hladnim mlazom vode u tikvicu su dodane 2 kapi fenolftaleina te uzorak titriran s 0,1 M NaOH do pojave ružičaste boje, obojenje je vidljivo na Slici 2.

Ukupna kiselost destilata preračunava se prema formuli:

Ukupna kiselost (mg/L) = 6 x mL 0,1 M NaOH x 1000/mL uzorka

U provedenoj analizi utrošak 0,1 M NaOH iznosi **1,42 mL**.

1 mL 0,1 m NaOH neutralizira 6 mg octene kiseline.

Ukupna kiselost rakije komovice iznosi 170,4 mg/L, odnosno 239,3 mg/L a.a.

Vrijednost hlapivih kiselina izraženih kao octena kiselina (mg/L a.a.) unutar je dopuštenih granica prema Pravilniku o jakim alkoholnim i alkoholnim pićima (1. Rakije od grožđa, Članak 15.).



Slika 2. Mjerenje ukupne kiselosti destilata
Izvor: slika autora rada

3.1.3. Određivanje ukupnih estera u rakiji komovici

Metoda za analizu estera u rakiji komovici temelji se na prethodno provedenoj neutralizaciji kiseline i saponifikaciji estera koji su prisutni u ispitivanom uzorku destilata.

Neutraliziranom uzorku dodaje se NaOH u suvišku (10 mL) nakon čega se uzorak zagrijava uz povratno hladilo 30 minuta. Tijekom zagrijavanja esteri hidroliziraju i oslobođene kiseline reagiraju s NaOH koji je dodan u suvišku. Preostala količina NaOH određuje se titracijom standardnom otopinom kiseline 0,1 M HCl. Količina estera iskazuje se u miligramima estera izraženih kao etil-acetat (računato po litri apsolutnog alkohola). Količina dodanog NaOH u suvišku mora biti tolika da se za titraciju upotrijebi najmanje 3 mL, a najviše 10 mL 0,1 M HCl.

Formula za izračunavanje estera:

$$\text{Esteri mg/L a.a.} = [8,8 \times (a - b) \times 1000/\text{mL uzorka}] \times 100/A$$

$$= [8,8 \times (10 - 7,4) \times 1000/50] \times 100/71,2$$

$$= 457,6 \times 1,4$$

$$= \underline{642,7 \text{ mg/L a.a.}}$$

a – mL 0,1 M NaOH dodanog u suvišku = 10 mL

b – utrošeni mL 0,1 M HCl = 7,4 mL

A – alkoholna jakost destilata = 71,2 vol. %

Količina uzorka = 50 mL

*1 mL 0,1 M NaOH saponificira 8,8 mg etil-acetata



Slika 3. Mjerenje ukupnih estera

Izvor: slika autora rada

3.2. Travarica

3.2.1. Priprema biljnog materijala

Biljni materijal korišten za potrebe ovog diplomskog rada prikupljen je na području Zadarske županije. Korišteno je 11 različitih vrsta biljaka prethodno sušenih tradicionalnim postupkom na zraku kroz 10 dana.

U svrhu izrade ovog diplomskog rada korišteno je jedanaest aromatičnih biljaka: *Salvia officinalis* L. (kadulja), *Satureja montana* L. (primorski vrisak), *Rosmarinus officinalis* L. (ružmarin), *Thymus vulgaris* L. (majčina dušica), *Melissa officinalis* L. (matičnjak), *Mentha x piperita* L. (paprena metvica), *Foeniculum vulgare* Mill. (koromač), *Ruta graveolens* L. (ruta), *Hypericum perforatum* L. (gospina trava), *Achillea millefolium* L. (stolisnik) i *Malva sylvestris* L. (sljez). Bioaktivne tvari iz odabranog suhog mediteranskog samoniklog bilja ekstrahirane su postupkom maceracije u vodeno-alkoholnoj otopini. Za svaku biljku korišteni su različiti biljni dijelovi izvagane mase 0,2 grama (Tablica 1.).

3.2.2. Postupak maceracije

Prije maceracije izvršena je priprema bazne rakije komovice za izradu travarice. Rakija komovica alkoholne jakosti 71,2 % v.v prethodno je razrijeđena s 442 ml destilirane vode kako bi se dobila bazna rakija alkoholne jakosti 50 % vol. U Elenmeyerovu tikvicu ispipetirano je po 100 mL razrijeđene rakije komovice te je postupak ponovljen za svih 11 biljaka. Maceracija 0,2 g odabranih biljaka u 100 mL destilata alkoholne jakosti 50 % vol. trajala je 14 dana, a uzorci su čuvani u laboratoriju Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na temperaturi 20°C (Slika 4.). Po završetku maceracije uzorci su profiltrirani koristeći sito za grubu filtraciju te filter papir za finu filtraciju. Nakon filtracije uzoraka uslijedila je analiza za određivanje ukupnog sadržaja polifenola.



Slika 4. Maceracija

Izvor: slika autora rada

Tablica 1. Korišteni biljni materijal

Hrvatski naziv	Latinski naziv biljke	Porodica (lat. <i>Familia</i>)	Dio biljke korišten za pokus	Količina [g]
Ljekovita kadulja	<i>Salvia officinalis L.</i>	Usnače (<i>Lamiaceae</i>)	List	0,2
Primorski vrisak	<i>Satureja montana L.</i>	Usnače (<i>Lamiaceae</i>)	Cvijet i list	0,2
Ružmarin	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	Usnače (<i>Lamiaceae</i>)	List	0,2
Majčina dušica	<i>Thymus vulgaris L.</i>	Usnače (<i>Lamiaceae</i>)	Nadzemni dio biljke (u cvatnji)	0,2
Matičnjak	<i>Melissa officinalis L.</i>	Usnače (<i>Lamiaceae</i>)	List	0,2
Paprena metvica	<i>Mentha x piperita L.</i>	Usnače (<i>Lamiaceae</i>)	List	0,2
Koromač	<i>Foeniculum vulgare Mill.</i>	Štitarke (<i>Apiaceae</i>)	Sjemenke	0,2
Ruta	<i>Ruta graveolens L.</i>	Rute (<i>Rutaceae</i>)	List	0,2
Gospina trava	<i>Hypericum perforatum L.</i>	Kantarioni (<i>Hypericaceae</i>)	Nadzemni dio biljke (u cvatnji)	0,2
Stolisnik	<i>Achillea millefolium L.</i>	Glavočike (<i>Asteraceae</i>)	Nadzemni dio biljke (u cvatnji)	0,2
Sljez	<i>Malva sylvestris L.</i>	Slijezovke (<i>Malvaceae</i>)	Cvijet i list	0,2

3.3. Određivanje ukupnog sadržaja fenola Folin – Ciocalteu metodom

Za određivanje ukupnog sadržaja fenola u svakom uzorku travarice primijenjena je metoda Folin – Ciocalteu. Sadržaj ukupnih fenola u travarici određen je spektrofotometrijski pri valnoj duljini 765 nm.

Korišten je prethodno pripremljen reagens zasićene otopine natrijevog karbonata. Metoda se provela po protokolu za analizu bijelih vina, bez razrjeđenja. U odmjerenu tikvicu od 10 mL otpipetirano je 100 μ L uzorka te je dodano 6 mL destilirane vode i 50 μ L FC reagensa. Reakcijska smjesa miješala se 8'30" te je u nju dodano 2 mL 20% otopine natrijeva karbonata. Odmjerene tikvice napunjene su destiliranom vodom do oznake te su se u vodenoj kupelji zagrijavale na temperaturu 50° u trajanju 16'. Dobiveni uzorak se potom ulijeva u kivete te se apsorbancija pri valnoj duljini od 765 nm iščitava na spektrofotometru (Slika 5.). Rezultat se izražava u ekvivalentima galne kiseline, GAE mg/L. Za slijepu probu korišten je 1 mL destilirane vode.



Slika 5. Spektrofotometar Perkin Elmer, Lambda XLS +
Izvor: slika autora rada

3.4. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta primjenom metode ABTS

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta rakije travarice i njezinih sastavnica, u ovom pokusu korištena je spektrofotometrijska metoda ABTS. Metoda se zasniva na reakciji slobodnog radikal-kationa 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat ($ABTS^{+\bullet}$) i antioksidansa. Slobodni radikal kation $ABTS^{+\bullet}$ plavo-zelene boje pripremljen je prethodno. Dodatkom antioksidansa radikal kation blijedi.

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta uzoraka otopina $ABTS^{+\bullet}$ radikala je pripremljena oksidacijom vodene otopine ABTS reagensa (7 mM) s kalijevim peroksidsulfatom (140 mM) do konačne koncentracije otopine kalijevog peroksidsulfata od 2,45 mM. Za pripremu ove otopine promiješano je 88 μ L otopine kalijevog peroksidsulfata (140 mM) te nadopunjeno s otopinom ABTS (7 mM) reagensa do volumena 5 mL. Budući da ABTS i kalijev persulfat reagiraju u stehiometrijskom odnosu 1:0,5, ne dolazi do potpune oksidacije, stoga se pripremljenu otopinu omotanu folijom ostavlja stajati preko noći (12-16 h) na sobnoj temperaturi. Na dan analize otopina je razrijeđena etanolom (96%-tnim) do konačne koncentracije $ABTS^{+\bullet}$ radikala od 1 %, apsorbancija te otopine iznosi $0,70 \pm 0,02$. Volumen od 40 μ L uzorka pomiješa se s 4 mL otopine $ABTS^{+\bullet}$ radikala u tamnoj epruveti te se nakon točno 6 minuta mjeri apsorbancija na 734 nm. Prije mjerenja uzoraka potrebno je izmjeriti apsorbanciju slijepe probe koja se priprema na način da se 40 μ L vode pomiješa s istom količinom reagensa.

4. Rezultati i rasprava

U ovom istraživanju provedena je kemijska analiza rakije komovice koja je korištena kao bazna rakija za izradu rakije travarice. U komovici je macerirano 11 različitih biljaka. Biljke su macerirane zasebno te svaka predstavlja jedan uzorak. Po završetku maceracije, uzorci su filtrirani te je provedena analiza ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta „finalnog produkta“, odnosno rakije travarice i njezinih 11 sastavnica.

4.1. Analiza kemijskih parametara rakije komovice

Kemijskom analizom rakije komovice izmjerena je alkoholna jakost destilata koja je iznosila 71,2 % vol. Određena je ukupna kiselost rakije koja je iznosila 239,3 mg/L a.a. te je također određena ukupna količina estera u iznosu 642,7 mg/L a.a.

Bazna rakija razrijeđena je destiliranom vodom do 50% vol. alkohola. Iz prijašnjih istraživanja utvrđena je razlika ekstrakcije bioaktivnih spojeva ovisno o alkoholnoj jakosti bazne otopine (Chizzola i sur., 2008; Sorić M., 2021). Većim postotkom etilnog alkohola u vodeno-alkoholnoj otopini veća je koncentracija tvari topivih u alkoholu. Utvrđeno je također da se dodatkom biljaka u otopine alkoholne jakosti do 40% vol. pH otopine povećava. Suprotno tome, dodatak biljaka alkoholnim otopinama većih koncentracija, 55 – 70% vol., smanjuje pH otopine što znači da ekstrakcijski medij značajno utječe na vrstu i količinu ekstrahiranih spojeva (Hanousek Čiča K. i sur., 2022).

Ukupna kiselost

Kemijskom analizom rakije komovice određena je ukupna kiselost rakije 239,3 mg/L a.a. Ukupna kiselost destilata prema literaturi kreće se unutar granica 200 – 1000 mg/L a.a. (Tsakiris, 2013). Određena kiselost rakije komovice odgovara donjoj granici ukupne kiselosti. Niže koncentracije ukupne kiselosti vinskih destilata su poželjne i smatraju se pokazateljem kvalitete. Ukupna kiselost destilata povezana je s koncentracijom hlapljivih kiselina. Najzastupljenija kiselina u destilatima je octena kiselina, više od 90%, dok su ostale kiseline zastupljene u manjim koncentracijama.

Octena kiselina nastaje kao nusproizvod alkoholne fermentacije ili može nastati prilikom katabolizma šećera uz prisutnost kisika i kvasaca *Saccharomyces cerevisiae*. Koncentracija octene kiseline povećava se uslijed oksidacije acetaldehida (Spaho i sur., 2017). Do stvaranja acetaldehida dolazi oksidacijom etanola tj. ovisno o uvjetima odvijanja fermentacije: temperatura, prisutnost kisika, pH, soj kvasaca te prisutnost SO₂ (Paiano V i

sur., 2014). Veća koncentracija octene kiseline u alkoholnim pićima ovisi o soju kvasaca koji provode fermentaciju. Također, kontaminacija vina octenim bakterijama iz roda *Acetobacter* uzrokuje povećane koncentracije octene kiseline, dok se koncentracija alkohola smanjuje. Zbog visoke točke vrelišta (117 °C) octena kiselina se tijekom postupka destilacije najviše izdvaja u trećem toku destilata, tzv. „rep“ destilata (Spaho i sur., 2017).

Kod vinskih destilata predviđenih za duže dozrijevanje u drvenim bačvama ukupna kiselost s vremenom se povećava (Spaho i sur., 2017). Također, čuvanjem destilata u drvenim posudama dolazi do otapanja tanina te se u destilatu povećava ukupna kiselost, a to se odražava na pH vrijednost destilata. Tijekom dozrijevanja mladih destilata, povećanom ekstrakcijom tanina dolazi do promijene pH vrijednosti, koja se smanjuje sa 4 - 5,5 do 3,5 pH jedinica (Tsakiris, 2013).

Ostale hlapljive kiseline koje su prisutne u destilatima u znatno manjim koncentracijama su: karbonilne kiseline i masne kiseline poput: propionske kiseline, maslačne kiseline, izomaslačne kiseline, kapronske kiseline, valerijanske kiseline, izovalerijanske kiseline, 2-metilmaslačne kiseline i pelargonske kiseline. Masne kiseline značajno utječu na senzorna svojstva destilata te s višim alkoholima grade estere. Masne kiseline kratkog lanca imaju neugodan miris koji podsjeća na užegli maslac i truli sir te su njihove visoke koncentracije indikator loše kvalitete voćnog masulja (Spaho, 2017).

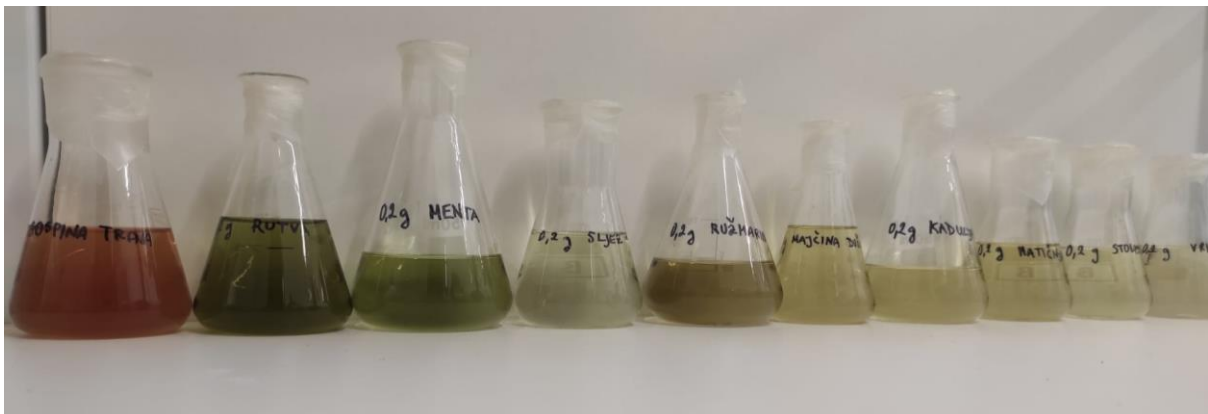
Ukupni esteri

Kemijskom analizom rakije komovice određena je vrijednost ukupnih estera u iznosu 642,7 mg/L a.a. Prema literaturi (Tsakiris i sur., 2013), vrijednost ukupnih estera u destilatima kreću se od 400 do 800 mg/L a.a., stoga je određena vrijednost ukupnih estera unutar granica. Esteri su spojevi koji svojom koncentracijom značajno utječu na okus i miris destilata. Imaju nizak prag detekcije te se najčešće nositelji ugodnih cvjetnih i voćnih aroma. Formiraju se tijekom alkoholne fermentacije u stanicama kvasaca, a koncentracija estera u destilatu ovisi o primijenjenoj destilacijskoj tehnici (Tsakiris i sur., 2013). Povećana koncentracija estera viših masnih kiselina moguća je ukoliko primijenjena destilacija vina s talogom (Léauté R., 1990).

4.2. Analiza rakije Travarice

Za proizvodnju rakije travarice u Hrvatskoj Pravilnikom o proizvodnji jakih alkoholnih pića (NN 61/2009) nije definiran ili ograničen broj biljaka koje se smiju koristiti za dobivanje rakije travarice.

U španjolskom herberu (*Herbero de la Sierra de Mariola*) minimalno može biti tri do maksimalno 15 biljaka za aromatiziranje bazne rakije. Ovisno o broju dodanih biljaka mijenjaju se i senzorna svojstva pića. Ekstrakcijom fenola, minerala i kiselina iz biljaka, dolazi do promjene boje, odnosno obojenja otopine (Issa Issa i sur., 2019). Na Slici 6. vidljivo je obojenje za svaku travaricu posebno. Obojenje je fotografirano 15. dan nakon početka maceracije te su uzorci prethodno filtrirani. Obojenje travarica varira ovisno o vrsti korištenog bilja te su vidljive nijanse žute, zelene i crvene boje (Slika 6.). Uzorak travarice u kojoj je macerirana gospina trava ističe se svojim narančasto-crvenim obojenjem. Travarice mente i rute dale su intenzivno zeleno obojenje, dok je travarica sljeza blijedo zelene boje. Travarica ružmarina je zeleno-smeđe boje. Bilje vrisak, majčina dušica, kadulja, matičnjak i stolisnik dale su travarice žutih do žuto-zelenih blagih nijansi. U svrhu dobivanja travarice intenzivnijeg i oku privlačnog obojenja prikladne su biljke gospina trava, ruta i menta. Za travarice nježnijeg obojenja žutih nijansi prikladne su biljke: majčina dušica, kadulja, matičnjak, stolisnik, vrisak i sljez.



Slika 6. Obojenje macerata
Izvor: slika autora rada

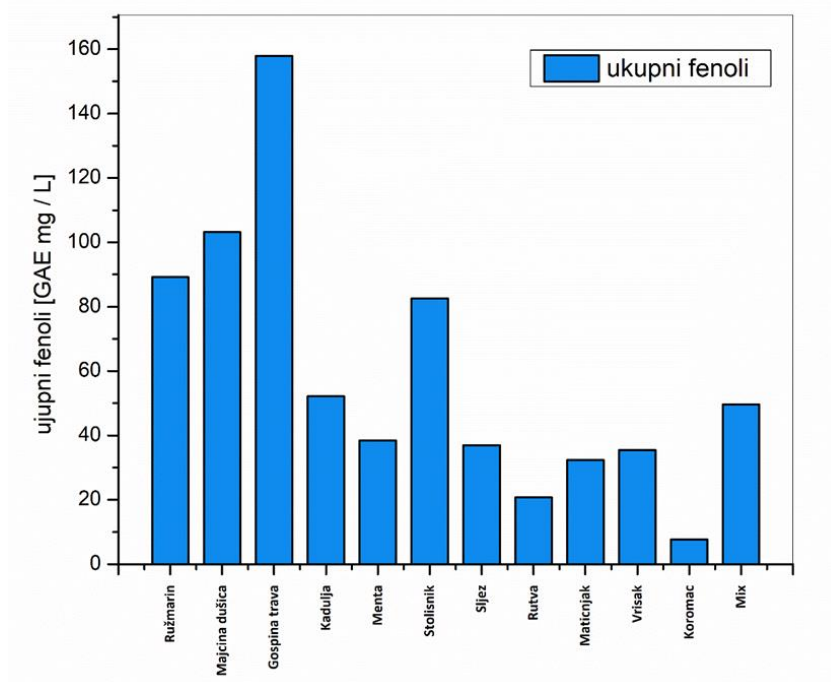
4.2.1. Ukupni fenoli

Nakon što su uzorci filtrirani provedena je analiza ukupnih polifenola. U ovom pokusu određen je sadržaj ukupnih polifenola za 11 biljaka ekstrahiranih u vodeno-alkoholnoj otopini, alkoholne jakosti 50 % vol. Ukupan sadržaj polifenola utvrđen je metodom Folin-Ciocalteu za svaki uzorak posebno te za uzorak smjese „*Mix*“ u kojem su svi ekstrakti pomiješani u jednakom omjeru. U Tablici 2. prikazani su rezultati za svih 11 uzorkovanih biljaka te uzorak sa svim ekstraktima pod nazivom „*Mix*“. Za svaki uzorak mjerenje sadržaja ukupnih polifenola ponovljeno je dva puta te su u Tablici 2. iskazane srednje vrijednosti provedenih mjerenja. U Tablici 2. poredani su rezultati počevši s uzorkom koji je pokazao najveću vrijednost ukupnog sadržaja polifenola, gospina trava (*Hypericum perforatum L.*) 158 GAE mg/L. Uzorak koromača (*Foeniculum vulgare Mill.*), pokazao je najmanju vrijednost ukupnog sadržaja polifenola 7,7 GAE mg/L. Pomoću izračunatih srednjih vrijednosti za analizirane spojeve unutar uzoraka napravljena je analiza varijance (ANOVA) u programu *SAS on Demand for Academics* (SAS INSTITUTE INC.). Prikazane srednje vrijednosti označene različitim slovima u tablici značajno se međusobno razlikuju prema Tukey-evom testu ($p < 0.05$).

Tabela 2. Rezultati određivanja ukupnih polifenola

UZORAK	N	UKUPNI POLIFENOLI (GAE mg/L), prosječna vrijednost	APSORBANCIJA	STD. DEV.
Gospina trava (<i>Hypericum perforatum L.</i>)	2	158 a	0,156	8,485
Majčina dušica (<i>Thymus vulgaris L.</i>)	2	103,15 b	0,102	8,273
Ružmarin (<i>Rosmarinus officinalis L.</i>)	2	89,15 bc	0,088	5,728
Stolisnik (<i>Achillea millefolium L.</i>)	2	82,6 c	0,0815	2,121
Kadulja (<i>Salvia officinalis L.</i>)	2	52,2 de	0,0515	0,707
Menta (<i>Mentha x piperita L.</i>)	2	38,5 de	0,038	0,000
Crni sljez (<i>Malva sylvestris L.</i>)	2	37 ef	0,0365	2,121
Vrisak (<i>Satureja montana L.</i>)	2	35,5 ef	0,035	0,000
Matičnjak (<i>Melissa officinalis L.</i>)	2	32,4 ef	0,032	1,414
Ruta (<i>Ruta graveolens L.</i>)	2	20,8 f	0,1105	0,707
Koromač (<i>Foeniculum vulgare Mill.</i>)	2	7,7 gf	0,0075	0,569
Mix	2	49,65	0,049	4,313

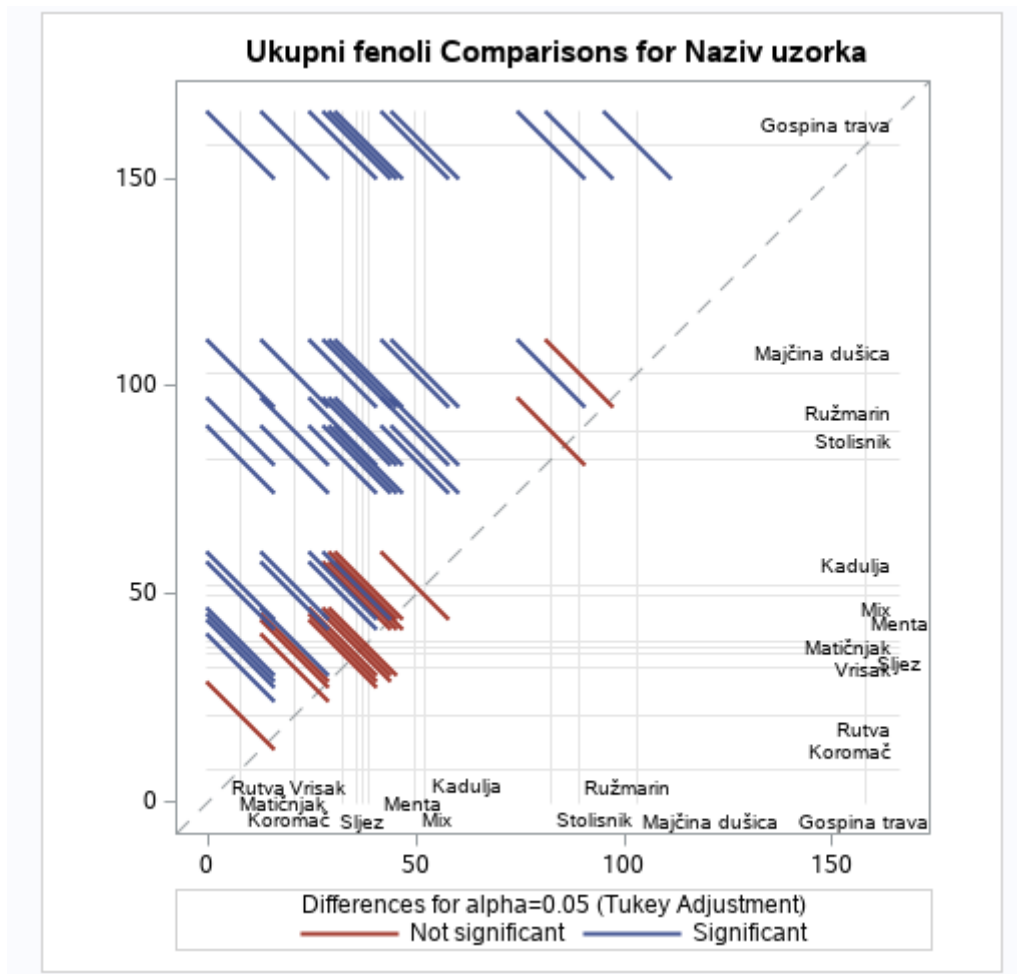
U svrhu bolje preglednosti rezultati su prikazani grafički na Slici 7.



Slika 7. Grafički prikaz sadržaja ukupnih fenola

Za uzorak smjese određen je ukupan sadržaj polifenola 49,65 GAE mg/L. Izračunata je prosječna vrijednost 11 uzoraka koja iznosi 59,72 GAE mg/L. Dobivena vrijednost uzorka smjese i prosječna vrijednost međusobno se razlikuju za 17 %. Točnost korištene UV/VIS spektrofotometrijske metode dozvoljava maksimalna odstupanja u odnosu na standardni uzorak do 5 %. Uzevši u obzir izvođenje mjerenja, uzorak smjese može se u ovom slučaju razmatrati kao standardni iz čega proizlazi da je odstupanje značajno. Uz pretpostavku kako je došlo do međusobnih reakcija bioaktivnih spojeva prilikom miješanja može se izvesti zaključak o mogućem antagonističkom djelovanju te stoga i manjoj mjerenoj vrijednosti ukupnih polifenola u smjesi u odnosu na otopine pojedinačnih biljaka. Za bolji uvid u međusobne antagonističke ili sinergističke reakcije potrebno je provesti detaljnije istraživanje koristeći napredne metode, primjerice NMR (Nuklearna magnetska rezonancija), HPLC (Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti) ili GC (Plinska kromatografija).

Statistički značajno razlikuje se rezultat sadržaja fenola u uzorku macerata gospine trave, prikazano na Slici 8.



Slika 8. Statistički prikaz međusobnih odstupanja vrijednosti ukupnih fenola

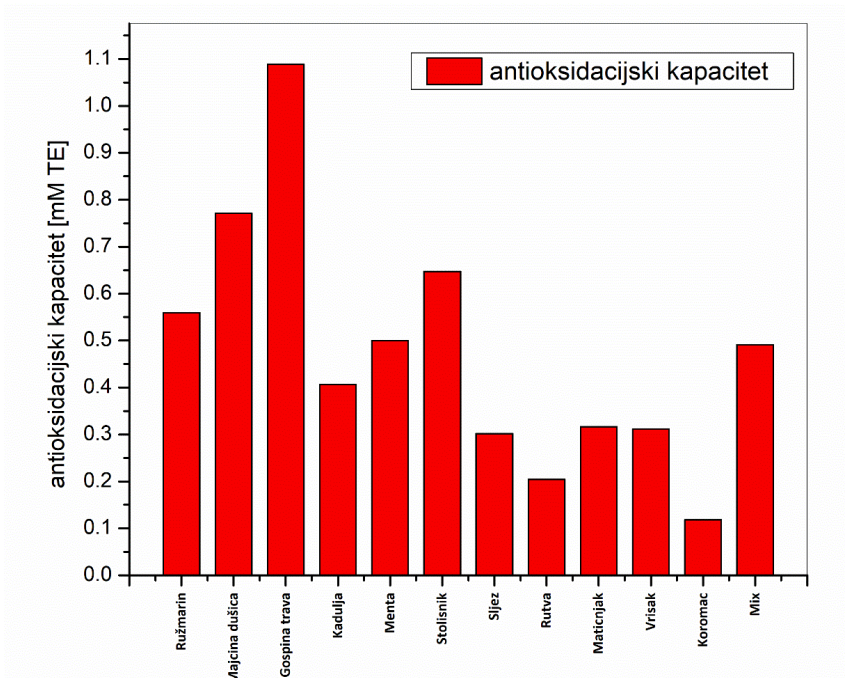
4.2.2. Antioksidacijski kapacitet

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta 11 zasebnih uzoraka i uzorka smjese travarica primijenjena je metoda ABTS, a rezultati su izračunati iz kalibracijske krivulje uz Trolox standard. Pomoću izračunatih srednjih vrijednosti za analizirane spojeve unutar uzoraka napravljena je analiza varijance (ANOVA) u programu *SAS on Demand for Academics* (SAS INSTITUTE INC.). Prikazane srednje vrijednosti označene različitim slovima u Tablici 3. značajno se međusobno razlikuju prema Tukey-evom testu ($p < 0.05$).

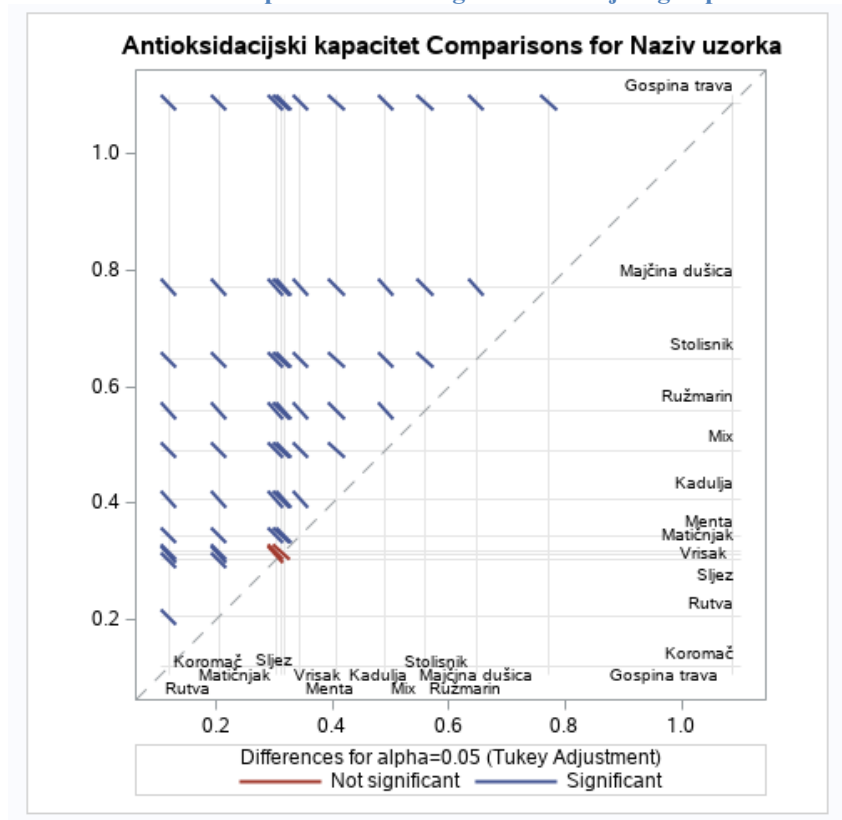
Tablica 3. Rezultati određivanja antioksidacijskog kapaciteta

BILJKA	Antioksidacijski kapacitet (mM TE)	Std. Dev.
Gospina trava (<i>Hypericum perforatum L.</i>)	1,089 a	0,005
Majčina dušica (<i>Thymus vulgaris L.</i>)	0,771 b	0,002
Stolisnik (<i>Achillea millefolium L.</i>)	0,647 c	0,007
Ružmarin (<i>Rosmarinus officinalis L.</i>)	0,559 d	0,002
Menta (<i>Mentha x piperita L.</i>)	0,407 f	0,016
Kadulja (<i>Salvia officinalis L.</i>)	0,344 e	0,002
Matičnjak (<i>Melissa officinalis L.</i>)	0,317 f	0
Sljez (<i>Malva sylvestris L.</i>)	0,312 f	0,002
Vrisak (<i>Satureja montana L.</i>)	0,302 f	0,002
Ruta (<i>Ruta graveolens L.</i>)	0,204 g	0,007
Koromač (<i>Foeniculum vulgare Mill.</i>)	0,118 h	0,005
Mix	0,491	

Iz Tablice 3. vidljivo je kako se antioksidacijski kapacitet uzoraka razlikuje značajno za sve uzorke osim grupe biljaka: matičnjak, sljez, vrisak i menta. Dobivene vrijednosti prikazane su grafički na Slici 9. Također su prikazani rezultati analize varijance (ANOVA) u programu *SAS on Demand for Academics* (SAS INSTITUTE INC.), Slika 10.

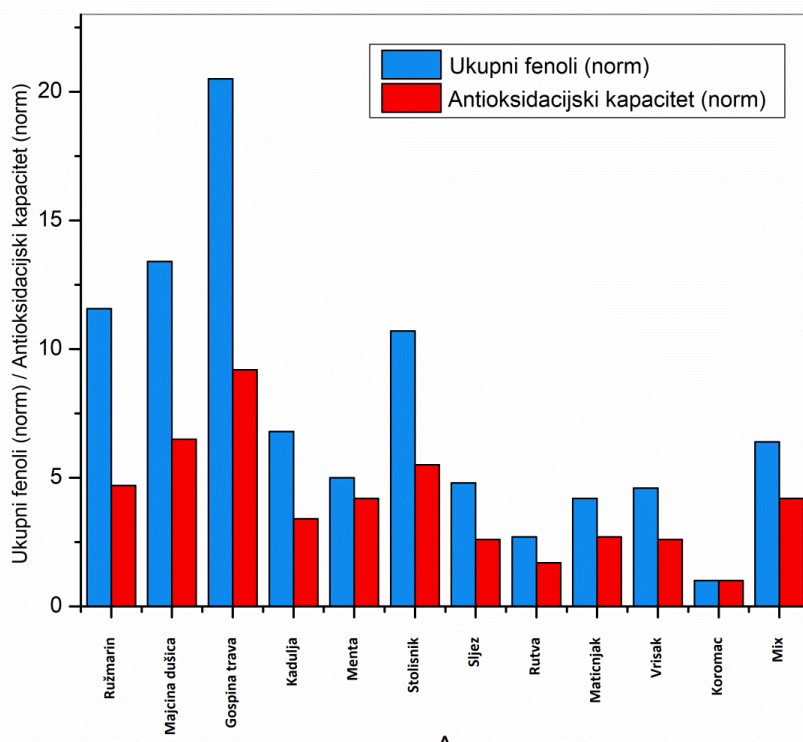


Slika 9. Grafički prikaz određenog antioksidacijskog kapaciteta



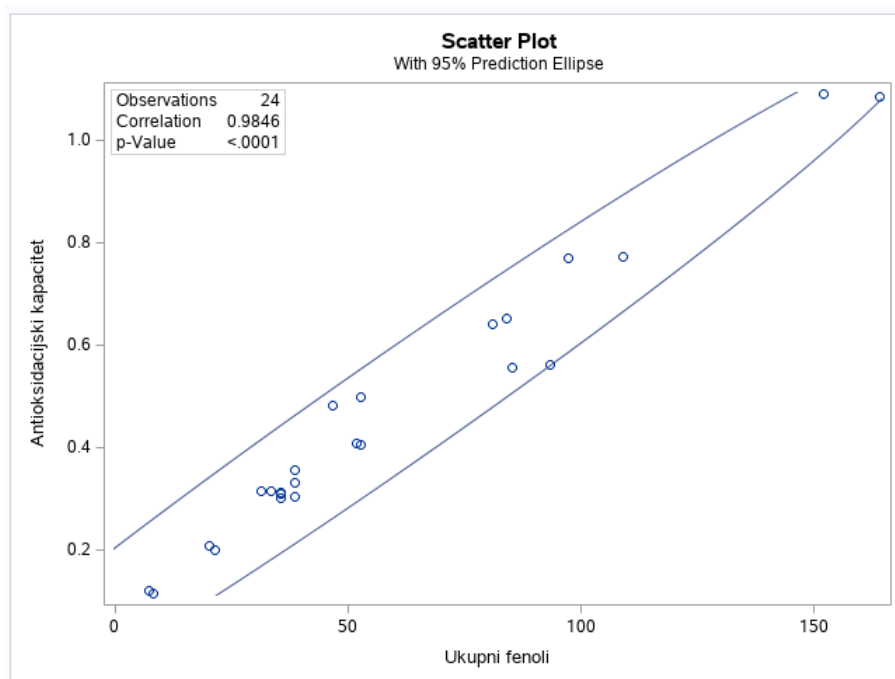
Slika 10. Statistički prikaz međusobnih odstupanja mjerenih antioksidacijskih kapaciteta

Rezultati dobiveni analizom sadržaja ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta ispitivanih uzoraka međusobno su uspoređeni. Usporedba je prikazana Slikom 11.



Slika 11. Usporedba sadržaja ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta

Statističkom analizom utvrđena je visoka pozitivna korelacija između izmjenjenog sadržaja ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti. Korišten je Pearsonov koeficijent korelacije koji je iznosio 0,9846 (Slika 12).



Slika 12. Korelacija mjerenih rezultata ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta

4.3. Usporedba s literaturnim podacima

Gospina trava (Hypericum perforatum)

U ovom pokusu najveći sadržaj ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet pokazao je uzorak travarice gospine trave (158 GAE mg/L i 1,089 mM TE). Za ovaj pokus korišten je vršni dio biljke u cvatnji. Prethodno provedenim istraživanjima utvrđeno je kako je sadržaj ukupnih polifenola u nadzemnom dijelu biljke najveći upravo u tom vegetacijskom periodu (Ayan, A i sur, 2004). Biološki aktivne tvari gospine trave s najvećom medicinskom aktivnošću su: hipericin (naftodiantron) i hiperforin (lipofilni floroglucinol). Hipericin je pigment koji daje crveno obojenje rakiji travarici. Hipericin može imati toksično djelovanje, stoga je potrebno pripaziti na količinu i dužinu ekstrakcije prilikom dodavanja gospine trave u macerate (Tonutti i Liddle, 2010). Bioaktivne tvari izolirane iz ekstrakata gospine trave su: naftodiantroni, floroglucinoli, flavonoidi, biflavoni, fenilpropani i proantocijanidini. Uz to, izolirane su i manje količine tanina, ksantona, esencijalnih ulja. Od flavonoida: hiperozid, rutin, kvercetin, izokvercetin, kempferol, luteolin i mangiferin. Zbog širokog spektra djelovanja na ljudsko zdravlje (antivirusno, antibakterijsko, protuupalno, antioksidacijsko, neuroprotektivno, antitumorsko itd.) gospina trava tradicionalno se koristi u medicini te je predmet mnogih istraživanja (Knezović, 2020).

Wojdyło i sur. (2007) proveli su pokus u kojem su odredili sadržaj polifenola i antioksidacijski kapacitet 32 biljke iz 21 različite porodice. U tom radu gospina trava pokazala je treći po redu najveći antioksidacijski kapacitet među analiziranim uzorcima. Veće vrijednosti izmjerene su kod klinčića i (*Syzygium aromaticum*) iz porodice mitrovki (*Myrtaceae*) te kod čupave vrbolike (*Epilobium hirsutum*) iz porodice pupoljki (*Onagraceae*). I u ovom radu potvrđeno je da gospina trava ima najveći sadržaj ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet.

Porodica usnače (Lamiaceae)

Također, u istom radu Wojdyło i sur. (2007) , pokazali su da biljke iz porodice usnača (*Lamiaceae*) imaju vrlo visok antioksidacijski kapacitet. Za biljke iz porodice usnača karakteristična je ružmarinska kiselina kao glavni antioksidans. Uz ružmarinsku kiselinu, biljke ove porodice sadrže još kafeinsku i hidroksikafeinsku kiselinu. Najveće koncentracije fenolnih kiselina pronađene su kod uzoraka vratića (*Tanacetum vulgare*), matičnjaka (*Melisa officinalis*) i majčine dušice (*Thymus vulgaris*). Prijašnjim istraživanjima također je utvrđeno kako eterična ulja timol i rozmanol biljaka iz porodice usnača (*Lamiaceae*) kao što su majčina

dušica, ružmarin i kadulja pokazuju visoku antioksidacijsku i antimikrobnu aktivnost (Shan et al., 2005; Wang, 2003; Chizzola i sur., 2008).

U ovom radu također su korištene biljke iz porodice usnača i dobiveni rezultati su usporedivi s onima objavljenim u navedenim radovima. Primjerice, majčina dušica pokazala je maksimalne vrijednosti od 103,15 GAE mg/L, odnosno 0,771 mM TE; ružmarin 89,15 GAE mg/L, 0,559 mM TE; kadulja 52,2 GAE mg/L, 0,407 mM TE ; menta 38,5 GAE mg/L, 0,344 mM; vrisak 35,5 GAE mg/L, 0,312 mM TE te matičnjak 32,4 GAE mg/L, 0,317 mM TE.

Na sadržaj bioaktivnih tvari utječu biotski čimbenici poput: klimatskih uvjeta i geografskog položaja, nadmorske visine, oborine i insolacije te abiotski čimbenici poput uzgoja, vegetacijskog razdoblja u kojem se vrši berba, odabir dijelova biljke s najvećom koncentracijom bioaktivnih tvari, način sušenja i skladištenja te otapalo u kojem se tvari ekstrahiraju. Promjena sadržaja bioaktivnih tvari u ovisnosti o vremenskim prilikama i biotipu gospine trave utvrđena je u radu Carrubba i sur. (2021).

Primjerice, u radu Issa-Issa i sur. (2019) istraživane su razlike u koncentraciji ukupnih fenola, flavonoida, fenolnih kiselina i hlapljivih spojeva u 16 uzorka. Utvrđene su signifikantne razlike u koncentraciji spojeva. U istraživanju je promatrano 4 uzorka komercijalne travarice i 12 uzoraka ljekovitog bilja (majčina dušica, paprena metvica, ljekovita kadulja, primorski vrisak, obični komorač, kamilica, blaženi čkalj, očist, obična turica, mirisna metvica, ljekoviti matičnjak i citronovac). Najveća koncentracija ukupnih fenola zabilježena je kod uzoraka u koje je dodan primorski vrisak (*Satureja montana*, 658 mg GAE mg/L).

Primorski vrisak (Satureja montana L.)

Pronađeno je kako vrisak sadrži fenolne spojeve: rutin, kvercetin, kafeinsku, p-kumarinsku, elaginsku, protokatehuinsku, ružmarinsku i siringinsku kiselina (Kremer i sur., 2015). U ovom radu izmjeren je manji sadržaj ukupnih polifenola kod uzorka primorskog vrisaka (*Satureja montana*, 35,5 GAE mg/L). Razlog tomu može se pronaći u navedenim biotskim i abiotskim čimbenicima.

Majčina dušica (Thymus vulgaris L.)

Listovi majčine dušice sadrže 1-2,5 % eteričnog ulja u kojem su glavne fenolne sastavnice timol (36,0-55%) i karvakrol (1-4 %) (Jurić, 2018). Majčina dušica vrlo je pogodna za proizvodnju aromatiziranih rakija destilacijom, ali i maceracijom. Okus i miris koji daje je tipičan, a boja je izrazito svijetlo žuta (Sučević, 1997).

Ružmarin (Rosmarinus officinalis L.)

Spojevi u ružmarinu su: flavonoidi genkvanin, cirsimaritin i homoplantagin; fenolne kiseline: ružmarinska, klorogenska i kafeinska kiselina i fenolni diterpeni : karnosol, karnosolna kiselina i rozmanol (Begum i sur., 2013). Ružmarinska kiselina, karnosol i karnosolna kiselina su najznačajniji fenolni spojevi ružmarina, izraženih antioksidacijskih svojstava (Erkan i sur., 2008; Borrás-Linares i sur., 2014). Ružmarin u maceratima daje blagu gorčinu te svijetlo zelenu boju, dok u destilatima daje nježan okus (Sučević, 1997).

Ljekovita kadulja (Salvia officinalis L.)

Poznato je antiseptičko djelovanje kadulje za što je zaslužan glavni sastojak tujon uz cinol, borneol i bornilacetat. Tujon može izazvati i brojne tegobe ovisno o konzumiranoj količini stoga treba paziti pri doziranju i primjeni pripravaka (Keršek, 2004). Ljekovito djelovanje kadulje pripisuje se fenolnim kiselinama, fenolnim glikozidima, diterpenoidima i flavonoidima (Capek i Hřibalová, 2004). Pizzale i sur. (2002) proučavali su antioksidacijski kapacitet dvaju varijeteta kadulje te su na temelju dobivenih rezultata donijeli zaključak kako je sadržaj bioaktivnih tvari veći u grčkoj kadulji (*Salvia fruticosa*) nego u ljekovitoj (*Salvia officinalis*). U Hrvatskoj se grčka kadulja može naći na otoku Visu (<https://www.plantea.com.hr/grcka-kadulja/>). Kadulja destilatima daje ugodnu, ali specifičnu aromu. U maceratima je izraženija gorčina te stoga treba pripaziti na količinu. Obojenje rakije je svijetlo žuto. U radu Sučević (1997) preporuka je dodavati kadulju destilatima u količini 300 g na 100 l rakije.

Paprena metvica (Mentha x piperita L)

Eterično ulje mente sadrži mentilacetat, menton, pulegon i mentofuran. Ljekoviti dijelovi mente, listovi sadrže ružmarinsku kiselinu, fenolkarbonske kiseline i triterpenske kiseline (Keršek, 2004). Menta ima specifičan okus po mentolu u maceratima i destilatima te se treba pripaziti da ne prevlada ostale arome (Sučević, 1997).

Matičnjak (Melissa officinalis L.)

Matičnjak, poput ostalih uzoraka iz porodice usnača u svojim listovima sadrži flavonoide kvercitrin i ramnocitrin, te ružmarinsku kiselinu (Sarić I., 2020). Osušeni listovi matičnjaka prilikom dodavanja u macerate ne smije biti prestaro, odnosno ne bi trebalo biti starije od dva mjeseca zbog manjeg intenziteta okusa. Listovi matičnjaka maceratima i destilatima daju zelenkastu boju, osvježavajući miris i okus, ali također i kiselkast okus koji podsjeća na limun okus (Sučević, 1997).

Biljke iz porodice usnača pokazale su također antibakterijsko djelovanje. Primorski vrisak, paprena metvica te kamilica (porodica *Asteraceae*) za gram pozitivne bakterije (*B. cereus*, *L. monocytogenes*, and *S. aurea*), dok su za gram negativne bakterije poput (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, and *Yersinia enterocolitica*) najbolji antibakterijski učinak imali uzorci kamilice i vrisaka (Issa Issa i sur., 2019).

Ruta (Ruta graveolens L.)

Bioaktivne tvari rute koje su utvrđene istraživanjem Melenyk i sur. (2018) flavonoidi: apigenin, rutin, kvercetin, luteolin, izokvercetin i hiperozid, hidroksicimetne kiseline: klorogena, ružmarinska, kafeinska i p-kumarinska te tanini: galna i elaginska kiselina, galokatehin, epigalokatehin i epikatehin. Rutin, po kojemu su vrste roda *Ruta* dobile ime, ima utvrđeno jako antioksidacijsko djelovanje (Flačar, 2017). Prilikom aromatiziranja rakija mogu se koristiti korijen i lišće rute koji daju zelenu boju. Listovi u maceratima daju ugodan okus. Dodavanje korijena maceratima nema značajan utjecaj na okus, dok kod destilata ipak pridonosi okusu s ugodnim aromama. Zbog otrovnosti eteričnog ulja rute važno je pripaziti na količinu koja se dodaje za aromatiziranje destilata (Sučević, 1997). U ovom radu macerirani su listovi rute te je izmjerena vrijednost ukupnih fenola 20,8 GAE mg/L, dok je antioksidacijski kapacitet 0,204 mM TE.

Crni sljez (Malva sylvestris L.)

U radu DellaGreca i sur. (2009) pronađeno je 11 bioaktivnih sastavnica crnog sljeza koje su pokazale antioksidacijsko djelovanje, a sadržaj polifenola najveći je u listovima prema Barros i sur. (2014). Ljekovito djelovanje sljeza poznato je još od davna, spominje se u Bibliji te literatura navodi kako je prije 5000 godina u kineskoj medicini pod imenom „*tung-kuei-tze*“ bio korišten za različite zdravstvene tegobe poput probavnih i dišnih smetnji (Kerešek, 2004).

U ovom radu izmjerena je vrijednost ukupnih fenola sljeza 37 GAE mg/L, te antioksidacijski kapacitet 0,312 mM TE.

Koromač (Foeniculum vulgare Mill.)

Iako je u ovom radu koromač pokazao najmanji ukupan sadržaj polifenola i antioksidacijski kapacitet (7,7 GAE mg/L, odnosno 0,118 mM TE), u dalmatinskim rakijama redovno se može naći u recepturi. Tradicionalno se dodaje radi povoljnog utjecaja na okus travarice (Sučević, 1997). U sjemenkama koromača koncentracija bioaktivnih tvari veća je nego u cvjetovima i listovima (Ferioli i sur., 2017). Sjemenke koromača sadrže: fenolne kiseline poput ružmarinske kiseline, kafeinske i klorogenske kiseline kao glavne te flavonoide kvercetin i apigenin (Badgular, S. i sur., 2014). Razlika u sadržaju bioaktivnih tvari također je utvrđena ovisno o geografskom položaju te u divljem i kultiviranom koromaču (Faudale i sur., 2008; Ferioli i sur., 2017).

U skladu s gore navedenim literaturnim podacima koji navode utjecaj različitih sadržaja na bioaktivne tvari i antioksidacijsko djelovanje mogu se razmatrati i rezultati dobiveni u ovom radu. Zamijećena odstupanja u odnosu na literaturom opisane vrijednosti mogu se pripisati utjecaju biotskih i abiotskih čimbenika, načinu sušenja, skladištenja i ekstrahiranja uzoraka. Za jasniji uvid u sinergistička i antagonistička djelovanja biljaka u priređenim rakijama travaricama u budućim istraživanjima trebalo bi uključiti napredne analitičke metode. Na taj način dobio bi se bolji uvid u komponente kao što su fenolne kiseline, flavonoidi i spojevi koji pridonose antioksidacijskom potencijalu.

5. Zaključak

U ovom radu ispitan je ukupan sadržaj bioaktivnih tvari u rakijama travaricama nakon provedene maceracije 11 odabranih samoniklih mediteranskih biljaka koje se tradicionalno koriste za aromatiziranje rakije.

Ispitani su opći kemijski parametri rakije komovice, koja je korištena kao baza za maceraciju, kao što su alkoholna jakost, ukupna kiselost i ukupni esteri.

Metodom Folin-Ciocalteu određen je sadržaj ukupnih fenola, a metodom ABTS antioksidacijski kapacitet pripremljenih macerata.

Najveći sadržaj ukupnih fenola dobiven je iz macerata gospine trave. Statističkom analizom utvrđeno je značajno odstupanje od rezultata ostalih uzoraka. Dobivena vrijednost uzorka smjese i prosječna vrijednost pojedinačnih macerata međusobno se razlikuju za 17 %. Zaključeno je da na zamječenu razliku utječe sinergistička i antagonistička djelovanja bioaktivnih tvari u otopini.

Najveći antioksidacijski kapacitet određen je za macerat gospine trave, a slijede ga macerati majčine dušice, stolisnika i ružmarina.

Statističkom usporedbom rezultata ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta utvrđen je visoki stupanj pozitivne korelacije ispitivanih macerata.

Dobiveni rezultati ovog rada mogu poslužiti u svrhu kreiranja rakije travarice dodatkom aromatičnog bilja koje uz umjerenu konzumaciju mogu imati pozitivan učinak na ljudsko zdravlje.

Literatura

1. Ayan, A. K., Çirak, C. & Yanar, O. Variations in total phenolics during ontogenetic, morphogenetic, and diurnal cycles in *Hypericum* species from Turkey. *J. Plant Biol.* 49, 432–439 (2006).
2. Badgujar, S. B., Patel, V. V., & Bandivdekar, A. H. (2014). *Foeniculum vulgare* Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. *BioMed Research International*
3. Barros, L., Carvalho, AM., Ferreira, IC. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food Chem Toxicol.* ;48(6):1466-72. doi: 10.1016/j.fct.2010.03.012.
4. Begum, A., Sandhya, S., Shaffath Ali, S., Ravidran Vinod, K., Reddy, S., Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 12, 61-73.
5. Borrás-Linares, I., Stojanović, Z., Quirantes-Pine, R., Arraez-Roman, D., Švarc-Gajić, J., Fernandez-Gutierrez, A., Segura-Carretero, A. (2014). *Rosmarinus officinalis* leaves as a natural source of bioactive compounds. *Int. J. Mold. Sci.* 15, 20585-20606.
6. Capek, P., Hribalova, V., (2004). Water-soluble polysaccharides from *Slavia officinalis* L. possessing immunomodulatory activity. *Phytochemistry*, 65, 1983-1992
7. Carrubba, A., Lazzara, S., Giovino, A., Ruberto, G., Napoli, E., (2021). Content variability of bioactive secondary metabolites in *Hypericum perforatum* L., *Phytochemistry Letters*, Volume 46, Pages 71-78, ISSN 1874-3900, <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2021.09.011>.
8. DellaGreca, M., Cutillo, F., Abrosca, BD., Fiorentino, A., Pacifico, S, Zarrelli, A. (2009). Antioxidant and Radical Scavenging Properties of *Malva Sylvestris*. *Natural Product Communications*;4(7). doi:[10.1177/1934578X0900400702](https://doi.org/10.1177/1934578X0900400702)
9. Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnolic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem.* 110, 76-82.
10. Faudale, M., Viladomat, F., Bastida, J., Poli, F., Codina, C., 2008. Antioxidant activity and phenolic composition of wild, edible, and medicinal fennel from different mediterranean countries. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1912–1920.

11. Ferioli, F., Giambanelli, E., & D'Antuono, L. F. (2017). Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. subsp. *piperitum*) florets, a traditional culinary spice in Italy: evaluation of phenolics and volatiles in local populations, and comparison with the composition of other plant parts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(15), 5369-5380

12. Flačer, D. (2017). Antibakterijska i antioksidativna aktivnost ekstrakata rutvice (*ruta graveolens* L.) dobivenih optimiranom ekstrakcijom u eutektskom otapalu kolin-klorid/limunska kiselina (Diplomski rad). Preuzeto s <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:598784>

13. Halliwell, B. (2002) Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and In Vivo. *Handbook of Antioxidants*, University of Southern California School of Pharmacy Los Angeles, California, Second Edition

14. Hanousek Čiča, K. , Lukin, P., Derewiaka, D. , Mrvčić, J., Stanzer, D. (2022). Chemical Composition, Physical Properties, and Aroma Profile of Ethanol Macerates of Mistletoe (*Viscum album*). *Beverages* 2022, 8, 46. <https://doi.org/10.3390/beverages8030046>. Academic Editors: Giacomo L. Petretto and Stamatina Kallithraka

15. Issa-Issa, H., Ivanišova, E., Noguera- Artiaga, L., Kantor, A., Lopez-Lluch, D., Kačaniova, M., Szumny, A., Carbonell – Barrachina, A. (2019). Effect of the herbs used in the formulation of a Spanish herb liqueur, Herbero de la Sierra de Mariola, on its chemical and functional compositions and antioxidant and antimicrobial activities. *European Food Research and Technology* Vol. 245, 1197-1206

16. Jedrejčić, P. (2017). Karakterizacija Biske - tradicionalne istarske travarice- završni rad: Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnoški fakultet. Zagreb.

17. Jurić, V. (2018). Određivanje hlapljivih spojeva i ukupnih fenola iz ružmarina, kadulje, origana i timijana nakon postupka liofilizacije i sušenja sprejem, Završni rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnoški fakultet

18. Karabegović I., Vukosavljević P., Novaković M., Gorjanović S., Džamić A., Lazić M. (2012). Influence of the storage on bioactive compounds and sensory attributes of herbal liqueur. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* Vol. 7, 1587 – 1598

19. Keršek. E. (2004). Ljekovito bilje u vinu i rakiji : V. B. Z. studio, Zagreb.

20. Knezović, N. (2020). Utjecaj gospine trave na zdravlje. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet
21. Kremer, D., Košir, I., Zovko Končić, M., Čerenak, A., Potočnik, T., Srečec, S. & Randić, Marko, Kosalec Ivan (2015) Antimicrobial and antioxidant properties of *Satureja montana* L. and *S. subspicata* Vis. (Lamiaceae). *Current drug targets*, 16 (14), 1623-1633
doi:10.2174/1389450116666150202161926
22. Léauté. R. (1990). Distillation in Alambic: *American Journal of Enology and Viticulture*, 41 (1), 90-103
23. Ličanin, L. (2016). Nove tehnologije za stabilizaciju polifenila u dodacima prehrani : diplomski rad (Diplomski rad). Preuzeto s <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:456247>
24. Łuczaj, L., Jug-Dujaković. M., Dolina K. i Vitasović-Kosić. I. (2019). Plants in alcoholic beverages on the Croatian islands, with special reference to rakija travarica. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* DOI : doi.org/10.1186/s13002-019-0332-1
25. Matašić. M. (2008) Antioksidacijski kapacitet polifenolnih spojeva različitih struktura istražen UV/VIS spektrofotometrijskim metodama – diplomski rad: Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet. Zagreb.
26. Mujić, I. (2010), Tehnologija proizvodnje jakih alkoholnih pića, Sveučilište u Rijeci, Poljoprivredni odjel Poreč, Rijeka
27. Mv, Melnyk & Vm, Vodoslavskiy & Ma, Obodianskyi. (2018). Research of phenolic compounds of *ruta graveolens* L. And *stellaria media* (L.) Vill. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 11. 152. 10.22159/ajpcr.2018.v11i9.25920.
28. Naczki, M., Shahidi, F. (2006) Phenolics in cereal, fruits and vegetables: Occurrence extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 1523-1542.
29. Paianoa. V., Bianchia. G., Davolia. E. Negrib. E., Fanellia. R., Fattorea. E. (2014) Risk assessment for the Italian population of acetaldehyde in alcoholic and non-alcoholic beverages. *Food Chemistry* Vol. 154, 26-31
30. Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. (2006) Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res. Int.* 39, 791-800.

31. Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Uberegger, E., Conte, L.S. (2002). Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. indercedens*) extracts related to their phenolic compound content, *J. Sci. Food Agric.* 82:1645-1651.
32. Poljanec, K., (2017). Proizvodnja biljnih ekstrakata, završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
33. Pravilnik o analitičkim metodama za jaka alkoholna pića. (2005). Narodne novine br. 138/05.
34. Pravilnik o jakim alkoholnim pićima. (2009). Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Narodne novine. NN 61/2009
35. Pregiban, K. (2017). Metode mjerenja antioksidativne aktivnost – završni rad Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju
36. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9-10): 1231–1237.
37. Sarić, I. (2020). Usporedba bioraspoloživosti aktivnih tvari iz tekućih i mikroinkapsuliranih ekstrakata ljekovitog mediteranskog bilja . Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet.
38. Sharma, S.K., Singh, L., Singh, S. (2013). A review on medicinal plants having antioxidant potential. *Int J Pharm Bio Sci* 1(3):404-409.
39. Vitasović-Kosić. I., Bakan. B., Fištravec. G. i Kaligarič. M. (2021). Korisne biljke od Krasa do Kvarnera: Priručnik za prepoznavanje samoniklih biljaka s naglaskom na njihovu korisnost. University of Maribor: Maribor.
40. Wang, S.Y. (2003). Antioxidant capacity of berry crops, culinary herbs and medicinal herbs. *Acta Hort.* 620, 461-473. DOI: 10.17660
41. Web 1 lokacija, Republika Hrvatska Ministarstvo poljoprivrede:
<https://poljoprivreda.gov.hr/istaknute-teme/hrana-111/oznake-kvalitete/oznake-zemljopisnog-podrijetla-jakih-alkoholnih-pica/230> posjećeno 31.8.2022.
42. Web 2 lokacija: Priroda i biljke <https://www.plantea.com.hr/biljke/ljekovito-bilje/> posjećeno 1.9.2022.

43. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105, 940-949.
44. Žilić, I. (2014). Udžbenik za sakupljanje samoniklog bilja, Poljoprivredna zadruga Glinska Banovina, ISBN 978-953-58316-0-0.

Popis slika, grafova i tablica

Slika 1. Digitalni denzitometar.....	11
Slika 2. Mjerenje ukupne kiselosti destilata.....	12
Slika 3. Mjerenje ukupnih estera.....	13
Slika 4. Maceracija.....	14
Slika 5. Spektrofotometar Perkin Elmer, Lambda XLS +.....	16
Slika 6. Obojenje macerata.....	20
Slika 7. Grafički prikaz sadržaja ukupnih fenola.....	23
Slika 8. Statistički prikaz međusobnih odstupanja vrijednosti ukupnih fenola.....	24
Slika 9. Grafički prikaz određenog antioksidacijskog kapaciteta.....	26
Slika 10. Statistički prikaz međusobnih odstupanja mjerenih antioksidacijskih kapaciteta.....	26
Slika 11 Usporedba sadržaja ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta.....	27
Slika 12. Korelacija mjerenih rezultata ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta.....	27
Tablica 1. Korišteni biljni materijal.....	15
Tabela 2. Rezultati određivanja ukupnih polifenola.....	22
Tablica 3. Rezultati određivanja antioksidacijskog kapaciteta.....	25

Životopis

Katarina F. Rončević rođena 20.09.1997. godine u Zagrebu . Završila srednju školu 2016. godine u Zagrebu, X. gimnaziju „Ivan Supek“ te osnovnu glazbenu školu g.š. Rudolfa Matza u Zagrebu. Koristi se s tri strana jezika: engleski (C1), njemački (A2) i španjolski (A2).

Tijekom osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja aktivno se bavi plivanjem u Zagrebačkom plivačkom klubu (ZPK) te plivanjem perajama u ronilačkom klubu Geronimo. Osvojila stipendiju Hrvatskog olimpijskog odbora za 2015./16. godinu.

Od akademske godine 2016./17., pohađala preddiplomski studij Agroekologije na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Uspješno brani završni rad pod naslovom „*Bilanca dušika u agroekološkim uvjetima hrvatske zapadno – panonske poljoprivredne regije*“ uz mentorstvo izv. prof. dr. sc. Aleksandre Perčin.

Aktivna članica Međunarodnog studentskog udruženja studenata agronomije i srodnih znanosti (IAAS) od 2017. godine. Unutar Udruge sudjelovala u organizaciji međunarodnih konferencija i radionica te postala certificirani trener radionica *mekih* vještina. Obnašala dužnost predsjednice Udruge u razdoblju 2019. –2021. godine.

Za akademsku godinu 2017./18. dobitnica STEM stipendije Ministarstva znanosti i obrazovanja Republike Hrvatske.

Akademske godine 2019./20. upisuje diplomski studij Hortikulture usmjerenja Vinogradarstvo i vinarstvo. Tijekom diplomskog studija, 2021. i 2022. godine, radila studentsku stručnu praksu u Hrvatskoj agenciji za poljoprivredu i hranu (HAPIH) – Centar za vinogradarstvo, vinarstvo i uljarstvo.

Brani diplomski rad 23. rujna 2022. pod naslovom „*Bioaktivni spojevi iz tradicionalno korištenih biljaka u rakiji travarici*“ pod mentorstvom doc. dr. sc. Marina Mihaljevića Žulja.