

UDK: 615.322:633.81/.85
615.279

Antioksidativna aktivnost odabranih začina sa tržišta Srbije

Vanja Todorović*, Anđelka
Dančetović, Nevena Dabetić,
Slađana Šobajić, Bojana Vidović

Katedra za bromatologiju, Farmaceutski
fakultet, Univerzitet u Beogradu, Vojvode
Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

* Autor za korespondenciju:

Vanja Todorović
Katedra za bromatologiju, Farmaceutski
fakultet, Univerzitet u Beogradu, Vojvode
Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija
vanja.todorovic@hotmail.com

Kratak sažetak

Začini su aromatični delovi začinskih biljaka, karakterističnog mirisa i ukusa, koji se dodaju tokom pripreme hrane radi postizanja odgovarajućih organoleptičkih osobina, kao i zbog produženja roka trajanja namirnica. S obzirom na to da predstavljaju izvore prirodnih antioksidanasa, začini se smatraju i funkcionalnim sastojcima hrane. Osnovni cilj ovog rada jeste analiza sadržaja ukupnih polifenola i flavonoida odabranih začina sa našeg tržišta, kao i komparativna procena njihove antioksidativne aktivnosti. Istraživanje je sprovedeno na komercijalno dostupnim uzorcima deset različitih vrsta začinskog bilja. Nakon ekstrakcije etanolom, sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja (Total Polyphenol Content, TPC), kao i sadržaj flavonoida (Total Flavonoid Content, TFC) određen je spektrofotometrijskim metodama. Procena antioksidativnog potencijala izvršena je korišćenjem tri različita testa (FRAP, DPPH, ABTS). Na osnovu dobijenih rezultata, računskim putem određene su vrednosti antioksidativnog kompozitnog indeksa (ACI). Najveći sadržaj TPC utvrđen je za cimet ($61,3 \pm 3,1$ mg GAE/g), slede ruzmarin ($30,2 \pm 3,6$ mg GAE/g) i origano ($21,0 \pm 0,8$ mg GAE/g), dok je najmanji sadržaj bio prisutan u uzorku vlašca ($4,3 \pm 0,0$ mg GAE/g). Sadržaj TFC kretao se u rasponu od $3,2 \pm 0,4$ μ mol CE/g (kim) do $133,7 \pm 6,1$ μ mol CE/g (cimet). U pogledu antioksidativnog potencijala, sva tri testa su pokazala konzistentne rezultate. Utvrđena je statistički značajna povezanost između sadržaja TPC i ACI vrednosti ($r = 0,976$; $p < 0,01$). Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da cimet, ruzmarin i origano predstavljaju bogat izvor polifenolnih jedinjenja i poseduju izražen antioksidativni potencijal.

Ključne reči: začini, polifenoli, flavonoidi, antioksidativni kompozitni indeks

UVOD

Začini su proizvodi biljnog porekla, svojstvenog mirisa i ukusa, koji se dodaju prehrambenim proizvodima radi postizanja odgovarajućeg mirisa i ukusa ili radi poboljšanja njihove svarljivosti. U promet se stavljaju kao različiti delovi aromatičnih biljaka (koren, list, kora, plod i dr.) a mogu biti u obliku većih ili manjih delova ili u obliku praha [1].

Poslednjih godina sve je veće interesovanje usmereno ka proučavanju hemijskog sastava kao i aktivnosti biološki aktivnih sastojaka začinskog bilja. Naime, brojna istraživanja su pokazala da sastojci začinskih biljaka poseduju karminativno, antimikrobno, antiinflamatorno, imunomodulatorno kao i antiproliferativno delovanje [2]. Pokazano je da jedinjenja prisutna u začинима mogu imati pozitivan efekat na prevenciju i tok bolesti izazvanih narušenom redoks ravnotežom, kao što su ateroskleroza, dijabetes, katarakta i karcinom [3]. Posebna pažnja je usmerena na proučavanje sadržaja polifenolnih jedinjenja i njihovih antioksidativnih svojstava, što može biti značajno ne samo sa aspekta pro-

duženja roka upotrebe naročito upakovanih namirnica, već i u smislu upotrebe začinskog bilja kao funkcionalnih sastojaka hrane [4].

Naime, polifenoli su velika grupa strukturno različitih jedinjenja koja se mogu klasifikovati na osnovu više kriterijuma: prema hemijskoj strukturi, rastvorljivosti, poreklu i lokaciji u biljkama, kao i biološkoj funkciji. Jedna od najjednostavnijih klasifikacija jeste da se polifenolna jedinjenja dele na fenolne kiseline, flavonoide, stilbene i lignane. Flavonoidi su najzastupljenija grupa fenolnih jedinjenja u biljkama i na osnovu hemijske strukture razlikuju se: antocijani, halkoni, flavanoni, flavoni, flavonoli, i izoflavonoidi [5].

U začinskim biljkama predominantno su prisutni flavonoidi (flavoni i flavonoli) i fenolne kiseline. Neki od začina se odlikuju prisustvom karakterističnih polifenolnih jedinjenja, pa su tako furanokumarini prisutni u peršunu, dok je kurkuma bogata kurkuminoidima. Iako se koriste u relativno malim količinama, začini mogu značajno doprineti ukupnom unosu dijetarnih antioksidanasa, naročito polifenolnih jedinjenja [6]. Ipak,

prilikom ispitivanja njihove biološke aktivnosti, treba uzeti u obzir različite nivoe unosa, zatim uticaj pripreme, uticaj metaboličkih procesa kojima začinske biljke podležu u organizmu, kao i uticaj drugih namirnica s obzirom da se retko konzumiraju samostalno.

Osnovni cilj ovog rada bio je analiza sadržaja ukupnih polifenola i flavonoida odabranih začina sa našeg tržišta kao i da se izvrši poređenje njihove antioksidativne aktivnosti.

MATERIJALI I METODE

Istraživanje je obuhvatilo deset različitih vrsta komercijalno dostupnih začina. Uzorkovanje je izvršeno u triplikatu, svi uzorci su bili osušeni i nisu dodatno usitnjavani. Pregled ispitivanih uzoraka kao i njihove karakteristike prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1: Spisak analiziranih začina

Uzorak	Naziv, opis, latinski naziv	Proizvođač	Deo biljke	Familija
1	Cimet, mleveni (lat. <i>Cinnamomum zeylancium</i>)	A.D. Prehrambena industrija „Aleva“, Srbija	Kora	<i>Lauraceae</i>
2	Biber, crni, mleveni (lat. <i>Piper nigrum</i>)	A.D. Prehrambena industrija „Aleva“, Srbija	Plod	<i>Piperaceae</i>
3	Ruzmarin, usitnjeni, (lat. <i>Rosmarinus officinalis</i>).	Nestle Adriatic S d.o.o. Beograd, Srbija	List	<i>Lamiaceae</i>
4	Origano, mleveni (lat. <i>Origanum vulgare</i>)	Nestle Adriatic S d.o.o. Beograd, Srbija	Nadzemni deo	<i>Lamiaceae</i>
5	Mirođija, seckana (lat. <i>Anethum graveolens</i>)	Nestle Adriatic S d.o.o. Beograd, Srbija	List	<i>Apiaceae</i>
6	Kurkuma, mlevena (lat. <i>Curcuma longa</i>)	AWT International d.o.o. Beograd, Srbija	Rizom	<i>Zingiberaceae</i>
7	Peršun, sušeni, sečeni (lat. <i>Petroselinum crispum</i>)	A.D. Prehrambena industrija „Aleva“, Srbija	List	<i>Apiaceae</i>
8	Bosiljak, mrvljeni, sušeni (lat. <i>Ocimum basilicum</i>)	AWT International d.o.o. Beograd, Srbija	Nadzemni deo	<i>Lamiaceae</i>
9	Kim, celo zrno (lat. <i>Carum carvi</i>)	Delhaize Serbia, d.o.o. Beograd, Srbija	Plod	<i>Apiaceae</i>
10	Vlašac, seckani (lat. <i>Allium schoenoprasum</i>)	Delhaize Serbia, d.o.o. Beograd, Srbija	List	<i>Alliaceae</i>

Priprema ekstrakata

Za potrebe ispitivanja pripremljeni su etanolni (60%) ekstrakti začina, prema postupku koji je opisan u literaturi [4]. Naime, odmereno je po 2,5 g svakog začina i preneseno u plastične tube. Dodato je po 50 ml 60% etanola i posle 24h ekstrakcije izvršeno je centrifugiranje. Nakon filtriranja supernatanta, ekstrakti su dopunjeni do zapremine od 50 ml etanolnim rastvorom.

Određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja (TPC)

Sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja određen je korišćenjem *Folin Ciocalteu* reagensa [7]. U razblaženi etanolni ekstrakt (25 µl) dodat je komercijalni *Folin Ciocalteu* reagens (2,5 ml) koji je prethodno razblažen 10x i vodeni rastvor Na₂CO₃ (2 ml, 7,5%). Sadržaj je ostavljen da se inkubira 2h zaštićen od svetlosti. Nakon mešanja, apsorbancija reakcione smeše merena je na talasnoj dužini od 760 nm (*UV-vis J.P. SELECTA* spektrofotometar), u odnosu na slepu probu koja je pripremljena identično kao reakciona smeša, sa razlikom što je umesto 25 µl uzorka uzeto 25 µl 60% etanola. Sadržaj ukupnih polifenola određen je metodom standardne krive koja je konstruisana upotrebom standarda – galne kiseline (0,1 g/l) u opsegu koncentracija 10–80 mg/l. TPC je izražen kao mg ekvivalenta galne kiseline po gramu uzorka (mg GAE/g).

Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida (TFC)

Sadržaj ukupnih flavonoida u ekstraktima začinskog bilja meren je spektrofotometrijskom metodom uz upotrebu AlCl₃, koja se bazira na stvaranju kompleksa flavonoid-aluminijum [8]. U razblaženi ekstrakt začina (500 µl) dodat je AlCl₃ (150 µl, 10%), NaNO₂ (150 µl, 5%), NaOH (1 ml, 1 M) i destilovana voda (3,2 ml). Reakciona smeša je promešana i njena apsorbancija je odmah merena na talasnoj dužini od 510 nm, u odnosu na slepu probu za čiju pripremu je umesto uzorka korišćena ista zapremina 60% etanola. Sadržaj ukupnih flavonoida određen je metodom standardne krive koja je konstruisana uz upotrebu katehina (1 g/l) kao standarda u opsegu koncentracija 100 – 700 mg/l. TFC je izražen kao µmol katehin ekvivalenta po gramu uzorka (µmol CE/g).

Određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH testom

DPPH test se zasniva na redukciji ljubičastog DPPH radikala (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), koji primanjem protona vodonika ili redukcijom sa drugim radikalom prelazi u žuto obojeni difenilpikrilhidrazilin [9]. Razblaženim uzorcima (200 µl) dodat je DPPH radni rastvor (2,8 ml) nakon čega je intenzitet boje meren spektrofotometrijski na 517 nm. Izračunavanja su vršena metodom standardne krive koja je konstruisana na osnovu apsorbancija rastvora standarda (eng. *Trolox*) u etanolu

u opsegu koncentracija 0,2 – 0,7 mmol/l. Procenat inhibicije je matematički dobijen prema formuli: $\% \text{Inh} = (\text{Asp} - \text{Au}) / \text{Asp}$ (Inh – inhibicija; Asp – apsorbancija slepe probe; Au – apsorbancija uzorka). Rezultati su izraženi kao $\mu\text{mol Trolox}$ ekvivalenta po gramu uzorka ($\mu\text{mol TE/g}$).

Određivanje antioksidativne aktivnosti ABTS⁺ (TEAC) testom

TEAC (eng. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) je test koji se zasniva na reakciji plavo obojenog ABTS⁺ [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)] radikala sa antioksidativnim jedinjenjima pri čemu dolazi do njegovog obezbojavanja. Step en obezbojavanja se određuje spektrofotometrijski na 734 nm [10].

Za analizirane uzorke, napravljena su različita razblaženja. Uzorcima (30 μl) je dodat ABTS radni rastvor (3 ml), i ostavljen da se inkubira 6 minuta u vodenom kupatilu na 37°C. Nakon mešanja merene su apsorbancije. Korišćenjem izmerenih apsorbancija odgovarajućih razblaženja, izračunati su procenti inhibicije po formuli: $\% \text{Inh} = (\text{Asp} - \text{Au}) / \text{Asp}$. Zatim je za svaki uzorak konstruisana kalibraciona kriva koja predstavlja zavisnost procenta inhibicije od koncentracije. Upoređivanjem jednačina krive za svaki pojedinačni uzorak i jednačine krive za standard (eng. Trolox), u opsegu koncentracija od 0,2 do 1,5 mmol/l, dobijeni su rezultati koji su izraženi kao $\mu\text{mol Trolox}$ ekvivalenta po gramu uzorka ($\mu\text{mol TE/g}$). Preciznije, rezultati su dobijeni deljenjem koeficijenata pravca jednačine kalibracione krive uzorka i jednačine kalibracione krive dobijene za standard.

Određivanje antioksidativne aktivnosti FRAP testom

U toku FRAP analize (eng. Ferric Reducing Antioxidant Power) dolazi do doniranja elektrona od strane antioksidanasa i posledične redukcije kompleksa feri-tripiridiltriazina [Fe^{3+} -TPTZ] do intenzivno plavog kompleksa fero-tripiridiltriazina [Fe^{2+} -TPTZ] pri niskim pH vrednostima [11].

Analiza je izvedena na sledeći način: u razblaženi uzorak (100 μl) dodat je FRAP reagens (3ml) nakon čega je sadržaj ostavljen da se inkubira u vodenom kupatilu 40 minuta na 37°C. Nakon završene inkubacije i mešanja, merena je apsorbancija reakcione smeše na spektrofotometru na 593 nm u odnosu na slepu probu. Izračunavanja su vršena metodom standardne krive koja je konstruisana korišćenjem rastvora Trolox-a kao standardne supstance u opsegu koncentracija 0,1 – 0,8 mmol/l. Antioksidativna aktivnost izražena je kao $\mu\text{mol Trolox}$ ekvivalenta po gramu uzorka ($\mu\text{mol TE/g}$).

Antioksidativni kompozitni indeks (ACI)

Antioksidativni kompozitni indeks određivan je na osnovu rezultata dobijenih u sva tri primenjena testa (DPPH, ABTS, FRAP), pri čemu je vrednost indeksa od 100 dodeljivana najvišoj vrednosti antioksidativnog potencijala u svakom testu, a zatim je izračunavanje indeksa za sve ostale uzorke u okviru pojedinačnog testa vršeno po formuli:

Indeks Antioksidativnog Potencijala (%) = [(rezultat za uzorak/najbolji rezultat) x 100]

Srednja vrednost indeksa antioksidativnog potencijala ova tri testa predstavljala je ACI vrednost za određeni uzorak začina [12].

Statistička analiza

Sva merenja su vršena u triplikatu, a prikazani rezultati predstavljaju njihovu srednju vrednost i standardnu devijaciju.

Pearson-ov koeficijent korelacije primenjen je za procenu korelacije između vrednosti antioksidativnog kompozitnog indeksa i sadržaja ukupnih polifenola i flavonoida. Statistička analiza urađena je korišćenjem kompjuterskog programa SPSS (Version 20, Chicago, IL, USA).

REZULTATI I DISKUSIJA

Spektrofotometrijskim metodama uz korišćenje standarda za konstruisanje kalibracione krive, kao što je opisano u poglavlju „Materijal i metode“, određen je sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja (TPC) kao i sadržaj ukupnih flavonoida (TFC) u ispitivanim uzorcima. Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 2.

Tabela 2: Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost analiziranih začina

uzorak	TPC (mg GAE/g)	TFC ($\mu\text{mol CE/g}$)	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$)
1	61,3±3,1	133,7±6,1	208,2±1,1	332,4±4,8	1215,8±11,6
2	6,2±0,2	8,8±0,5	0,8±0,0	78,1±1,1	76,6±0,3
3	30,2±3,6	52,7±1,7	107,0±0,2	306,0±11,5	283,8±0,8
4	21,0±0,8	32,0±1,6	106,7±0,3	248,0±3,3	286,4±1,1
5	9,1±0,6	5,8±0,4	85,0±1,6	89,7±1,7	121,5±0,2
6	9,3±0,8	57,3±1,3	41,0±0,9	89,3±6,7	191,2±0,6
7	7,9±0,2	7,1±0,1	14,7±2,8	51,9±1,3	132,3±0,9
8	9,1±0,8	14,2±0,5	103,1±0,2	78,1±0,5	138,5±0,8
9	4,5±0,1	3,2±0,4	41,8±1,7	67,9±3,3	106,4±0,5
10	4,3±0,0	18,4±0,0	4,4±0,6	54,8±1,3	58,0±0,3

TPC – sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja; TFC – sadržaj ukupnih flavonoida; DPPH – (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) test; FRAP – ferric reducing ability of plasma test; ABTS – 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) test; GAE – ekvivalent galne kiseline; CE – katehin ekvivalent; TE – troloks ekvivalent.

Sadržaj *TPC* kretao se u rasponu od 4,3 do 61,3 mg *GAE/g*, pri čemu je najviša vrednost određena za cimet, a zatim slede ružmarin i origano, dok je najmanju vrednost imao vlašac. Poređenja radi, dobijene vrednosti su višestruko veće od vrednosti koje se u literaturi mogu naći za sadržaj *TPC* odabranog zelenog lisnatog povrća, voća i orašastih plodova [13]. Takođe, dobijeni rezultati sugerišu da je cimet bogatiji izvor polifenolnih jedinjenja u poređenju sa zelenim čajem i kakao prahom koji su poznati kao značajni izvori antioksidanasa [14]. Sadržaj ukupnih polifenola u cimetu može se uporediti sa heljdom, žitaricom koja obiluje polifenolnim jedinjenjima [15]. Približno slične vrednosti *TPC* za ružmarin i origano, a dva odnosno tri puta manje u odnosu na cimet (respektivno), mogu se objasniti istom familijom *Lamiaceae* kojoj ove dve začinske biljke pripadaju. Slični rezultati su dobijeni u prethodnom istraživanju *Zenga i saradnika* u kome se *TPC* u analiziranom začinskom bilju kretao u opsegu 3,53–58,25 mg *GAE/g*, i u kome je takođe utvrđeno da je cimet začinska biljka sa izrazito visokim sadržajem ukupnih polifenola [4]. Drugo istraživanje [16] obuhvatilo je različite delove začinske biljke vlašac pri čemu je zaključeno da je sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja i stepen antioksidativne aktivnosti viši u korenu i listu u poređenju sa stabljikom. U pomenutoj studiji, uzorak je bio svež biljni materijal, dok je u ovom istraživanju korišćen osušen vlašac. Prema *Opara i Chohan*, više vrednosti *TPC* primećene su u svim osušanim uzorcima začinskog bilja u poređenju sa svežim materijalom, što predstavlja moguće objašnjenje dobijenih viših vrednosti za sadržaj *TPC* u vlašcu u ovoj studiji u odnosu na rezultate istraživanja *Štajner i sar* [16, 17]. Neophodno je naglasiti i da se sadržaj *TPC* razlikuje u zavisnosti od izbora rastvarača kao i uslova ekstrakcije, što je i pokazano u prethodnim studijama [18].

Na osnovu analize vrednosti dobijenih za sadržaj ukupnih flavonoida koji se kretao u rasponu od 3,2 do 133,7 $\mu\text{mol CE/g}$, može se zaključiti da su dobijeni rezultati u saglasnosti sa prethodno publikovanim istraživanjima [19]. Najviša vrednost *TFC* je utvrđena za cimet, dok je najniži sadržaj flavonoida pokazao uzorak kima. Utvrđene različite vrednosti za *TPC* i *TFC* analiziranog začinskog bilja mogu se objasniti potencijalnim razlikama u sadržaju fenolnih kiselina koje, pored flavonoida, predstavljaju drugu veliku grupu polifenolnih jedinjenja u ovim biljkama [20].

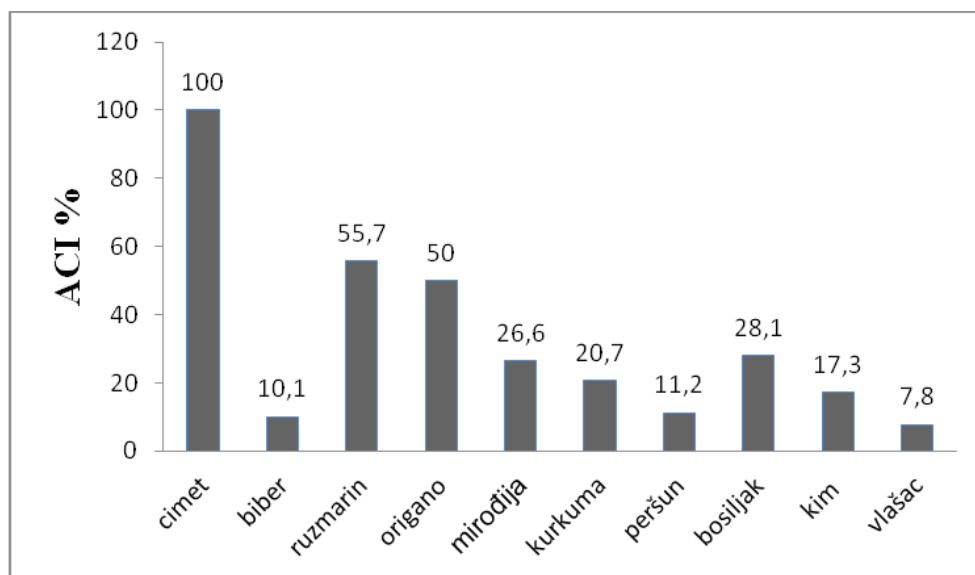
Za *in vitro* ispitivanje antioksidativne aktivnosti različitih namirnica, najboljim pristupom smatra se primena kombinacije nekoliko metoda koji se zasnivaju na različitim principima određivanja antioksidativnog potencijala analiziranog materijala kroz različite mehanizme delovanja [21,22]. Upravo su *DPPH*, *FRAP* i *ABTS* najčešće metode za određivanje *in vitro* antioksidativnog kapaciteta hrane i pića. *DPPH* esej zasnovan je na najjednostavnijem mehanizmu antioksidativne zaštite ($\text{DPPH}\cdot + \text{RH (antioksidans)} \rightarrow \text{DPPH-H} + \cdot\text{R}$). *FRAP* metoda se bazira na sposobnosti antioksidanasa, rastvornih u vodi, da redukuju gvožđe iz Fe^{3+} na Fe^{2+} . Suprotno

od *DPPH* metode, koja je pogodna za određivanje antioksidansa rastvornih u organskim rastvaračima (etanol, metanol), *FRAP* metodom mogu se odrediti antioksidativna svojstva hidrosolubilnih jedinjenja [23]. Metoda *ABTS* u osnovi predstavlja merenje procenta inhibicije *ABTS* radikala u poređenju sa komercijalnim standardom *Trolox-a*. Što se same reakcije tiče, *FRAP* test se odvija preko *SET (single electron transfer)* mehanizma, dok *DPPH* i *ABTS* predstavljaju reakcije u kojima ova dva radikala mogu da budu neutralisana putem *SET* ili *HAT (hydrogen atom transfer)* mehanizma [24]. Što se antioksidativnog potencijala ispitivanih začina tiče, sva tri izvedena testa su dala konzistentne rezultate. Za uzorke koji imaju najviši sadržaj polifenolnih jedinjenja, dokazana je i najveća antioksidativna aktivnost kroz sva tri testa, i obrnuto, što se može videti u Tabeli 2. Ovo ukazuje na činjenicu da je ukupni sadržaj polifenola u začinskim biljkama dobar prediktor i glavni nosilac njihove antioksidativne aktivnosti.

Kombinacijom rezultata antioksidativne aktivnosti merene kroz tri različita testa (*DPPH*, *FRAP*, *ABTS*) omogućeno je izračunavanje vrednosti antioksidativnog kompozitnog indeksa (*ACI*) svih analiziranih začina. S obzirom na to da pojedinačni testovi pokrivaju različite segmente antioksidativne aktivnosti, njihova kombinacija ima određene prednosti. Integrisanjem vrednosti pojedinačnih testova u jednu *ACI* vrednost omogućen je sveobuhvatniji uvid u antioksidativnu aktivnost eksperimentalnih uzoraka začina. Prema dostupnim literaturnim podacima, *ACI* vrednost korišćena je za procenu antioksidativne aktivnosti pića bogatih polifenolima u *SAD* [12], biljnih i voćnih čajeva [25] kao i različitih kakao proizvoda dostupnih na tržištu Srbije [7]. Ovakav način prikazivanja i izražavanja rezultata antioksidativne aktivnosti pruža mogućnost poređenja velikog broja različitih prehrambenih proizvoda i potencijalno može poslužiti za izradu popularnih tablica namirnica bogatih antioksidansima koje bi bile od izuzetne koristi kako istraživačima tako i krajnjim potrošačima.

ACI vrednosti analiziranih začina prikazane su na Grafikonu 1. Vrednost od 100% pripala je cimetu, dok je za vlašac izračunata čak dvanaest puta niža *ACI* vrednost. Prilikom procene stepena korelacije između *TPC* i *ACI* vrednosti, dobijen je statistički značajan pozitivan *Pearson-ov* koeficijent korelacije ($r = 0,976, p < 0,01$), što ukazuje na snažnu povezanost između sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti začina. Nešto niža vrednost koeficijenta korelacije ($r = 0,877$) dobijena je u proceni korelacije sadržaja ukupnih flavonoida i vrednosti *ACI*, ali je ta povezanost takođe statistički značajna ($p < 0,01$). Dobijeni rezultati potvrđuju prethodno navedenu činjenicu da začinske biljke, pored flavonoida, sadrže i druge komponente sa izraženim antioksidativnim potencijalom.

Dobijeni rezultati su u skladu sa prethodnim istraživanjem *Zhenga i saradnika*, u kom je takođe pokazana povezanost antioksidativnog potencijala začina i sadržaja polifenolnih jedinjenja [4].



Grafikon 1. Antioksidativni kompozitni indeks (ACI) analiziranih začina

Međutim, neophodno je uzeti u obzir i bioiskoristljivost polifenolnih jedinjenja iz začinskih biljaka, posebno imajući u vidu da se začini najčešće koriste u kombinaciji sa drugim namirnicama i da se one obično pre konzumiranja podvrgavaju termičkoj obradi [17].

ZAKLJUČAK

U pogledu sadržaja polifenola različitog začinskog bilja, posebno visoka vrednost TPC je određena u etanolnim ekstraktima cimeta, ruzmarina i origana. Slični rezultati su dobijeni i u pogledu TFC vrednosti, pri čemu je u ostalim analiziranim začinima sadržaj ovih jedinjenja znatno niži. Ispitivani ekstrakti pokazali su dobru, koncentracijski zavisnu antioksidativnu aktivnost, u svim primenjenim antioksidativnim testovima.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da začinske biljke, sa visokim sadržajem polifenolnih jedinjenja, predstavljaju potencijalni izvor prirodnih antioksidanasa sa mogućom primenom u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Ostavlja se prostor budućim istraživanjima u pravcu ispitivanja antiinflamatornih, antikancerogenih i ostalih potencijalno pozitivnih zdravstvenih efekata, kao i detaljnijoj hemijskoj analizi biološki aktivnih jedinjenja začinskog bilja.

LITERATURA

1. Pravilnik o kvalitetu začina, ekstrakata začina i mešavina začina. Službeni glasnik RS, 72/2014; 23/2015.
2. Mallick M, Bose A, Mukhi S. Comparative evaluation of the antioxidant activity of some commonly used spices. *Int J Pharmtech Res* 2016; 9(1):1–8.
3. Srinivasan K. Antioxidant potential of spices and their active constituents. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2012; 54(3):352–72.
4. Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem* 2001; 49(11):5165–70.
5. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci* 2016; 5:e47.
6. Lu M, Yuan B, Zeng M, Chen J. Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food Res Int* 2011; 44(2):530–6.
7. Todorovic V, Radojic RI, Todorovic Z, Jankovic G, Dodevska M, Sobajic S. Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. *J Food Compost Anal* 2015; 41:137–43.
8. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem* 2003; 51(25):7292–5.
9. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Sci Technol* 1995; 28(1):25–30.
10. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay. *Free Radic Biol Med* 1997; 26(9–10):1231–7.
11. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239(1):70–6.

12. Seeram PN, Aviram M, Zhang J, Henning MS, Feng L, Dreher M, Heber D. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol rich beverages in the United States. *J Agric Food Chem* 2008; 56(4):1415–22.
13. Dodevska M, Šobajić S, Đorđević B. Fibre and polyphenols of selected fruits, nuts and green leafy vegetables used in Serbian diet. *J Serb Chem Soc* 2015; 80(1):21–33.
14. Todorovic V, Milenkovic M, Vidovic B, Todorovic Z, Sobajic S. Correlation between antimicrobial, antioxidant activity, and polyphenols of alkalized/nonalkalized cocoa powders. *J Food Sci* 2017; 82(4):1020–7.
15. Šiler-Marinković S, Dimitrijević-Branković S, Đorđević T. Antioxidant activity in different morphological fractions of some cereal grains. *Hrana i ishrana* 2017; 58:17–23.
16. Štajner D, Popović B, Čalić-Dragosavac D, Malenčić D, Zdravković-Korać S. Comparative study on *Allium schoenoprasum* cultivated plant and *Allium schoenoprasum* tissue culture organs antioxidant status. *Phytother Res* 2011; 25(11):1618–22.
17. Opara El, Chohan M. Culinary herbs and spices: their bioactive properties, the contribution of polyphenols and the challenges in deducing their true health benefits. *Int J Mol Sci* 2014; 15:19183–202.
18. Ereifej K, Feng H, Rababah T, Tashtoush S, Aludatt M, Gammoh S, Rabadi G. Effect of extractant and temperature on phenolic compounds and antioxidant activity of selected spices. *Food Nutr Sci* 2016; 7(5):362–70.
19. Przygodzka M, Zielińska D, Ciesarova Z, Kukurova K, Zieliński H. Comparison of methods for evaluation of the antioxidant capacity and phenolic compounds in common spices. *LWT- Food Sci Technol* 2014; 58:321–6.
20. Shan B, Cai YZ, Sun M, Corke H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem* 2005; 53(20):7749–59.
21. Mocan A, Zengin G, Uysal A, Gunes E, Mollica A, Degirmenci NS et al. Biological and chemical insights of *Morina persica* L.: A source of bioactive compounds with multifunctional properties. *J Funct Foods* 2016; 25:94–109.
22. Llorent-Martinez EJ, Ortega-Barrales P, Zengin G, Uysal S, Ceylan R, Guler GO et al. *Lathyrus aureus* and *Lathyrus pratensis*: characterization of phytochemical profiles by liquid chromatography-mass spectrometry, and evaluation of their enzyme inhibitory and antioxidant activities. *RSC Adv* 2016; 6:88996–9006.
23. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 2010; 15(10):7313–52.
24. Prior RL, Gu L. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry* 2005; 66(18):2264–80.
25. Veljkovic JN, Pavlovic A, Mitic S, Tosic S, Stojanovic G, Kalicanin BM et al. Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: Spectrophotometrical and electrochemical approaches. *J Food Nutr Res* 2013; 52(1):12–24.

Antioxidant activity of selected spices from Serbian market

Vanja Todorović*, Anđelka Dančetočić, Nevena Dabetić, Slađana Šobajić, Bojana Vidović

Department of Bromatology, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

Abstract

Spices are aromatic parts of herbs with characteristic smell and taste. They are added to food in order to achieve the appropriate organoleptic properties, as well as to extend their shelf life. Since they are sources of natural antioxidants, spices are considered as functional food ingredients. The main goal of this research was determination of total polyphenol and flavonoid content in selected spices from our market and comparative assessment of their antioxidant activity. The study was conducted on ten different commercial samples of herbs. After extraction with ethanol, total polyphenol content (TPC), and total flavonoid content (TFC) were determined by spectrophotometric methods. Evaluation of antioxidant potential was carried out using three different tests (FRAP, DPPH, ABTS). Based on these results, values of antioxidant composite index (ACI) was determined by computation. The highest content of polyphenolic compounds was found for cinnamon (61.3±3.1 mg GAE/g), followed by rosemary (30.2±3.6 mg GAE/g) and oregano (21.0±0.8 mg GAE/g), while the lowest content showed shallot (4.3±0.0 mg GAE/g). The content of total flavonoids ranged from 3.2 μmol CE/g (cumin) to 133.7 μmol CE/g (cinnamon). When it comes to antioxidant potential, all three tests showed consistent results. A statistically significant correlation was figured out for total polyphenol content and ACI values (r = 0.976, p < 0.01). Based on obtained results, it can be concluded that cinnamon, rosemary and oregano are the rich sources of polyphenol compounds and have conspicuous antioxidant potential.

Key words: *spices, polyphenols, flavonoids, antioxidant composite index*