

# Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidacijska aktivnost u sjemenkama ginka

---

Đelekovčan, Josipa

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University North / Sveučilište Sjever**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:122:298611>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-03**



Repository / Repozitorij:

[University North Digital Repository](#)





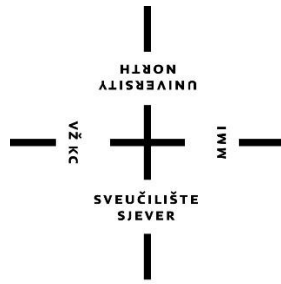
**Sveučilište  
Sjever**

**Završni rad br. 57/PREH/2023**

**Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidacijska  
aktivnost u sjemenkama ginka**

**Josipa Đelekovčan, 0111135608**

Koprivnica, rujan 2023. godine



**Sveučilište  
Sjever**

**Prehrambena tehnologija**

**Završni rad br. 57/PREH/2023**

**Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidacijska  
aktivnost u sjemenkama ginka**

**Student**

Josipa Đelekovičan, 0111135608

**Mentor**

doc.dr.sc. Dunja Šamec

Koprivnica, rujan 2023. godine

# Prijava završnog rada

## Definiranje teme završnog rada i povjerenstva

ODJEL Odjel za prehrambenu tehnologiju

STUDIJ Prijediplomski studij Prehrambene tehnologije

PRISTUPNIK Josipa Đelekovičan

MATIČNI BROJ 0111135608

DATUM 11.07.2023.

KOLEGIJ Sirovine u prehrambenoj industriji

NASLOV RADA Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidacijska aktivnost u sjemenkama ginka

NASLOV RADA NA ENGL. JEZIKU The content of total polyphenols, flavonoids and antioxidant activity in ginkgo seeds

MENTOR Dunja Šamec

ZVANJE doc. dr. sc.

ČLANOVI POVJERENSTVA

- Ivana Dodlek Šarkanj, predavač, predsjednica
- doc. dr. sc. Dunja Šamec, mentorica, članica povjerenstva
- izv. prof. dr. sc. Natalija Uršulin Trstenjak, članica povjerenstva
- izv. prof. dr. sc. Bojan Šarkanj, zamjena člana
- 

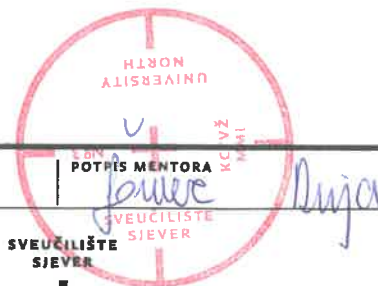
## Zadatak završnog rada

BROJ 57/PREH/2023

OPIS

Cilj rada je odrediti sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidacijsku aktivnost u sjemenkama ginka. Potrebno je provesti ekstrakciju te odrediti dali sjemenke sadže navedene biološki aktivne spojeve.

ZADATAK URUČEN 11.7.2023





## **Predgovor**

Zahvaljujem se mentorici doc.dr.sc. Dunji Šamec na prilici za mentorstvo, na pomoći i strpljenju pri izradi ovog završnog rada. Također se zahvaljujem i asistentici mag.biol. Ivi Jurčević Šangut na pruženoj pomoći kod provedbe eksperimentalnog dijela u laboratoriju. Objema se zahvaljujem na uloženom vremenu i trudu koje su izdvojile tokom izrade ovog završnog rada.

## Sažetak

Korištenje sjemenki ginka poznato je u azijskoj prehrani, ali i medicini. Povijesno u Kini su korištene prvenstveno za liječenje plućnih bolesti, ali nedostaje istraživanja o njihovim terapijskim učincima. Cilj ovog završnog rada bio je odrediti ukupni udio polifenola Folin-Ciocalteuovom metodom, zatim udio ukupnih flavonoida korištenjem aluminijskoga klorida, i na kraju određivanje antioksidacijske aktivnosti metodom po Brand-Williamsu u sjemenkama ginka. Uzorci su ekstrahirani u 4 vrste otapala; 70%-tni etanol, 80%-tni metanol, 96%-tni etanol i 100%-tni metanol. Najviši dio ukupnih polifenola (0,042  $\mu\text{g}$  GAE/mg sm) bio je u 70%-tnom etanolu dok je najviši udio ukupnih flavonoida (5,482  $\mu\text{g}$  CE/mg sm) ekstrahiran u 96%-tnom metanolu. Najveći postotak inhibicije slobodnog radikala bio je u 80-postotnom metanolu i njegov je iznos 3,212%. Na temelju rezultata može se zaključiti da ekstrakcijsko otapalo utječe na razinu ispitanih spojeva i antioksidacijsku aktivnost, no općenito gledajući sjemenke ne pokazuju visok sadržaj tih spojeva niti antioksidacijsku aktivnost.

Ključne riječi: ginko, *Ginkgo biloba* L., sjemenke ginka, ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, antioksidacijska aktivnost.

Zahvala: Ovaj rad izrađen je u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost: „Uloga biflavonoida u biljkama: *Ginkgo biloba* L. kao modelni sustav“ UIP-2019-04- 1018.

## Summary

The use of ginkgo seeds is known in traditional Chinese cuisine, but also in medicine. Although ginkgo seeds have a long history of use, today their use has decreased. In China, they were used primarily for the treatment of lung diseases, but there is a lack of research on their therapeutic effects. The goal of this final work was to determine the total polyphenol content using the Folin-Ciocalteu method, then the total flavonoid content using aluminum chloride, and finally determining the antioxidant activity using the Brand-Williams method. The samples were extracted in 4 types of solvents; 70% ethanol, 80% methanol, 96% ethanol and 100% methanol. The largest part of total polyphenols ( $0.042 \mu\text{g GAE/mg dw}$ ) was extracted in 70% ethanol. The highest proportion of total flavonoids ( $5,482 \mu\text{g CE/mg dw}$ ) was extracted in 96% methanol. The highest percentage of free radical inhibition was in 80 percent methanol and its amount was 3.212%. Based on the results, it can be concluded that the maximum concentration of alcohol as a solvent is not required to obtain the maximum extraction of polyphenols. In the case of flavonoids, a higher percentage of alcohol purity contributed to their better extraction. Ginkgo seeds do not have a high antioxidant activity since the inhibition percentages were low.

Key words: ginkgo, *Ginkgo biloba* L., ginkgo seeds, total polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity.

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Ginko ( <i>Ginkgo biloba</i> L.) .....	2
2.2. Upotreba sjemenka ginka u tradicionalnoj medicini i prehrani .....	3
2.3. Bioaktivni spojevi u ginku .....	4
2.4. Otapala koja se koriste za ekstrakcije .....	5
3. PRAKTIČNI DIO .....	7
3.1. Aparatura i pribor .....	7
3.2. Kemikalije .....	8
3.3. Materijali i metode rada .....	8
3.3.1. Ekstrakcija.....	9
3.3.2. Određivanje ukupnih polifenola u sjemenkama ginka .....	10
3.3.3. Određivanje ukupnih flavonoida u sjemenkama ginka .....	11
3.3.4. Određivanje antioksidacijske aktivnosti .....	12
4. ANALIZA REZULTATA I RASPRAVA.....	14
4.1. Ukupni polifenoli.....	14
4.2. Ukupni flavonoidi.....	16
4.3. Antioksidacijska aktivnost .....	17
5. ZAKLJUČAK.....	20
6. LITERATURA.....	21
Popis slika i tablica .....	24

## 1. UVOD

Ginko (*Ginkgo biloba* L.) (Slika 1) je drevna ljekovita vrsta drveća koja zbog svoje otpornosti i prilagodbe na okolišne uvjete, postoji već tisućljećima bez značajnijih promjena. Paleobotanička povijest otkrila je široku rasprostranjenost diljem svijeta, ali ta je rasprostranjenost smanjena tijekom geološkog vremena i svedena tek na uski geografski raspon. Zbog brojnih bioaktivnih spojeva, dijelovi stabla koriste se u suvremenoj i tradicionalnoj kineskoj medicini. Primjerice, ekstrakt lišća ginka u Kini se od najstarijih vremena koristi za liječenje demencije te za poboljšanje djelovanja na kognitivne funkcije. Također, sjemenke ginka koriste se kao hrana diljem Azije. Spojevi povezani s biološkim djelovanjem su triterpenski laktoni i flavonoidi. Zbog toga u nekim zemljama ginko se uzgaja plantažno za upotrebu u farmaceutskoj industriji, no u većini zemalja on je ornamentalno drvo [1, 2, 3].



Slika 1. Drvo ginka u Osijeku

Izvor: [4]

List se koristi za pripremu standardiziranog ekstrakta ginka te su listovi puno bolje istraženi od ostalih dijelova ginka. Stoga, u ovom završnom radu zadatak je određivanje ukupnih polifenola, ukupnih flavonoida te antioksidativne aktivnosti u ekstraktima sjemenki ginka. Ispitivan je učinak upotrijebljene 4 vrste otapala (70-postotnog etanola, 80-postotnog metanola, 96-postotnog etanola i 100-postotnog metanola) na djelotvornost ekstrakcije ukupnih polifenola i flavonoida, kao i mjerenje antioksidacijskog potencijala uzoraka.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Ginko (*Ginkgo biloba* L.)

Ginko je drvo porijeklom iz Kine i jedinstvena vrsta iz porodice Ginkgoaceae, naziva se i živi fosil [5]. Red Ginkgoales kojem pripada stablo ginka može se pratiti kroz fosilne ostatke do perma, razdoblja paleozoika od prije 250 milijuna godina. Rod *Ginkgo* pojavio se prije otprilike 180 milijuna godina, a postojao je u četiri različite vrste. Hladno vrijeme i ledenjačka erozija krajem razdoblja tercijara prije 2 milijuna godina, uzrokovali su izumiranje mnogih biljnih vrsta, među kojima i većinu vrsta ginka. Samo je *Ginkgo biloba* izbjegao izumiranje kada je napredovanje leda prema jugu zaustavljeno u području istočne Azije, postavši tako jedina preživjela vrsta iz porodice Ginkgoaceae [5, 6].

Stablo ginka ima sivu koru, može prijeći visinu od 30 metara, a krošnja stabla može doseći opseg od 7 metara. Lišće se pojavljuje duž duljine dugog izdanka, te kao grozdovi na krajevima dugih i kratkih izdanaka. Lišće mijenja boju iz svijetlozelene kad je mlado, u tamnozelenu kad se u potpunosti razvije. Tijekom faze starenja u jesen, lišće poprima karakterističnu zlatnožutu boju. Listovi su kožasti i lepezastog oblika. Kao dvodomna biljka, stablo ginka ima cvjetove s muškim i ženskim reproduktivnim organima na različitim stablima. Reproductivni organi pojavljuju se u proljeće, u konačnici proizvodeći sjeme koje ima mesnati vanjski sloj. Mesnati dio sjemenke, odnosno meka ljuska ginka fermentira tijekom zrenja ispušta hlapljiv i neugodan miris zbog čega se žensko stablo koje nosi sjemenke ginka ne smatra poželjnim ornamentalnim drvetom. Nakon uklanjanja meke ljuske, pojavljuje se vrlo tanka i tvrda ljuska ispod koje se nalazi jezgra sjemenke [6, 7].



Slika 2. Listovi i sjemenke ginka

Izvor: vlastita fotografija

## 2.2. Upotreba sjemenka ginka u tradicionalnoj medicini i prehrani

Suvremena farmakološka istraživanja otkrila su različite biološke aktivnosti ekstrakata ginka, kao što su protuupalna i antioksidacijska svojstva, neuroprotektivno djelovanje, antiagregacija trombocita, antikancerogena i antiradijacijska svojstva. Međutim, njegova upotreba seže daleko u prošlost. Ginko je prvi puta spomenut kao ljekovita biljka u kineskoj zbirci o poljoprivredi i farmakološkim djelovanjima biljaka pod nazivom „Shen Nong Ben Cao Jing” koja je sastavljena prije otprilike 2,000 godina. U njoj je zabilježeno da se kao lijek koristila samo sjemenka ginka. Korištena je kao tradicionalna hrana koja se pripremala kuhanjem ili fermentacijom, a servirala se kao prilog uz glavna jela. Primjeri jela sa sjemenkama ginka nalaze se na Slici 3.



Slika 3. Hrana pripremljena sa sjemenkama ginka

Izvor:

[https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia\\_pub/multimedia\\_pub\\_fsf\\_149\\_01.html](https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_pub/multimedia_pub_fsf_149_01.html)

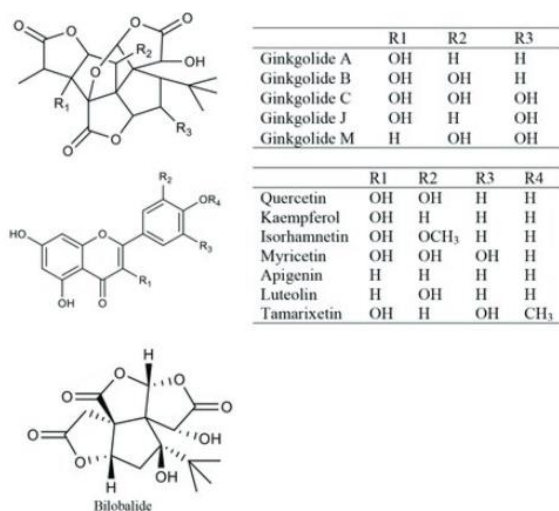
U medicinske svrhe sjemenke su se koristile za tretiranje plućnih bolesti kao što su astma, kašalj ali i kod problema s nekontroliranim mokrenjem. Također, sjeme ginka se upotrebljavalo za zaustavljanje dijareje i zubobolje, kao i za liječenje nekih kožnih bolesti. [7, 8,

9]. Međutim zbog sadržaja toksina, sjemenke ginka ukoliko se konzumiraju u prevelikim količinama mogu izazvati trovanje. Smatra se da su glavni toksini 4'-metoksipiridoksin (MPN) i cijanogeni glikozidi. Oni se ne inaktiviraju u potpunosti termičkom obradom, no termička obrada smanjuje njihovu količinu. Nezrele i termički neobrađene sjemenke ginka sadrže više toksina te su otrovnije [10].

Mnogo kasnije, u kineskoj medicini počeli su se koristiti i listovi ginka za liječenje bolesti srca i pluća. Zabilježeno je i da mogu poboljšati koncentraciju i pomoći u liječenju brojnih patoloških stanja, uključujući neurološke poremećaje i upalne bolesti. Danas je dostupan i standardizirani ekstrakt ginka pod nazivom EGb761<sup>®</sup> koji se koristi za poboljšavanje kognitivnih performansi.

### 2.3. Bioaktivni spojevi u ginku

Bioaktivni spojevi su sekundarni metaboliti biljaka. Za razliku od primarnih metabolita (ugljikohidrati, proteini i lipidi) koji su namijenjeni za rast i razvoj, sekundarni metaboliti sudjeluju u interakciji biljaka i okoliša. Sekundarni biljni metaboliti izazivaju farmakološki ili toksikološki učinak kod ljudi i životinja [11]. Lišće ginka opsežno je istraženo fitokemijski. Aktivne kemijske komponente pronađene u listovima ginka uključuju flavonoide i terpenoidne trilaktone (Slika 4).



Slika 4. Monomerni flavonoidi i terpenoidni trilaktone prisutni u listovima ginka

Izvor: [12]

Biljni ekstrakti iz lišća pokazali su niz farmakoloških učinaka, uključujući antibakterijska, antioksidativna, protuupalna, antialergijska i antikancerogena djelovanja. U



ginku su identificirani i drugi bioaktivni spojevi, uključujući bioflavonoide, organske kiseline i poliprenole. Ostali spojevi s poznatim farmakološkim djelovanjem su ginkolidi i bilobalid (Slika 4). Ginkolidi se mogu podijeliti u pet tipova (A, B, C, J i M), od kojih svaki ima jedinstven skup svojstava. Flavonoidi poput kvercetina, kemferola i izorhamnetina, nalaze se kao glikozidni derivati [13]. Sadnice ginka stare do pet godina sadrže više flavonoida i terpenoida od odraslih stabala. Stoga se mladi listovi koriste za proizvodnju standardiziranog ekstrakta (EGb761). Prema nekim istraživanjima, starenjem stabala smanjuje se sadržaj biološki aktivnih sastojaka, a time i kvaliteta ekstrakata proizvedenih od njih [14].

Sjemenke ginka sadrže najviše škroba, masti i ulja, no i neke bioaktivne komponente kao već spomenuti bilobalid. Masne kiseline su jedna od glavnih aktivnih komponenti u sjemenkama ginka, a mogu imati pozitivne učinke na snižavanje krvnog tlaka, snižavanje lipida, kao i prevencije i liječenja kardiovaskularnih bolesti [15].

## **2.4. Otapala koja se koriste za ekstrakcije**

Izbor otapala važan je korak u bilo kojoj pripremi ekstrakta. Otapalo za ekstrakciju treba odabrati na temelju topljivosti i intenziteta interakcija s biljnim matriksom. Najvažnije karakteristike otapala koje treba promatrati su polarnost, viskoznost, pH, površinska napetost, talište, vrelište, gustoća, specifična težina te učinak na čistoću i aktivnost ekstrahiranog spoja. Također, važno je razmotriti parametre ekstrakcije i njihovu prikladnost za otapalo, odnosno na koji način korišteno otapalo može reagirati s ciljnim spojevima u uvjetima ekstrakcije. Vrlo bitan čimbenik su biokemijska i fizikalno-kemijska svojstva otapala jer ona definiraju prirodu medija, pored interakcije s tretiranim materijalom i ekstrahiranim spojevima. Promjene koje se mogu dogoditi u otapalima tijekom procesa ekstrakcije mogu imati značajan učinak na stabilnost flavonoida i učinkovitost provedbe [16].

Za ekstrakciju flavonoida i polifenola iz biljnih matriksa općenito se koriste organska otapala poput metanola, etanola, acetonitrila, petrolej etera i acetona, uz dodatak različitog postotka vode. U nekim se slučajevima ekstrakcijska otapala mogu zakiseliti kako bi se osjetljivi flavonoidi zaštitili od oksidativne razgradnje. Kiseline proizvode vodikove ione ( $H^+$ ) koji stabiliziraju slobodne radikale koji se mogu proizvesti tijekom ultrazvučne obrade. U određenoj se mjeri istražuju neotrovne i biorazgradive alternative, kako bi se smanjio utjecaj organskih otapala na okoliš uz istovremeno pružanje sličnih ili čak boljih performansi. Alternative toksičnim otapalima su ionska ili eutektička otapala koja sadrže limunsku i mliječnu kiselinu, te

višefazni sustavi poput ekstrakcije točke zamućenja. Važno je napomenuti da je za uspješno provođenje ekstrakcije, osim odabira otapala, potrebno u obzir uzeti i druge čimbenike kao što su molekularni afinitet otapala i otopljene tvari, prijenos mase u odgovarajućem otapalu, toksičnost za ljude, financijska isplativost, i kao što je već navedeno sigurnost okoliša [11, 17].

## 3. PRAKTIČNI DIO

### 3.1. Aparatura i pribor

Korištena aparatura i pribor u ovom završnom radu su:

- Analitička vaga (Adam Equipment SAB 514, Kina)
- Centrifuga (bioSan LMC-4200R, Latvija)
- Eppendorf mikropipete
- Epice
- Falcon kivete
- Graduirane pipete
- Liofilizator
- Odmjerne tikvice
- Propipeta
- Rotator (bioSan Bio RS-24 Mini-Rotator, Latvija)
- Spektrofotometar (UV/Visible Spectrophotometer 195-1050 nm, Italija)
- Staklene laboratorijske bočice s čepom na navoj
- Ultrazvučna kupelj (Argolab DU-100, Italija)
- Vortex (bioSan Vortex V-1plus, Latvija)

Na sljedećim fotografijama prikazani su neki od korištenih uređaja u ovom završnom radu koji su navedeni u popisu korištene aparature i pribora.



Slika 5. Analitička vaga  
(Adam Equipment, Kina)  
Izvor: vlastita fotografija



Slika 6. Centrifuga  
(bioSan, Latvija)  
Izvor: vlastita fotografija



Slika 7. Rotator  
(bioSan, Latvija)  
Izvor: vlastita fotografija



Slika 8. Ultrazvučna kupelj  
(Argolab, Italija)  
Izvor: vlastita fotografija



Slika 9. Vortex  
(bioSan, Latvija)  
Izvor: vlastita fotografija

### 3.2. Kemikalije

Korištene kemikalije u ovom završnom radu su:

- Aluminijev klorid (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
- Destilirana voda
- DPPH° (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
- Etanol (GRAM-MOL, Zagreb, Hrvatska)
- Folin-Ciocalteuov reagens (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Galna (3,4,5-trihidroksibenzojeva) kiselina (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
- Katehin (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
- Metanol (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Natrijev hidroksid (T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska)
- Natrijev karbonat (T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska)
- Natrijev nitrit (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

### 3.3. Materijali i metode rada

Materijal korišten u ovoj analizi su sjemenke ginka (Slika 10. i 11.) uzorkovane sa ženskih stabala ginka, u parku Vatroslava Jagića u Varaždinu, u studenom 2022. godine. Sjemenke su sušene u liofilizatoru, a zatim usitnjene u kugličnom homogenizatoru.

Ultrazvučnom kupelji pospešena je ekstrakcija, a sama ekstrakcija učinjena je s otapalima, odnosno alkoholima. Određivanje ukupnih polifenola provedeno je Folin-Ciocalteu metodom. Mjerenje ukupnih flavonoida izvršeno je metodom s aluminijevim kloridom. Nakon što su određeni ukupni polifenoli i flavonoidi, provedena je determinacija antioksidacijske aktivnosti kroz metodu po Brand-Williamsu, koja se zasniva na redukciji DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikala. U sva tri slučaja određivanja izmjerena je apsorbancija uzoraka uz primjenu UV-VIS spektrofotometrije.



Slika 10. i Slika 11. Osušene sjemenke ginka korištene u analizi. Izvor: vlastite fotografije.

### 3.3.1. Ekstrakcija

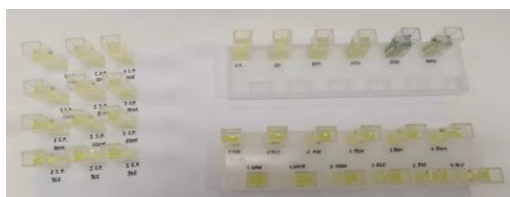
Ekstrakcija se vrši tako da se odvaganih 30 mg uzorka (usitnjene sjemenke ginka) otopi u 1 mL otapala. Korištena otapala su 70%-tni etanol, 96%-tni etanol, 80%-tni metanol i 100%-tni metanol. Svaki od uzoraka pripremljen je u triplikatu. Nakon što su priređeni uzorci, sadržaj se vorteksira u epicama 5 sekundi. Zatim uzorke stavljamo u ultrazvučnu kupelj na dva ciklusa po 5 minuta. Sljedeće stavljamo uzorke na rotator 45 minuta. Na kraju uzorke centrifugiramo 5 minuta na 4000 r.

### 3.3.2. Određivanje ukupnih polifenola u sjemenkama ginka

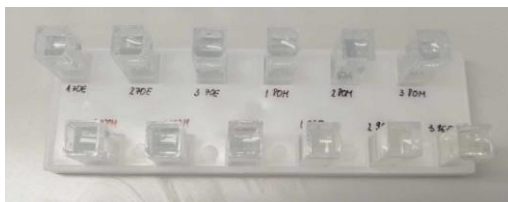
Polifenoli u biljnim ekstraktima reagiraju s kompleksom fosfomolibdenske-fosfovolframske kiseline, odnosno s Folin-Ciocalteu reagensom, pri čemu se formira plavo obojenje. Novonastali plavi kompleks se spektrofotometrijski kvantificira nakon što polifenoli izreagiraju s reagensom u vremenu od 2 sata. Očitavanje apsorbancije vrši se na 765 nm, a proporcionalno je jačini plavog obojenja i koncentraciji polifenola. Kao standard u primjeni ove metode najčešće je korištena galna kiselina. Baždarna krivulja galne kiseline temelji se na ovisnosti apsorbancije ( $A$ ) o koncentraciji ( $c$ , g/L), a iz nje se utvrđuje ukupna koncentracija polifenola u uzorku [18, 19].

U kivete je pomoću mikropipete otpipetirano 20  $\mu$ L uzorka, a svaki od uzoraka pripremljen je u triplikatu. Kod slijepe probe, otpipetirano je 20  $\mu$ L 70%-tnog etanola, 96%-tnog etanola, 80%-tnog metanola i 100%-tnog metanola. Naredno je dodano 1,58 mL destilirane vode i 100  $\mu$ L Folinovog reagensa, te promiješano. Tako pripremljenim otopinama, nakon stajanja na sobnoj temperaturi 2 sata, mjerena je apsorbancija u spektrofotometru na 765 nm u odnosu na slijepe probe. Koncentracija ukupnih polifenola u uzorcima izračunata je uz pomoć baždarnog pravca galne kiseline (0-1000 mg/L).

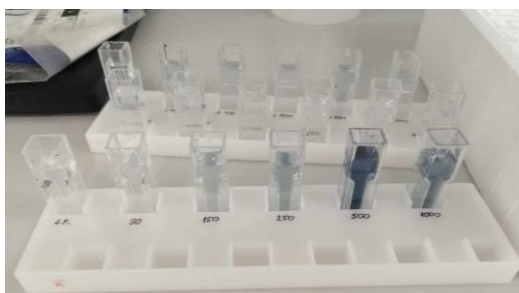
Za izradu baždarne krivulje galne kiseline najprije je pripremljena stock otopina galne kiseline u koncentraciji od 5 g/L. Pripremljena je tako što je 50 mg galne kiseline otopljeno u 10 mL destilirane vode. Zatim su napravljena razrjeđenja u koncentracijama od 50, 150, 250, 500 i 1000 mg/L, te slijepa proba za koju je korištena destilirana voda. Navedena razrjeđenja izvedena su tako što je u kivetu za razrjeđenje od 50 mg/L otpipetirano 10  $\mu$ L priređene stock otopine i ostatak do 1000  $\mu$ L činila je destilirana voda, odnosno 990  $\mu$ L. Za koncentraciju od 150 mg/L otpipetirano je 30  $\mu$ L stocka i 970  $\mu$ L destilirane vode, sljedeće za koncentraciju 250 mg/L dodano je 50  $\mu$ L stock otopine i 950  $\mu$ L vode. Za narednu koncentraciju od 500 mg/L dodano je 100  $\mu$ L stocka, a 900  $\mu$ L vode. I za posljednju koncentraciju 1000 mg/L otpipetirano je 200  $\mu$ L stock otopine, a ostatak destilirane vode. Kad su koncentracije priređene, ponovljen je isti postupak kao što je opisano u prethodnom odlomku o pripremi uzoraka, samo što je umjesto 20  $\mu$ L uzorka u ovom slučaju dodano 20  $\mu$ L za svako od razrjeđenja.



Slika 12. Razrjeđenja galne kiseline i uzorci te njihove slijepe probe pripremljeni po Folin-Ciocalteu metodi. Izvor: vlastita fotografija.



Slika 13. Bezbojni uzorci nakon što su odreagirali sa FC reagensom. Izvor: vlastita fotografija.



Slika 14. Nastalo plavo obojenje kod razrjeđenja galne kiseline nakon što su odreagirala sa FC reagensom. Izvor: vlastita fotografija.

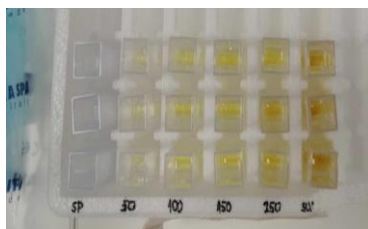
Obzirom na dobivene rezultate mjerenja apsorbancije ( $Abs=765\text{ nm}$ ) u spektrofotometru, tj. odnosu apsorbancije prema masenoj koncentraciji galne kiseline, izrađena je baždarna krivulja. Korišteni računalni program za izradu krivulje je Microsoft Excel. Prema dobivenoj jednadžbi pravca računa se koncentracija i udio ukupnih polifenola u uzorcima.

### 3.3.3. Određivanje ukupnih flavonoida u sjemenkama ginka

U kivete je pomoću mikropipete prvo otpipetirano  $800\ \mu\text{L}$  destilirane vode kojoj je zatim dodano  $200\ \mu\text{L}$  uzorka. Svaki od uzoraka pripremljen je u triplikatu. Kod slijepe probe, otpipetirano je  $200\ \mu\text{L}$  70%-tnog etanola, 96%-tnog etanola, 80%-tnog metanola i 100%-tnog metanola i dodano prethodno otpipetiranoj destiliranoj vodi kao i u slučaju s uzorcima. Reakcija je pokrenuta tako što je uzorcima dodano  $60\ \mu\text{L}$  natrijeva nitrita u omjeru 1:20. Omjer je pripremljen otapanjem 25 g natrijeva nitrita u 25 mL destilirane vode. 5 minuta kasnije, u kivete je dodano  $60\ \mu\text{L}$  aluminijeva klorida u omjeru 1:10. Omjer je pripremljen na način da je 5 g aluminijeva klorida otopljeno u 25 mL destilirane vode. Za 6 minuta dodano je  $400\ \mu\text{L}$  1 M otopine natrijeva hidroksida. Posljednje je otopini dodano još  $480\ \mu\text{L}$  destilirane vode kako bi

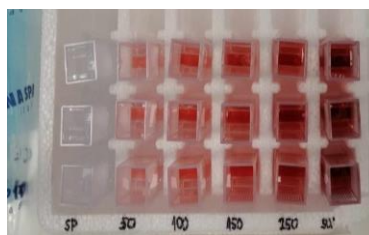
ukupni volumen iznosio 2 mL. Sadržaj u kivetama je dobro promiješan te je izmjerena apsorbancija na 510 nm.

Kod izrade baždarnog pravca korištena stock otopina katehina koncentracije 1 mg/L. Otopina je pripravljena na način da je 10 mg katehina otopljeno u 10 mL 80%-tnog metanola. Zatim su napravljena razrjeđenja u koncentracijama od 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L, te slijepa proba za koju je korišten samo 80%-tni metanol. Navedena razrjeđenja izvedena su tako što je u kivetu za razrjeđenje od 50 mg/L otpipetirano 10  $\mu$ L priređene stock otopine i ostatak do 1000  $\mu$ L činio je 80-postotni metanol, odnosno 990  $\mu$ L. Za koncentraciju od 100 mg/L otpipetirano je 100  $\mu$ L stocka i 900  $\mu$ L metanola, sljedeće za koncentraciju 150 mg/L dodano je 150  $\mu$ L stock otopine i 850  $\mu$ L metanola. Za narednu koncentraciju od 250 mg/L dodano je 250  $\mu$ L stocka, a 750  $\mu$ L metanola. I za posljednju koncentraciju 500 mg/L otpipetirano je 500  $\mu$ L stock otopine, a ostatak metanol. Kad su koncentracije priređene, ponovljen je isti postupak kao što je opisano u prethodnom odlomku o pripremi uzoraka, samo što je umjesto 200  $\mu$ L uzorka u ovom slučaju dodano 200  $\mu$ L od svake koncentracije.



Slika 15. Razrjeđenja katehina i uzorci pripremljeni po metodi s aluminijevim kloridom.

Izvor: vlastita fotografija.



Slika 16. Novonastalo crveno obojenje kod razrjeđenja katehina na kraju reakcije, te nedostatak obojenja kod uzoraka. Izvor: vlastita fotografija.

### 3.3.4. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Antioksidacijska aktivnost odnosi se na mogućnost ispitivanog uzorka da donira elektron ili vodik te time inaktivira slobodni radikal i onemogućuje njegovu reaktivnost u daljnjim lančanim



reakcijama. Korištenjem DPPH° (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikala omogućuje se brz i jednostavan način procjene antiradikalne antioksidacijske aktivnosti [20].

Metoda po Brand-Williamsu temeljena je na redukciji spomenutog DPPH° radikala otopljenog u čistom metanolu. Metoda je bazirana na doniranju vodika dušiku, a donira ga antioksidans prisutan u ispitivanom uzorku. Dušik ima jedan nespareni elektron pripadajućeg hidrazina molekule DPPH° radikala, a tijekom provođenja ove metode dolazi do prijelaza u neradikalni oblik DPP(H). DPPH° radikal svoju stabilnost pripisuje delokalizaciji elektrona kroz cijelu molekulu, pa on iz tog razloga ne dimerizira poput ostalih slobodnih radikala. Upravo zbog delokalizacije elektrona dolazi do ljubičastog obojenja pri 515 nm. U tijeku reakcije DPPH radikala sa spojem koji donira vodikov atom, stvara se njegova stabilna forma pri čemu dolazi do gubitka ljubičastog obojenja, odnosno promjene boje [20]. Djelotvornost antioksidansa mora biti mjerena na sobnoj temperaturi kako bi se izbjegla njegova razgradnja (Hung i sur., 2005) [21].

Provedba metode započeta je time što je u epice otpipetirano 20 µL uzorka i 980 µL DPPH°. Uzorci su pripremljeni u triplikatu. Za slijepu probu je u epice otpipetirano 20 µL čistog metanola i 980 µL DPPH°. Reakcija je ostavljena da odstoji 25-30 minuta uz lagano miješanje u rotatoru. Nakon toga je spektrofotometar spektroskopski izbaždaren čistim metanolom. Završno su uzorci prebačeni u kivete te im je izmjerena apsorbancija na 515 nm u spektrofotometru.

## 4. ANALIZA REZULTATA I RASPRAVA

### 4.1. Ukupni polifenoli

Za određivanje ukupnih polifenola u sjemenkama ginka upotrijebljena je Folin-Ciocalteu metoda (Singleton i Rossi, 1965) [22].

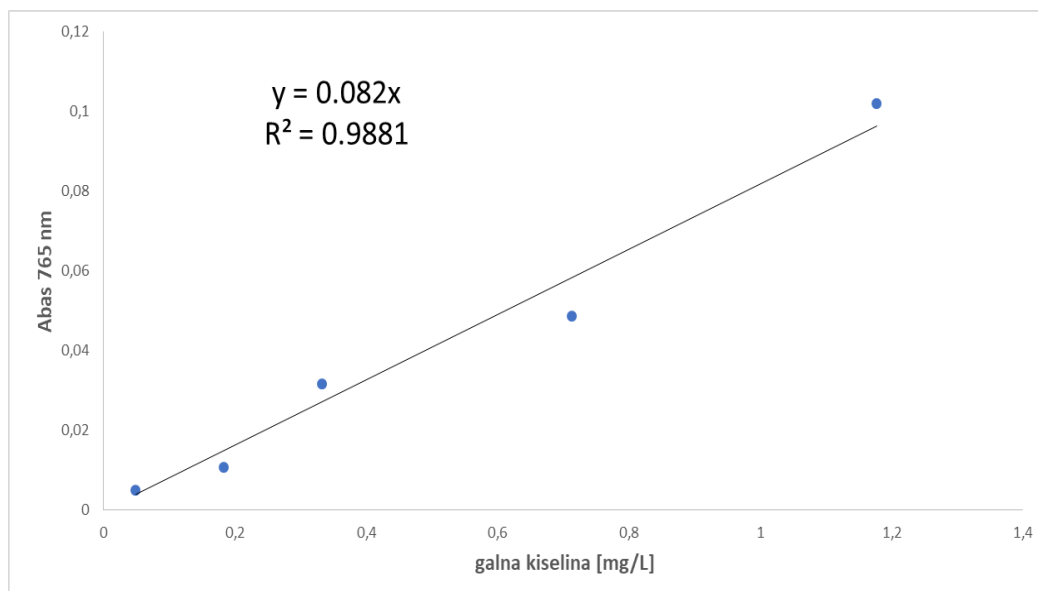
Struktura Folin-Ciocalteu reagensa sastoji se od od fosfomolibdenske i fosfovolframske heteropoli kiseline, koje su žutog obojenja. Poznato je da kod prisustva fenola u bazičnom reakcijskom mediju stvara kompleks Mo-W, koji reakcijskoj smjesi daje plavo obojenje. To znači da FC reagens s reducirajućim spojevima fenola tvori kromogene spojeve, a njihov intenzitet obojenja mjeri se spektrofotometrijski na valjnoj duljini od 765 nm [23].

Kako bi se odredio ukupni udio polifenola, izrađena je baždarna krivulja (Slika 17.) galne kiseline. Jednadžba krivulje je sljedeća:

$$y = 0,082x$$

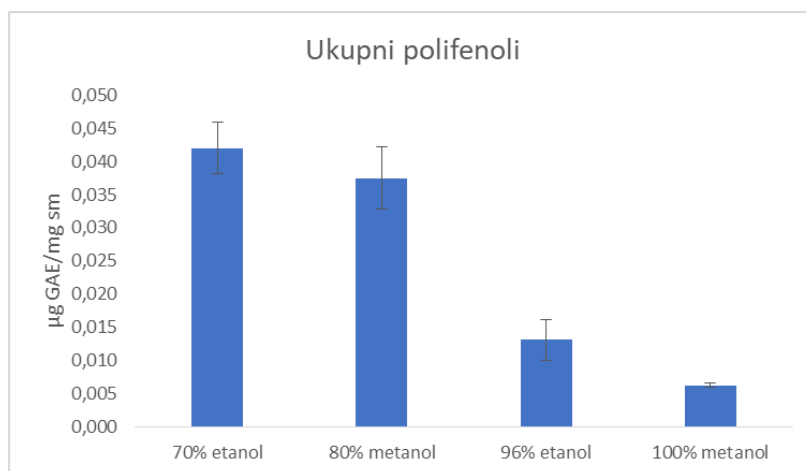
y – iznos apsorbancije pri 765 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg/L).



Slika 17. Baždarna krivulja galne kiseline. Izvor: autor.

Prema baždarnom pravcu izračunata je količina ukupnih polifenola te prikazana je u formi grafikona na Slici 18.



Slika 18. Udio ukupnih polifenola u uzorcima. Izvor: autor.

Rezultati određivanja ukupnih polifenola uz pomoć spektrofotometra prikazuju raspon rezultata od 0,006 do 0,042 µg GAE/mg suhe mase uzorka.. Ukupni polifenolni spojevi u najvećem su udjelu (0,042 µg GAE/mg sm) ekstrahirani u 70-postotnom etanolu, dok je njihov najmanji udio (0,006 µg GAE/mg sm) ekstrahiran u čistom metanolu. Udio ukupnih polifenola u 80-postotnom metanolu iznosi 0,037 µg GAE/mg sm, a u 96-postotnom etanolu je 0,013 µg GAE/mg sm. Može se zaključiti kako se dodavanjem vode u alkohol, odnosno njihovim razrjeđenjem, povećao ukupni udio polifenola koji su se ekstrahirali u usporedbi s čistim otapalom 100-postotnim metanolom gdje je ekstrakcija najmanje učinkovita. To upućuje na to da su u sjemenkama prisutni polifenolni spojevi koji su hidrofilniji te se ekstrahiraju bolje otapalima s određenim postotkom vode. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola u jezgri ginka (sjemenka) spektrofotometrijskom metodom u istraživanju Liu i sur. [24] pokazalo je da 1 g suhe tvari ekstrakta otopljen u 60-postotnom etanolu sadrži  $2,08 \pm 0,05$  mg GAE/g sm što je puno više nego u našem istraživanju. Općenito, možemo zaključiti da bez obzira na otapalo sjemenke ginka nisu bogat izvor polifenola što i nije iznanađujuće jer se polifenoli češće nakupljaju u dijelovima biljaka u direktnom doticaju s okolišem kao što su listovi, kora i sl. [25].

## 4.2. Ukupni flavonoidi

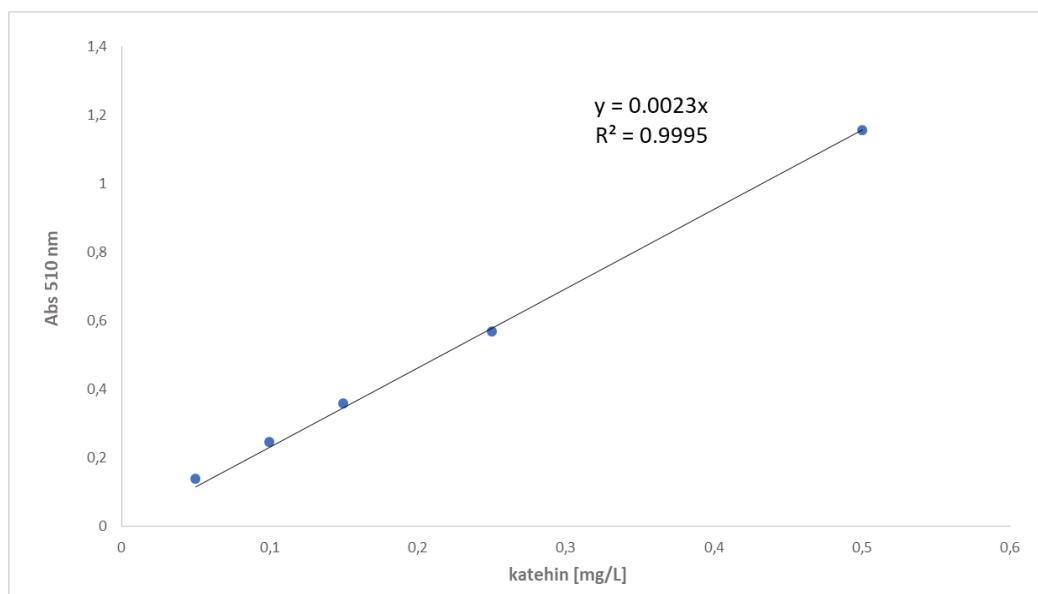
Za određivanje ukupnih flavonoida u sjemenkama ginka upotrijebljena je metoda s aluminijevim kloridom [24].

Kako bi se odredio ukupni udio flavonoida, izrađena je baždarna krivulja katehina. Jednadžba krivulje je sljedeća:

$$y = 0,0023x$$

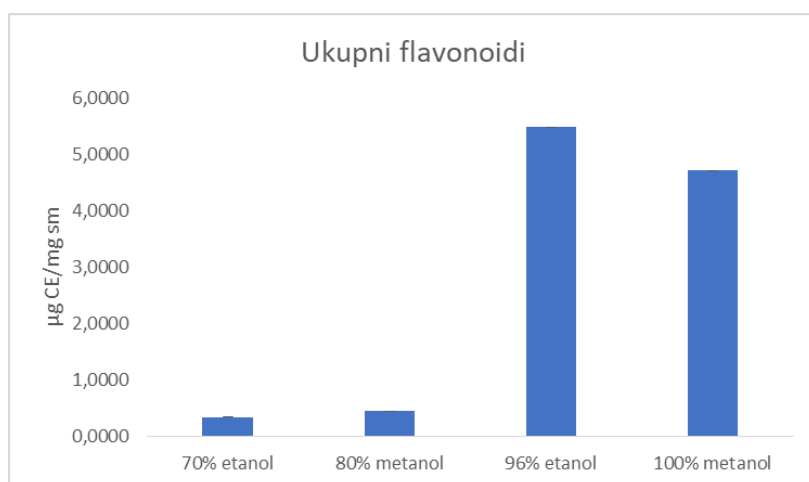
y – iznos apsorbancije pri 510 nm

x – koncentracija katehina (mg/L).



Slika 19. Baždarna krivulja katehina. Izvor: autor.

Izračun udjela ukupnih flavonoida prikazan je u formi grafikona na sljedećoj slici.



Slika 20. Udio ukupnih flavonoida u uzorcima. Izvor: autor.

Rezultati određivanja ukupnih flavonoida uz pomoć spektrofotometra prikazuju raspon rezultata od 0,344 do 5,482 µg CE/mg suhe mase uzorka. Ukupni flavonoidi u najvećem su udjelu (5,482 µg GAE/mg sm) ekstrahirani u 96-postotnom etanolu, dok je njihov najmanji udio (0,344 µg GAE/mg sm) ekstrahiran u 70-postotnom etanolu. Udio flavonoida u ostalim otapalima iznosi: 0,448 µg GAE/mg sm u 80%-tnom metanolu, a 4,715 µg GAE/mg sm u 100%-tnom metanolu. Primjećuje se kako je ekstrakcija flavonoida iz uzoraka znatno učinkovitija u alkoholnim otapalima visokog postotka čistoće, dok se značajno smanjuje u razrijeđenim alkoholima. Razlog tome je vjerojatno veći udio hidrofobnih flavonoida prisutnih u sjemenkama. Inače, sjemenke ginka prema literaturnim podacima imaju značajno niže udjele flavonoida nego drugi dijelovi, kao na primjer list [25]. Na primjer u radu Kovač Tomas i sur. [25] određivan je sadržaj dimernih flavonoida u različitim dijelovima ginka i u sjemenkama nisu detektirani biflavonoidi. Flavonoidni spojevi češće se nalaze u dijelovima biljke u direktnom doticaju s okolinom, tako da su kod sjemenke ginka prisutni u mekanom omotaču sjemenke, dok ih u samim sjemenkama ima puno manje.

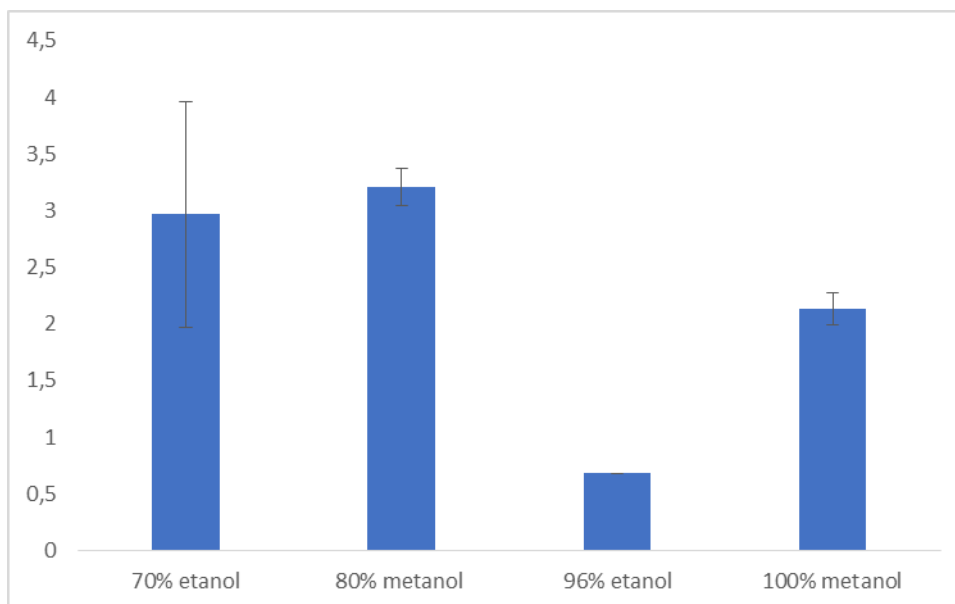
### 4.3. Antioksidacijska aktivnost

Za determinaciju antioksidativne aktivnosti upotrijebljena je metoda po Brand-Williamsu [19].

**Tablica 1.** Izračun postotka inhibicije slobodnog radikala u triplikatu za 4 vrste otapala i njihovu srednju vrijednost, kao i srednje vrijednosti slijepih proba.

% inhibicije	Uzorak 1	Uzorak 2	Uzorak 3	A (Average)
70E	2,61	2,074	4,219	<b>2,967%</b>
80M	2,998	3,319	3,319	<b>3,211%</b>
96E	0,679	0,679	0,679	<b>0,679%</b>
100M	1,991	2,311	2,097	<b>2,133%</b>
	<b>70E</b>	<b>80M</b>	<b>96E</b>	<b>100M</b>
Slijepe probe	0,932	0,934	0,932	0,938

Antioksidacijska aktivnost prikazuje se kroz postotak inhibicije slobodnih radikala.



Slika 21. Grafički prikaz rezultata antioksidacijske aktivnosti uzoraka u 4 različita otapala, izraženi u % inhibicije DPPH° radikala. Izvor: autor.

Na temelju rezultata mjerenja inhibicije slobodnog radikala, vidi se kako je najveći postotak u 80-postotnom metanolu i njegov je iznos 3,212%. U 70-postotnom etanolu i 100-postotnom

metanolu je približno jednake vrijednosti, odnosno 2,967% i 2,133%. Rezultat je najmanji u 96-postotnom etanolu, a iznos mu je tek 0,679%. Uzimajući u obzir niski postotak inhibicije kod sva četiri uzorka, zaključuje se kako ekstrakt sjemenki ginka ima nisko antioksidacijsko djelovanje u usporedbi s ostalim dijelovima biljke što je u korelaciji s nižim sadržajem polifenolnih spojeva i flavonoida.

## 5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog završnog rada bio je određivanje ukupnih polifenola, ukupnih flavonoida te antioksidacijske aktivnosti u sjemenkama ginka. Na osnovi dobivenih rezultata kod mjerenja ukupnih polifenola zaključuje se kako dodavanje vode u alkohol, odnosno njegovo razrjeđenje, rezultira povećanim ukupnim udjelom polifenola koji su se ekstrahirali u usporedbi s čistim otapalom, 100-postotnim metanolom, gdje je ekstrakcija najmanje učinkovita. Kod izračuna ukupnog udjela flavonoida primjećuje se kako je ekstrakcija flavonoida iz uzoraka znatno učinkovitija u alkoholnim otapalima visokog postotka čistoće, dok se značajno smanjuje u razrijeđenim alkoholima. Tome je razlog vjerojatno prisutnost više flavonoida koji nisu topivi u vodi. Što se tiče postotka inhibicije slobodnog radikala, odnosno antioksidacijske aktivnosti kod uzoraka, dobiveni postoci relativno su niski u sva 4 korištena otapala pa se može zaključiti kako uzorci imaju nisku antioksidacijsku aktivnost. Najbolja inhibicija pokazala se u 80-postotnom metanolu. Takvi rezultati su očekivani s obzirom na relativno niži sadžaj ukupnih polifenola i flavonoida u usporedbi s drugim dijelovima biljke.

Gledajući sveukupno rezultate ovog rada vidljivo je da sjemenke nisu bogate polifenolnim spojevima i flavonoidima. Međutim, za ekstrakciju tih spojeva valja koristiti pogodno otapalo koje je kod flavonoida alkohol s manjim postotkom vode, dok je udio ukupnih polifenola viši u otapalu koje sadrži i određeni postotak vode. No za točnije zaključke valjalo bi učiniti neku od kvantifikacijskih metoda kao što je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) s odgovarajućim detektorima.





**IZJAVA O AUTORSTVU  
I  
SUGLASNOST ZA JAVNU OBJAVU**

Završni/diplomski rad isključivo je autorsko djelo studenta koji je isti izradio te student odgovara za istinitost, izvornost i ispravnost teksta rada. U radu se ne smiju koristiti dijelovi tuđih radova (knjiga, članaka, doktorskih disertacija, magistarskih radova, izvora s interneta, i drugih izvora) bez navođenja izvora i autora navedenih radova. Svi dijelovi tuđih radova moraju biti pravilno navedeni i citirani. Dijelovi tuđih radova koji nisu pravilno citirani, smatraju se plagijatom, odnosno nezakonitim prisvajanjem tuđeg znanstvenog ili stručnoga rada. Sukladno navedenom studenti su dužni potpisati izjavu o autorstvu rada.

Ja, JOSIPA ĐELEKOVČAN (ime i prezime) pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor/ica završnog/diplomskog (obrisati nepotrebno) rada pod naslovom Određivanje ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidativnosti u sj. gimka (upisati naslov) te da u navedenom radu nisu na nedozvoljeni način (bez pravilnog citiranja) korišteni dijelovi tuđih radova.

Student/ica:  
(upisati ime i prezime)

Josipa Đelekovčan  
(vlastoručni potpis)

Sukladno Zakonu o znanstvenoj djelatnosti i visokom obrazovanju završne/diplomske radove sveučilišta su dužna trajno objaviti na javnoj internetskoj bazi sveučilišne knjižnice u sastavu sveučilišta te kopirati u javnu internetsku bazu završnih/diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice. Završni radovi istovrsnih umjetničkih studija koji se realiziraju kroz umjetnička ostvarenja objavljuju se na odgovarajući način.

Ja, JOSIPA ĐELEKOVČAN (ime i prezime) neopozivo izjavljujem da sam suglasan/na s javnom objavom završnog/diplomskog (obrisati nepotrebno) rada pod naslovom Određivanje sadržaja ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidativnosti u sj. gimka (upisati naslov) čiji sam autor/ica.

Student/ica:  
(upisati ime i prezime)

Josipa Đelekovčan  
(vlastoručni potpis)

**6.8%**

Date: 09/05/2023, 07:14 AM

\* All sources 62 | Internet sources 34 | Own documents 2 | Organization archive 2 | Plagiarism Prevention Pool 24

- ✓ [1] core.ac.uk/download/pdf/197893299.pdf  
1.4% 7 matches

---

- ✓ [2] core.ac.uk/download/pdf/197900485.pdf  
0.8% 5 matches

---

- ✓ [3] www.pmf.ni.ac.rs/download/master/master\_radovi\_hemija/hemija\_master\_radovi/2017/2017-08-28-VA.pdf  
0.7% 5 matches

---

- ✓ [4] core.ac.uk/download/pdf/198135514.pdf  
0.7% 6 matches

---

- ✓ [5] core.ac.uk/download/pdf/197878652.pdf  
0.6% 5 matches

---

- ✓ [6] zir.nsk.hr/islandora/object/pharma:1143/datastream/PDF/view  
0.8% 5 matches

---

- ✓ [7] mobi.unios.hr/wp-content/uploads/završeni\_doktorati/dunja\_samec.pdf  
0.6% 5 matches

---

- ✓ [8] www.pmf.ni.ac.rs/download/master/biologija/radovi/2015/2015-12-01-rj-1.pdf  
0.7% 6 matches

---

- ✓ [9] docplayer.rs/210875910-Utjecaj-abiotskog-stresa-niskim-temperaturama-na-razinu-specijaliziranih-metabolita-u-lišću-raštike.html  
0.7% 4 matches

---

- ✓ [10] from a PlagScan document dated 2021-02-23 05:37  
0.4% 3 matches

---

- ✓ [11] "Završni rad Lucija Pintarić.docx" dated 2022-07-15  
0.5% 3 matches

---

- ✓ [12] hrcak.srce.hr/file/139277  
0.5% 3 matches

---

- ✓ [13] from a PlagScan document dated 2017-10-23 21:13  
0.4% 3 matches

---

- ✓ [14] from a PlagScan document dated 2021-10-14 02:05  
0.4% 3 matches

---

- ✓ [15] "Ms. No. MLJE-21-66\_BJEKIC.docx" dated 2021-07-16  
0.3% 3 matches

---

- ✓ [16] from a PlagScan document dated 2020-12-09 18:34  
0.3% 3 matches

---

- ✓ [17] from a PlagScan document dated 2021-06-24 16:59  
0.4% 3 matches

---

- ✓ [18] from a PlagScan document dated 2020-04-21 12:39  
0.4% 3 matches

---

- ✓ [19] apps.unizg.hr/ректорова-nagrada/javno/radovi/978/preuzmi  
0.3% 3 matches

---

- ✓ [20] repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:2118/datastream/PDF/view  
0.3% 3 matches

---

- ✓ [21] core.ac.uk/download/pdf/270118207.pdf  
0.3% 2 matches

---



- ✓ [22] www.hah.hr/pdf/Knjiga\_kemijske\_i\_fizikalne\_opasnosti.pdf  
0.3% 3 matches

---




- ✓ [23] core.ac.uk/download/pdf/197885559.pdf  
0.3% 2 matches

---



- ✓ [24] core.ac.uk/download/pdf/197860782.pdf  
0.3% 2 matches

- ✓ [25]  from a PlagScan document dated 2018-12-14 04:32  
 2 matches



---

- ✓ [26]  [www.researchgate.net/publication/347100422\\_Effect\\_of\\_different\\_drying\\_methods\\_on\\_product\\_quality\\_bioactive\\_and\\_toxic\\_components\\_of\\_Ginkgo\\_biloba\\_L\\_se](http://www.researchgate.net/publication/347100422_Effect_of_different_drying_methods_on_product_quality_bioactive_and_toxic_components_of_Ginkgo_biloba_L_se)  
 1 matches  
 1 documents with identical matches



---

- ✓ [28]  [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6428993/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6428993/)  
 1 matches



---

- ✓ [29]  [repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:911/datastream/PDF/download](http://repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:911/datastream/PDF/download)  
 2 matches



---

- ✓ [30]  [core.ac.uk/download/pdf/197889222.pdf](http://core.ac.uk/download/pdf/197889222.pdf)  
 2 matches



---

- ✓ [31]  from a PlagScan document dated 2022-07-19 10:26  
 2 matches



---

- ✓ [32]  from a PlagScan document dated 2022-02-09 02:13  
 2 matches




---

- ✓ [33]  from a PlagScan document dated 2020-06-16 14:45  
 2 matches



---

- ✓ [34]  from a PlagScan document dated 2020-06-16 14:45  
 2 matches



---

- ✓ [35]  from a PlagScan document dated 2019-04-08 22:05  
 2 matches  
 1 documents with identical matches



---

- ✓ [37]  [repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:1000/datastream/PDF](http://repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:1000/datastream/PDF)  
 2 matches



---

- ✓ [38]  [repositorij.ktf-split.hr/en/islandora/object/ktfst:1001/datastream/PDF/view](http://repositorij.ktf-split.hr/en/islandora/object/ktfst:1001/datastream/PDF/view)  
 2 matches



---

- ✓ [39]  from a PlagScan document dated 2021-01-11 15:54  
 2 matches



---

- ✓ [40]  from a PlagScan document dated 2021-10-13 10:23  
 2 matches



---

- ✓ [41]  "Aronija-mogućnost prerade i sastav fenola, završni rad, Lea Vudrag-1.docx" dated 2021-07-09  
 2 matches



---

- ✓ [42]  from a PlagScan document dated 2023-06-27 13:35  
 2 matches



---

- ✓ [43]  from a PlagScan document dated 2021-03-11 21:19  
 2 matches



---

- ✓ [44]  [core.ac.uk/download/pdf/197909681.pdf](http://core.ac.uk/download/pdf/197909681.pdf)  
 2 matches



---

- ✓ [45]  from a PlagScan document dated 2023-04-25 07:58  
 1 matches



---

- ✓ [46]  [repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:3270/datastream/PDF/view](http://repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:3270/datastream/PDF/view)  
 1 matches



---

- ✓ [47]  [core.ac.uk/download/pdf/198065747.pdf](http://core.ac.uk/download/pdf/198065747.pdf)  
 1 matches



---

- ✓ [48]  from a PlagScan document dated 2022-06-06 01:33  
 1 matches



---

- ✓ [49]  from a PlagScan document dated 2020-02-17 14:04  
 1 matches



---

- ✓ [50]  [vukovar.mefos.hr/index.php/en/diplomski-mld-eng-1/elective-courses/laboratory-technologies-in-molecular-genetics-and-biology](http://vukovar.mefos.hr/index.php/en/diplomski-mld-eng-1/elective-courses/laboratory-technologies-in-molecular-genetics-and-biology)  
 1 matches



---

- ✓ [51]  [repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:2584/datastream/PDF/view](http://repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:2584/datastream/PDF/view)  
 1 matches

---

- ✓ [52]  [hrcak.srce.hr/file/140741](http://hrcak.srce.hr/file/140741)  
 1 matches

---

- ✓ [53]  from a PlagScan document dated 2020-06-16 03:24  
 1 matches

- ✓ [54]  from a PlagScan document dated 2020-05-28 16:18  
0.1% 1 matches

---

- ✓ [55]  from a PlagScan document dated 2019-04-08 11:04  
0.1% 1 matches

---

- ✓ [56]  from a PlagScan document dated 2017-09-11 18:20  
0.1% 1 matches

---

- ✓ [57]  from a PlagScan document dated 2017-04-02 08:57  
0.1% 1 matches

---

- ✓ [58]  [repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:1961/datastream/PDF/view](https://repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:1961/datastream/PDF/view)  
0.1% 1 matches

---

- ✓ [59]  [zir.nsk.hr/islandora/object/pbf:3689/datastream/PDF/view](https://zir.nsk.hr/islandora/object/pbf:3689/datastream/PDF/view)  
0.1% 1 matches

---

- ✓ [60]  [zir.nsk.hr/islandora/object/kemos:449/datastream/PDF/view](https://zir.nsk.hr/islandora/object/kemos:449/datastream/PDF/view)  
0.1% 1 matches

---

- ✓ [61]  [repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:1985/datastream/PDF/view](https://repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:1985/datastream/PDF/view)  
0.1% 1 matches


---

- ✓ [62]  [www.pmf.ni.ac.rs/download/master/biologija/2019/MASTER-RAD-MILICA-VIDANOVIC-276.pdf](https://www.pmf.ni.ac.rs/download/master/biologija/2019/MASTER-RAD-MILICA-VIDANOVIC-276.pdf)  
0.1% 1 matches

---

- ✓ [63]  [repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:2110/datastream/PDF](https://repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:2110/datastream/PDF)  
0.1% 1 matches

29 pages, 5114 words

 A very light text-color was detected that might conceal letters used to merge words.

**PlagLevel: 6.8% selected / 8.6% overall**

56 matches from 64 sources, of which 35 are online sources.

#### Settings

Data policy: *Compare with web sources, Check against my documents, Check against my documents in the organization repository, Check against organization repository, Check against the Plagiarism Prevention Pool*

Sensitivity: *Medium*

Bibliography: *Consider text*

Citation detection: *Reduce PlagLevel*

Whitelist: *--*

## 6. LITERATURA

- [1] E. Carignani, E. de Combarieu: Solid State NMR Study of the Mixing Degree Between Ginkgo Biloba Extract and a Soy-Lecithin-Phosphatidylserine in a Composite Prepared by the Phytosome Method, *Chemistry Africa*, 2020, 3, 717 – 725. <https://doi.org/10.1007/s42250-020-00165-0>
- [2] T. Isah: Rethinking *Ginkgo biloba* L.: Medicinal uses and conservation, *Pharmacogn Rev*, 2015, 9 (18), 140-148. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.162137>
- [3] I.D. Boateng, X. Yang: Effect of different drying methods on product quality, bioactive and toxic components of *Ginkgo biloba* L. seed, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(8), 3290-3297. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10958>
- [4] D. Šamec, E. Karalija, S. Dahija, S.T.S. Hassan: Biflavonoids: Important Contributions to the Health Benefits of Ginkgo (*Ginkgo biloba* L.), *Plants*, 2022, 11, 1381. <https://doi.org/10.3390/plants11101381>
- [5] Z. Lemaić, M.Z. Mišković: *Ginkgo biloba*. Seminarski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2022. str. 2
- [6] H. Huh, E.J. Staba: The Botany and Chemistry of *Ginkgo biloba* L. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 2010, 1(1-2), 91-124. [https://doi.org/10.1300/J044v01n01\\_10](https://doi.org/10.1300/J044v01n01_10)
- [7] T. Tomova, N. Doncheva, A. Mihaylova, I. Kostadinov, L. Peychev, M. Argirova: An Experimental Study on Phytochemical Composition and Memory Enhancing Effect of *Ginkgo biloba* Seed Extract. *Folia Medica*, 2021, 63(2), 203-212. <https://doi.org/10.3897/folmed.63.e53060>
- [8] F. Chassagne, X. Huang, J.T. Lyles, C.L. Quave: Validation of a 16th Century Traditional Chinese Medicine Use of *Ginkgo biloba* as a Topical Antimicrobial. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10, 775. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00775>
- [9] K. Hatano, T. Miyakawa, Y. Sawano, M. Tanokura: Antifungal and Lipid Transfer Proteins from Ginkgo (*Ginkgo biloba*) Seeds. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 2011, 63, 527-534. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10063-5>

- [10] J. Chu: A Living Fossil with Poisonous Seeds. *Food Safety Focus*, 2018, 149. [https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia\\_pub/multimedia\\_pub\\_fsf\\_149\\_01.html](https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_pub/multimedia_pub_fsf_149_01.html)
- [11] V. Miletić: Spektrofotometrijsko određivanje polifenola izoliranih iz kore rajčice ultrazvukom visokog intenziteta. Završni rad. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2017. str. 2
- [12] S. Wang, H. Lin, W. Cong: Chinese Medicines Improve Perimenopausal Symptoms Induced by Surgery, Chemoradiotherapy, or Endocrine Treatment for Breast Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, 10, 174. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00174>
- [13] N. Tabassum, R. Das, M.S. Lami, A.J. Chakraborty, S. Mitra, T.E. Tallei, R. Idroes, A.A. Mohamed, J. Hossain, K. Dhama, G. Mostafa-Hedeab, T.B. Emran: *Ginkgo biloba*: A Treasure of Functional Phytochemicals with Multimedicinal Applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/8288818>
- [14] P. Biernacka, I. Adamska, K. Felisiak: The Potential of *Ginkgo biloba* as a Source of Biologically Active Compounds – A Review of the Recent Literature and Patents. *Molecules*, 2023, 28(10), 3993. <https://doi.org/10.3390/molecules28103993>
- [15] R. Li, Z. Xia, B. Li, Y. Tian, G. Zhang, M. Li, J. Dong: Advances in Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Bioactive Substances from Different Parts of *Ginkgo biloba* L. *Molecules*, 2021, 26(13), 4011. <https://doi.org/10.3390/molecules26134011>
- [16] C.J. Oliveria, M. Correa de Souza, L. Capelasso da Silva, D. Lachos-Perez, P.C. Torres-Mayanga, A.P. da Fonesca Machado, T. Forster-Carneiro, M. Vazques-Espinosa, A.V. Gonzalez-de-Peredo, G.F. Barbero, M.A. Rostagno: Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Front. Chem.*, 2020, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.507887>
- [17] N. Pećina-Šlaus i dr.: Odabrane metode molekularne biologije, Medicinska naklada, Zagreb, 2009.
- [18] A. Blainski, G. Lopes, J. de Mello: Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*, 2013, 18(6), 6852–6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>

- [19] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 1995, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- [20] B. Pavić: Određivanje antioksidativne aktivnosti aminosalicilata HPLC-DPPH metodom. Diplomski rad. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2019. str. 13
- [21] D. Hung, B. Ou, R.L. Prior: The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- [22] V. Singleton, J. Rossi: Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of enology and Viticulture*, 1965, 16, 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- [23] P. Šarenić: Određivanje ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti u maslinovom ulju. Diplomski rad. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2018. str. 22
- [24] H. Liu, N. Qiu, H. Ding, R. Yao: Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Research International*, 2008, 41(4), 363-370. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.12.012>
- [25] M. Kovač Tomas, I. Jurčević Šangut, D. Šamec: Tissue-Specific Profiling of Biflavonoids in Ginkgo (*Ginkgo biloba* L.). *Plants*, 2023, 12, 147. <https://doi.org/10.3390/plants12010147>

## Popis slika i tablica

Slika 1. Drvo ginka u Osijeku. Izvor: [4]

Slika 2. Listovi i sjemenke ginka. Izvor: vlastita fotografija

Slika 3. Hrana pripremljena sa sjemenkama ginka. Izvor:

[https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia\\_pub/multimedia\\_pub\\_fsf\\_149\\_01.html](https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_pub/multimedia_pub_fsf_149_01.html)

Slika 4. Monomerni flavonoidi i terpenoidni trilaktone prisutni u listovima ginka. Izvor: [12]

Slika 5. Analitička vaga (Adam Equipment SAB 514). Izvor: vlastita fotografija

Slika 6. Centrifuga (bioSan LMC-4200R). Izvor: vlastita fotografija

Slika 7. Rotator (bioSan Bio RS-24 Mini-Rotator). Izvor: vlastita fotografija

Slika 8. Ultrazvučna kupelj (Argolab DU-100). Izvor: vlastita fotografija

Slika 9. Vortex (bioSan Vortex V-1plus). Izvor: vlastita fotografija

Slika 10. Osušene sjemenke ginka korišteni u analizi. Izvor: vlastita fotografija

Slika 11. Osušene sjemenke ginka korišteni u analizi. Izvor: vlastita fotografija

Slika 12. Razrjeđenja galne kiseline i uzorci pripremljeni po Folin-Ciocalteu metodi. Izvor: vlastita fotografija

Slika 13. Bezbojni uzorci nakon što su odreagirali sa FC reagensom. Izvor: vlastita fotografija

Slika 14. Nastalo plavo obojenje kod razrjeđenja galne kiseline nakon što su odreagirala sa FC reagensom. Izvor: vlastita fotografija

Slika 15. Razrjeđenja katehina i uzorci pripremljeni po metodi s aluminijskim kloridom. Izvor: vlastita fotografija

Slika 16. Novonastalo crveno obojenje kod razrjeđenja katehina na kraju reakcije, te nedostatak obojenja kod uzoraka. Izvor: vlastita fotografija

Slika 17. Baždarna krivulja galne kiseline. Izvor: autor

Slika 18. Udio ukupnih polifenola u uzorcima. Izvor: autor

Slika 19. Baždarna krivulja katehina. Izvor: autor

Slika 20. Udio ukupnih flavonoida u uzorcima. Izvor: autor

Slika 21. Grafički prikaz rezultata antioksidacijske aktivnosti uzoraka u 4 različita otapala, izraženi u % inhibicije DPPH° radikala. Izvor: autor

**Tablica 1.** Izračun postotka inhibicije slobodnog radikala u triplikatu za 4 vrste otapala i njihovu srednju vrijednost, kao i srednje vrijednosti slijepih proba. Izvor: autor