


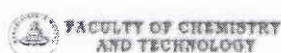
**11** hranom  
do zdravlja  
with  
food  
to health



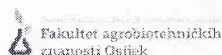
Zbornik radova s 11. međunarodnog  
znanstveno-stručnog skupa

---

Proceedings of the 11<sup>th</sup> International  
Scientific and Professional Conference



PTF



<i>Faculty of Chemistry and Technology (University of Split, Croatia)</i>	/	Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu
<i>Faculty of Food Technology Osijek (University of Osijek, Croatia)</i>	/	Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Osijeku
<i>Faculty of Technology (University of Tuzla, B&amp;H)</i>	/	Tehnološki fakultet Univerziteta u Tuzli (BiH)
<i>Faculty of Pharmacy (University of Tuzla, B&amp;H)</i>	/	Farmaceutski fakultet Univerziteta u Tuzli (BiH)
<i>Association for Nutrition and Dietetics (B&amp;H)</i>	/	Udruženje za nutricionizam i dijetetiku (BiH)
<i>Veterinary Institute Vinkovci</i>	/	Veterinarski zavod Vinkovci
<i>European Hygienic Engineering &amp; Design Group – EHEDG (Germany)</i>	/	European Hygienic Engineering & Design Group – EHEDG (Njemačka)
<i>School of Medicine (University of Split, Croatia)</i>	/	Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu
<i>Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek (University of Osijek, Croatia)</i>	/	Fakultet agrobiotehničkih znanosti Sveučilišta u Osijeku
<i>Faculty of Agriculture and Food Technology (University of Mostar, B&amp;H)</i>	/	Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Mostaru (BiH)
<i>Chamber of Pharmacists of Tuzla Canton (Tuzla, B&amp;H)</i>	/	Komora magistara farmacije Tuzlanskog kantona (BiH)
<i>Andrija Štampar – Association of People's Health</i>	/	Udruga narodnog zdravlja Andrija Štampar
<i>Croatian Food Agency</i>	/	Hrvatska agencija za hranu
<i>The Department of Biology (University of Osijek, Croatia)</i>	/	Odjel za Biologiju Sveučilišta u Osijeku

## PROCEEDINGS / ZBORNIK RADOVA

11<sup>th</sup> International Scientific and Professional Conference

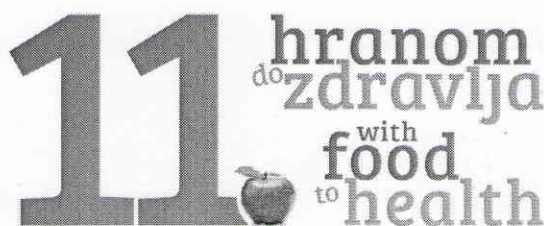
**WITH FOOD TO HEALTH**

October 18<sup>th</sup> and 19<sup>th</sup> 2018, Split, Croatia

11. međunarodni znanstveno-stručni skup

**HRANOM DO ZDRAVLJA**

18. i 19. listopada 2018., Split, Hrvatska



Split, Osijek and / i Tuzla, 2019.

<b>PROCEEDINGS</b>	<i>11<sup>th</sup> International Scientific and Professional Conference WITH FOOD TO HEALTH</i>
<b>ZBORNİK RADOVA</b>	11. međunarodni znanstveno-stručni skup HRANOM DO ZDRAVLJA
<b>Published by / Izdavači</b>	<i>Faculty of Chemistry and Technology (University of Split), Faculty of Food Technology Osijek (University of Osijek) and Faculty of Technology (University of Tuzla)</i> Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu, Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Osijeku i Tehnološki fakultet Univerziteta u Tuzli
<b>Editors / Urednici</b>	Igor Jerković, Drago Šubarić, Midhat Jašić
<b>Executive Editor / Izvršni urednik</b>	Antun Jozinović
<b>Technical Editors / Tehnički urednici</b>	Ivana Generalić Mekinić, Ante Lončarić
<b>Cover page design / Dizajn naslovnice Printing and Binding / Tisak i uvez</b>	Studio HS internet d.o.o., Osijek, Croatia / Hrvatska
<b>Number of Copies / Naklada</b>	100
<b>Organising Committee / Organizacijski odbor</b>	Igor Jerković ( <i>chairman / predsjednik</i> ), Drago Šubarić ( <i>vice-chairman / zamjenik predsjednika</i> ), Midhat Jašić ( <i>vice-chairman / zamjenik predsjednika</i> ), Đurđica Ačkar, Damir Alihodžić, Almir Azabagić, Jurislav Babić, Ines Banjari, Slobodan Brinić, Aneda Cipurković, Daniela Čačić Kenjerić, Matko Erceg, Ivana Flanjak, Ivana Generalić Mekinić ( <i>secretary / tajnica, Split</i> ), Artur Gryszkyn, Stela Jokić, Dražan Jozić, Antun Jozinović ( <i>secretary / tajnik, Osijek</i> ), Vlatko Kopic, Ante Lončarić, Zvonimir Marijanović, Danijela Skroza, Marizela Šabanović, Antonija Šarić, Vida Šimat
<b>Scientific Committee / Znanstveni odbor</b>	Krunoslav Aladić, Tea Bilušić, Mladen Boban, Brigita Đorđević, Jelena Đugum, Eva Falch, Ljubica Glavaš-Obrovac, Lidija Jakobek Barron, Snježana Jakobović, Ljiljana Krstin, Ciril Lisickov, Borislav Miličević, Tihomir Moslavac, Benjamin Muhamedbegović, Amra Odošajić, Mario Panjičko, Fuad Pašić, Jelka Pleadin, Senada Selmanović, Vineta Srebrenkoska, Aleksandra Tepić, Andrijana Včeva, Senka Vidović, Milica Vilušić, Dubravka Vitali Čepo
<b>Honorary Committee / Počasni odbor</b>	Vladimir Androćec, Ivan Anušić, Mensura Aščerić, Lejla Begić, Sead Čatić, Zoran Đogaš, Radoslav Grujić, Vlado Guberac, Boris Habrun, Mirsada Hukić, Dragan Ljutić, Snježana Marić, Helga Medić, Zlata Mujagić, Ivan Ostojić, Vlasta Piližota, Darja Sokolić, Mario Škrivanko, Tomislav Tolušić, Ivan Vukoja, Krunoslav Zmaić, Željko Zubčić
<i>The Conference will be credited according to the ordinance of Croatian medical chamber.</i> Skup će biti bodovan sukladno pravilnicima Hrvatske liječničke komore.	
<i>A CIP catalogue record of this publication is available from the City and University Library Osijek under the number 141202081.</i> CIP zapis dostupan u računalnom katalogu Gradske i sveučilišne knjižnice Osijek pod brojem 141202081.	
ISBN (Split): 978-953-7803-10-0	ISBN (Osijek): 978-953-7005-61-0
EAN (Split): 9789537803100	EAN (Osijek): 9789537005610
ISSN (Tuzla): 2232-9536	
Split, Osijek and / i Tuzla, 2019.	

**Supported by:**

**Uz potporu:**

*Ministry of Science and  
Education of the Republic of  
Croatia*

Ministarstvo znanosti  
i obrazovanja Republike  
Hrvatske



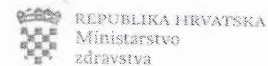
*Ministry of Agriculture of  
the Republic of Croatia*

Ministarstvo poljoprivrede  
Republike Hrvatske



*Ministry of Health of the  
Republic of Croatia*

Ministarstvo zdravstva  
Republike Hrvatske



*Ministry of Economy,  
Entrepreneurship and  
Crafts of the Republic of  
Croatia*

Ministarstvo gospodarstva,  
poduzetništva i obrta Republike  
Hrvatske



*University of Split*

Sveučilište u Splitu



*Josip Juraj Strossmayer  
University of Osijek*

Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku



*Croatian Academy of  
Engineering*

Akademija tehničkih znanosti  
Hrvatske



*Croatian Association of  
Nutritionists*

Hrvatski zbor nutricionista



*Split-Dalmatia County*

Splitsko-dalmatinska županija



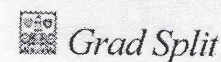
*Osijek-Baranja County*

Osječko-baranjska županija



*City of Split*

Grad Split



**SUPPORTING PUBLICATIONS**

Croatian Journal of Food Science and  
Technology (CJFST)  
Food in Health and Disease: Scientific-  
Professional Journal of Nutrition and Dietetics

**PODUPIRUJUĆI ČASOPISI**

Croatian Journal of Food Science and  
Technology (CJFST)  
Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni  
časopis za nutricionizam i dijetetiku

**SPONSORS****GOLDEN**

Shimadzu d.o.o., Croatia  
AlphaChrom d.o.o., Croatia

**SILVER**

Kefo d.o.o., Croatia  
Labena d.o.o., Croatia

**BRONZE**

Ledo d.d., Croatia  
V.I.A. – lab d.o.o., Croatia  
Kemolab d.o.o., Croatia  
Primalab d.o.o., Croatia  
CROTEH d.o.o., Croatia  
Croatian Chamber of Economy, Croatia  
Ljekarne srce, Croatia

**SPONSOR OF CATERING**

Kefo d.o.o., Croatia

**OTHER SPONSORS AND DONORS**

Croatian Veterinary Institute Zagreb, Croatia  
Veterinary Institute Vinkovci, Croatia  
Vita Lab Nova d.o.o., Croatia  
Pivovara Osijek d.o.o., Croatia  
Croatian Food Agency, Croatia  
Pure Medica d.o.o., Croatia  
Belje d.d., Croatia  
Tourist Board of Osijek-Baranja County,  
Croatia  
Split-Dalmatia County, Croatia  
City of Split, Croatia  
TRS winery Ilok, Croatia  
Misna vina d.o.o., Croatia  
Vupik d.d., Croatia  
Karolina d.o.o., Croatia  
Kandit d.o.o., Croatia  
Podravka d.d., Croatia  
Croatia osiguranje d.d., Croatia  
Polytechnic in Požega, Croatia  
KLAS d.d. Sarajevo, B&H  
Vispak d.d., B&H  
Voćar d.o.o., B&H  
ZADA Pharmaceuticals d.o.o., B&H

**SPONZORI****ZLATNI**

Shimadzu d.o.o., Hrvatska  
AlphaChrom d.o.o., Hrvatska

**SREBRNI**

Kefo d.o.o., Hrvatska  
Labena d.o.o., Hrvatska

**BRONČANI**

Ledo d.d., Hrvatska  
V.I.A. – lab d.o.o., Hrvatska  
Kemolab d.o.o., Hrvatska  
Primalab d.o.o., Hrvatska  
CROTEH d.o.o., Hrvatska  
Hrvatska gospodarska komora, Hrvatska  
Ljekarne srce, Hrvatska

**SPONZOR CATERINGA**

Kefo d.o.o., Hrvatska

**OSTALI SPONZORI I DONATORI**

Hrvatski veterinarski institut Zagreb, Hrvatska  
Veterinarski zavod Vinkovci, Hrvatska  
Vita Lab Nova d.o.o., Hrvatska  
Pivovara Osijek d.o.o., Hrvatska  
Hrvatska agencija za hranu, Hrvatska  
Pure Medica d.o.o., Hrvatska  
Belje d.d., Hrvatska  
Turistička zajednica Osječko-baranjske županije,  
Hrvatska  
Splitsko-dalmatinska županija, Hrvatska  
Grad Split, Hrvatska  
TRS vinarija Ilok, Hrvatska  
Misna vina d.o.o., Hrvatska  
Vupik d.d., Hrvatska  
Karolina d.o.o., Hrvatska  
Kandit d.o.o., Hrvatska  
Podravka d.d., Hrvatska  
Croatia osiguranje d.d., Hrvatska  
Veleučilište u Požegi, Hrvatska  
KLAS d.d. Sarajevo, BiH  
Vispak d.d., BiH  
Voćar d.o.o., BiH  
ZADA Pharmaceuticals d.o.o., BiH

### **EXHIBITORS**

Shimadzu d.o.o., Croatia  
AlphaChrom d.o.o., Croatia  
Kefo d.o.o., Croatia  
Labena d.o.o., Croatia  
Ledo d.d., Croatia  
V.I.A. – lab d.o.o., Croatia  
Kemolab d.o.o., Croatia  
Primalab d.o.o., Croatia  
CROTEH d.o.o., Croatia  
Croatian Chamber of Economy, Croatia  
Ru-Ve d.o.o., Croatia  
Kobis d.o.o., Croatia

### **IZLAGAČI**

Shimadzu d.o.o., Hrvatska  
AlphaChrom d.o.o., Hrvatska  
Kefo d.o.o., Hrvatska  
Labena d.o.o., Hrvatska  
Ledo d.d., Hrvatska  
V.I.A. – lab d.o.o., Hrvatska  
Kemolab d.o.o., Hrvatska  
Primalab d.o.o., Hrvatska  
CROTEH d.o.o., Hrvatska  
Hrvatska gospodarska komora, Hrvatska  
Ru-Ve d.o.o., Hrvatska  
Kobis d.o.o., Hrvatska

*All pieces of information provided in this PROCEEDINGS are the sole responsibility of the authors of the manuscripts. Publishers are not responsible for any use that might be made of the data appearing in this document. Also, publishers shall not be liable for any errors that are found in the works of authors.*

Sadržaj radova u ovom ZBORNIKU RADOVA isključiva je odgovornost autora. Izdavač nije odgovoran za upotrebu podataka objavljenih u cjelovitim radovima, greške i sl.

## Table of Contents / Sadržaj

<b>NUTRITION / NUTRICIONIZAM</b>	<b>1</b>
<b>Kvaliteta prehrane bolničkih medicinskih sestara / Diet-quality of hospital nurses</b> <i>Anđela Jelavić Šako, Gordana Kendel Jovanović, Vanja Đurica, Sandra Pavičić Žeželj, Greta Krešić</i>	<b>3</b>
<b>Održivost konzumacije hrane u Hrvatskoj procijenjena vodenim otiskom / Sustainability of food consumption in Croatia estimated with the water footprint</b> <i>Karla Ferk, Matko Grujić, Greta Krešić</i>	<b>15</b>
<b>DIETETICS AND DIET THERAPY / DIJETETIKA I DIJETOTERAPIJA</b>	<b>27</b>
<b>Stavovi oboljelih/izliječenih od karcinoma debelog crijeva prema prehrani u Međimurskoj županiji / Attitudes towards diet of people who are suffering from/who have beat colorectal cancer in Međimurje County</b> <i>Natalija Uršulin-Trstenjak, Julija Pečet, Aleksandar Racz</i>	<b>29</b>
<b>FOOD SAFETY / ZDRAVSTVENA SIGURNOST HRANE</b>	<b>45</b>
<b>Kemijska analiza ploda breskve na području Hercegovine / Chemical analysis of peach fruit in Herzegovina</b> <i>Lamija Aliman, Jasmina Aliman, Alisa Hadžiabulić, Nađa Macić, Nikolina Begović</i>	<b>47</b>
<b>Rezultati praćenja ostataka pesticida u i na hrani biljnog podrijetla na tržištu Bosne i Hercegovine u 2017. / Results monitoring of pesticide residues in or on food of plant origin in Bosnia and Herzegovina in 2017</b> <i>Džemil Hajrić, Dragan Brenjo, Katica Arar, Dragan Tomović, Armin Čolaković, Ivana Zovko</i>	<b>57</b>
<b>Antimikrobno djelovanje biljnih ekstrakata iz roda <i>Allium</i> / Antimicrobial activity of plant extracts from genus <i>Allium</i></b> <i>Aida Džaferović, Azra Bakrač, Subha Džafić, Vildana Jogić, Samira Dedić, Jelena Nikitović</i>	<b>65</b>
<b>Karakterizacija pjenastog polistirena nakon oporabe organskim otapalom limonenom / Characterization of the expanded polystyrene foams after recovery using limonene as organic solvent</b> <i>Miće Jakić, Mirna Borić, Danijela Skroza, Mario Nikola Mužek</i>	<b>75</b>
<b>Determination of histamine in fish and fish products using the method of ELISA</b> <i>Huska Jukić, Samira Dedić, Zlatko Jusufhodžić, Miloš Rodić, Dinko Demirović</i>	<b>83</b>
<b>Mikrobiološka analiza i određivanje kvalitete vode / Microbiological analysis and determination of quality of water</b> <i>Enver Karahmet, Senita Salkić, Enisa Omanović-Miklićanin, Amir Ganić, Munevera Begić, Almir Toroman, Erna Čatić</i>	<b>93</b>
<b>Stavovi i znanja potrošača prema kvaliteti i sigurnosti hrane na području FBiH / Attitudes and knowledge of consumers according to quality and safety food in FB&amp;H</b> <i>Ermina Kukić, Sead Karakaš, Mateja Paklarčić</i>	<b>99</b>
<b>FOOD ANALYSIS / ANALIZA HRANE</b>	<b>107</b>
<b>Utjecaj procesiranja na antioksidativnu aktivnost i sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u blitvi (<i>Beta vulgaris</i> L., <i>subsp. vulgaris</i>) / Effect of processing on antioxidant activity and total phenols and flavonoids contents in chard (<i>Beta vulgaris</i> L., <i>subsp. vulgaris</i>)</b> <i>Zilha Ašimović, Azra Ugarak, Lejla Čengić, Selma Čorbo</i>	<b>109</b>



<i>Microbiological and chemical qualities of polluted spring water and chlorinated drinking water from the spring of Klokot</i> <i>Samira Dedić, Huska Jukić, Aida Džaferović, Ekrem Pehlić, Miloš Rodić</i>	117
<b>Procjena kvalitete meda u ugostiteljskim objektima Primorsko-goranske i Istarske županije ispitivanjem udjela hidroksimetilfurfurala / <i>Quality assessment of honey in coffee bars located in Primorsko-Goranska and Istra County by determining hydroxymethylfurfural concentration</i></b> <i>Kristina Kvrčić, Dijana Mišetić Ostojić, Natalija Džafić, Jelka Pleadin</i>	125
<b>Physicochemical and sensory characteristics of green olive pastes</b> <i>Mladenka Šarolić, Ana Ukić, Emilija Friganović, Žana Delić, Marko Šuste, Tomislav Svalina, Zvonimir Marijanović</i>	135
<b>Određivanje sadržaja ukupnih fenola i antioksidativnog kapaciteta komercijalnih zelenih čajeva iz tuzlanskih trgovina / <i>Determination of total fenols and antioxidative capacity of commercial green tea from Tuzla supermarkets</i></b> <i>Emir Horozić, Jasmin Suljagić, Zahida Ademović, Amra Bratovčić, Lejla Halilčević</i>	141
<b>PRODUCTION OF SAFE FOOD AND FOOD WITH ADDED NUTRITIONAL VALUE / PROIZVODNJA ZDRAVSTVENO SIGURNE I NUTRITIVNO VRIJEDNE HRANE</b>	149
<b>Domestic hulless barley and malt as an easily available source of <math>\beta</math>-glucan</b> <i>Kristina Mastanjević, Maja Kotris, Krešimir Mastanjević, Daniela Horvat, Vinko Krstanović</i>	151
<b>AUTHOR INDEX / KAZALO AUTORA</b>	159
<b>SPONSORS, DONORS AND EXHIBITORS / SPONZORI, DONATORI I IZLAGAČI</b>	167

**ANTIMIKROBNO DJELOVANJE BILJNIH EKSTRAKATA IZ RODA  
*Allium***

**ANTIMICROBAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS FROM  
GENUS *Allium***

**Aida Džaferović<sup>1\*</sup>, Azra Bakrač<sup>1</sup>, Subha Džafić<sup>1</sup>, Vildana Jogić<sup>1</sup>, Samira Dedić<sup>1</sup>,  
Jelena Nikitović<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*University of Bihać, Biotechnical Faculty, Luke Marjanovića bb,  
77000 Bihać, B&H*

<sup>2</sup>*University of Banja Luka, Agricultural Faculty,  
Bulevar vojvode Petra Bojovića 1A, 78000 Banja Luka, B&H*

\**aida.btf@gmail.com*

izvorni znanstveni rad / original scientific paper

**SAŽETAK**

Cilj istraživanja ovog rada bio je ispitivanje antimikrobnog potencijala metanolnih ekstrakata biljaka iz roda *Allium*. Kao uzorci korišteni su biljni ekstrakti srijemuše - *Allium ursinum* L., bijelog luka - *Allium sativum* L. i crvenog luka - *Allium cepa* L. Antimikrobno djelovanje metanolnog ekstrakta navedenih biljaka ispitivano je primjenom disk difuzijske metode. Na ovaj način se pokušao inhibirati rast ukupnih bakterija i *Salmonelle spp.* izolirane iz uzorka redovne kontrole namirnica, koja spada pod monitoringom zdravstvene ispravnosti gotovih proizvoda, prije stavljanja istih na tržište. Rezultati djelovanja metanolnih ekstrakata pokazali su vidljivu zonu inhibicije na hranljivoj podlozi za ukupan broj mikroorganizama (Plate Count Agar) u kojoj je spriječen rast ispitivane bakterije. Ekstrakti su pokazali značajnu antimikrobnu aktivnost, u rasponu od 15,24 do 27,91 mm.

Ekstrakt *Allium sativum* L. je imao najviše izraženu zonu inhibicije koja je iznosila 27,91 mm, zatim *Allium ursinum* L. (21,13 mm), dok je najnižu antimikrobnu aktivnost pokazao je ekstrakt *Allium cepa* L. kod kojeg je zona inhibicije rasta bakterija bila 15,24 mm, što je znatno niže u odnosu na druga dva ispitivana ekstrakta. Antimikrobne aktivnosti ispitivanih ekstrakata prema *Salmonella spp.* pokazale su znatno niže vrijednosti. *Allium ursinum* L. je pokazao zonu inhibicije čiji je promjer iznosio 14,73 mm, a *Allium sativum* L. je pokazao približnu vrijednost 14,11 mm, dok ekstrakti *Allium cepa* L. nisu pokazali antimikrobnu aktivnost na bakteriju *Salmonella spp.*

*Ključne riječi: Allium ursinum L., Allium sativum L., Allium cepa L., Salmonella spp., disk difuzijska metoda, antimikrobno djelovanje*

*Keywords: Allium ursinum L., Allium sativum L., Allium cepa L., Salmonella spp., disc dilution method, antimicrobial activity*

## UVOD

Upotreba ljekovitog bilja za pripravku tradicionalnih preparata u alternativnoj medicini danas je sve veća. Iako se veliki broj biljnih vrsta od davnina koristi za liječenje brojnih bolesti, ipak njihovo djelovanje sa znanstvenog aspekta je još uvijek nedovoljno poznato (Chitme i sur., 2003). Prirodni proizvodi biljaka čine od 60 do 80 % sastojaka antibiotika koji su danas prisutni na tržištu (Taghizdah i sur., 2001), međutim bakterije razvijaju sve veću otpornost na klasične antibiotike (Cohen, 1992; Levy, 1997; Walsh, 2000; Cole i sur., 2002; Kiessling i sur., 2002). Iz tog razloga, ispitivanje i analiza biljnih ekstrakata sa znanstvenog aspekta, danas je sve više aktualna, zbog njihovog učinkovitog antimikrobnog učinka (Andrews i sur., 1980). Vrste roda *Allium* se stoljećima koriste kao začini u hrani, kao sastojak mnogih jela, ali su imale i široku primjenu u narodnoj medicini (Sapunjeva i sur., 2012). U tradicionalnoj medicini, vrste roda *Allium* se koriste za pročišćavanje krvi, kod problema sa peristaltikom, za smanjenje krvnog tlaka, kao i za liječenje glavobolje, oboljenja jetre, kod dijareje i artritisa (Ivanova i sur., 2009). *Allium sativum* L. je snažno antibakterijsko sredstvo i djeluje kao inhibitor na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije uključujući vrste bakterija *Escherichia*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus* i *Helicobacter pylori* (Ankri i Mirelman, 1999; Reuter i sur., 1996). U istraživanju koje su proveli Sapunjeva i sur. (2012), medvjedi luk ili srijemuša (*Allium ursinum* L.) je pokazao veću antimikrobnu aktivnost na Gram-pozitivne nego li na Gram-negativne bakterije. Vodeni ekstrakt i sok crvenog luka pokazali su inhibitorno djelovanje na rast vrste *Salmonella typhosa* u *in vitro* uvjetima (Bison, 1994). Zbog visokog sadržaja fenolnih spojeva i kvercetina u suhim kožastim listovima, ekstrakti crvenog luka su pokazali visoku antimikrobnu aktivnost na bakterije *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* i *Bacillus cereus* (Škerget i sur., 2009). U dosadašnjim studijama antimikrobna aktivnost vrsta iz roda *Allium* se pripisuje veoma reaktivnim sumpornim spojevima, te sukladno navedenoj činjenici u istraživanju koje su proveli Heinrich i sur. (1996) dokazano je da vrsta *Allium sativum* L. ima snažno antimikrobno djelovanje. Alicin, glavni antimikrobni sastojak vrsta roda *Allium* reagira sa slobodnim tiolnim grupama u proteinima bakterija (Ankri i Mirelman, 1999; Miron i sur., 2002). Antimikrobna aktivnost alicina je posljedica vezivanja kemijskih grupa alicina sa tiolnom skupinom ARN polimeraze i inhibiranje sinteze DNA, RNA i proteina (Rabinkov i sur., 1998; Ankri i Mirelman, 1999). Cilj ovog istraživanja je bio ispitati koja od tri vrste luka (bijeli, crveni i medvjedi luk) ima najbolju antimikrobnu aktivnost na ukupan broj bakterija i *Salmonella* spp. Kao model za ispitivanje antimikrobne aktivnosti tri vrste roda *Allium*, izabrana je Gram-negativna bakterija *Salmonella* spp, budući da je jedan od najčešćih patogena čovjeka, kao i jedan od najčešćih uzročnik trovanja ljudi hranom (Reed, 1993).

## MATERIJAL I METODE

Za istraživanja koja su provedena u ovom radu kao uzorci korišteni su metanolni ekstrakti biljaka roda *Allium*, slijedećih vrsta: srijemuše - *Allium ursinum* L., bijelog luka - *Allium sativum sativum* L. i crvenog luka - *Allium cepa* L. (Tablica 1). Ekstrakti biljaka su dobiveni iz svježeg biljnog materijala.

**Tablica 1.** Biljke od kojih se pravio ekstrakt

*Table 1. Plants used for extract preparation*

	Ispitivane biljke	Dio biljke koji se ispituje
1.	<i>Allium ursinum</i> L.- srijemuša	lukovica
2.	<i>Allium sativum</i> L. - bijeli luk	lukovica
3.	<i>Allium cepa</i> L. - crveni luk	lukovica

### *Priprava ekstrakata*

Biljni materijali (10 g) su homogenizirani i usitnjeni, te tako pripremljeni ekstrahirani su sa 100 mL 80 % metanola u trajanju od 24 h pri sobnoj temperaturi. Biljni ekstrakti su dobiveni filtriranjem na Buchner-ovom lijevku. Nakon filtriranja ekstrakata urađeno je odvajanje metanola pomoću rotacionog isparivača (Rotavapor R-210/215 BÜCHI, Buchi AG, Flawil, Švicarska) pri 40 °C. Ovako pripremljenom ekstraktu je ispitana antimikrobna aktivnost. Antibakterijska aktivnost dobivenog ekstrakta je ispitana na bakterijsku kulturu *Salmonella* spp. Korištene bakterije *Salmonella* spp. izolirane su iz uzorka redovne kontrole namirnica, koja spada pod monitoringom zdravstvene ispravnosti gotovih proizvoda prije stavljanja na tržište (Veterinarski zavoda USK-a).

### *Mikrobiološka ispitivanja*

Nakon pripreme razrjeđenja uzorka, izvršena je izolacija *Salmonella* spp. prema direktivama BAS EN ISO 6579:2005, BAS EN ISO 6579/cor1:2010). Dodatna identifikacija urađena je zasijavanjem izoliranih bakterija na XLD agar (ksiloza lizin deoksiholatni agar; Torlak, Beograd, Srbija), kao i diferencijalnim bojenjem po Gramu.

25 g uzorka je otopljeno u 225 mL tekuće neselektivne obogaćene podloge BPW (Buferirana peptonska otopina) inkubirane pri 37 °C tijekom 24 h. Nakon toga je u 10 mL tekućeg RVS (Rappaport-Vassiliadis bujon; Torlak, Beograd, Srbija ) dodano 0,1 mL ranije inkubiranog uzorka i inkubirano pri 41,5 °C tijekom 24 h. Promjena boje podloge ukazuje na prisustvo *Salmonelle* ssp. te se vrši zasijavanje na čvrstom XLD (ksiloza lizin deoksiholatni agar; Torlak, Beograd, Srbija, selektivni agar namijenjen za izolaciju i određivanje brojnosti *Salmonella* vrsta) i inkubira pri 37 °C, 24-48 h. Izrasle kolonije su smeđe boje. U 9 mL fiziološke otopine doda se par kolonija i napravi tekuća kultura *Salmonella* spp. koja se zasije na hranljivi agar (podloga namijenjena za kultiviranje širokog spektra mikroorganizama). Nakon

stajanja od 15 minuta i inicijalnog zagrijavanja na kuhalu radi potpunog otapanja, urađeno je razlijevanje podloge i autoklaviranje u trajanju od 20 minuta pri 121 °C. Nakon izoliranja *Salmonella* spp. iz uzorka, dodatna potvrda identifikacije urađena je bojenjem po Gramu, kojom je utvrđeno da izolirani sojevi predstavljaju Gram-negativne štapiće, a kultura istih sojeva na XLD agaru dala je crvenkasto roze kolonije čime je potvrđeno da se radi o sojevima roda *Salmonella*. U metodi bojenja po Gramu upotrebljavaju se 4 reagensa: primarna boja - kristal (gencijana) violet koja boji Gram-pozitivne bakterije u ljubičasto; Lugolova otopina, 96 % etanol i sekundarna boja-šafranin (fuksin) koja boji Gram-negativne bakterije crveno (Mihajilov-Krstev, 2008). Izolirana *Salmonella* spp. zasije se na Salmonella Chromogenic Agar (Torlak, Beograd, Srbija).

Određivanje antimikrobne aktivnosti na ukupan broj mikroorganizama urađeno je na hranljivoj podlozi za ukupan broj bakterija (UBB, Liofilchem, Italija), koja je nakon inicijalnog zagrijavanja na kuhalu razlivena u Petrijeve zdjele i autoklavirana u trajanju od 20 minuta pri 121 °C. U 9 mL fiziološke otopine doda se par kolonija ranije izraslih na podlozi i napravi takuća kultura koja se zasije na podlogu za ukupan broj bakterija.

#### **Disk difuzijska metoda**

Metoda se zasniva na principu difuzije antimikrobnog ekstrakta u čvrstu hranljivu podlogu, pri čemu on djeluje manje ili više inhibitorno na bakterije koje su prethodno zasijane na tu podlogu. Primjenjuju se celulozni diskovi, na koje se nanosi uzorak koji je ekstrahiran iz biljaka. U Petrijevim zdjelama se vrši zasijavanje kultura mikroorganizama. Po 1 mL suspenzije bakterijske kulture nanese se ravnomjerno na podlogu štapićem po Drigalskom. Zatim se postavljaju celulozni diskovi natopljeni sa ekstraktima biljaka (*Allium ursinum* L., *Allium sativum* L. i *Allium cepa* L.). Ovako pripremljeni uzorci idu na inkubaciju (Inkubator Selecta: 2000209, Španjolska). Ekstrakt difundira sa mjesta nanošenja u podlogu u svim pravcima. Do sprječavanja rasta testiranog mikroorganizma dolazi ukoliko je on osjetljiv na djelovanje ispitivanog uzorka. Širina zone inhibicije (promjer inhibicije), razmjerna je stupnju osjetljivosti mikroorganizma na primijenjeni agens, odnosno antimikrobnom učinku ispitivanog ekstrakta. Nakon inkubacije na 37 °C, prvo očitavanje o inhibiciji je obavljeno nakon 24 h, a konačni rezultati su očitani nakon 48 h. Ako nema zone inhibicije, znači da mikroorganizam nije otporan na djelovanje ispitivane tvari (Tablica 2) Eksperiment je neophodno izvoditi u replikatu. Potrebno je koristiti dvije vrste kontrole: pozitivnu i negativnu. Negativna kontrola podrazumijeva da se na disk umjesto uzorka u određenom razrjeđenju nanosi ili voda ili otapalo u kojim je uzorak razrijeđen. Pozitivna kontrola podrazumijeva primjenu antibiotika. Antibiotik (Amoksicilin) je korišten kao kontrola za usporedbu aktivnosti ekstrakata.

**Tablica 2.** Otpornost bakterija prema antibioticima  
**Table 2.** Resistances of bacteria against antibiotics

Zona inhibicije	Oznake osjetljivosti	Tumačenje
do 10 mm	R*	otporna bakterija
10 - 17 mm	I, 2**	umjereno osjetljiva bakterija
> 17 mm	S, 3***	osjetljiva bakterija

\*R – resistant, \*\*I – intermediate, \*\*\*S - sensitive

## REZULTATI I RASPRAVA

U radu je ispitivana antimikrobna aktivnost metanolnog ekstrakta u odnosu na izoliranu bakteriju *Salmonella* spp. i ukupnom broju bakterija, te je disk difuzijskom metodom određena zona inhibicije .

Rezultati dobiveni ispitivanjem utjecaja različitih ekstrakata na rast *Salmonella* spp. i ukupnog broja bakterija prikazani su u slijedećim tabelama.

**Tablica 3.** Rezultati antimikrobne aktivnosti ekstrakata roda *Allium* na UBB  
**Table 3.** Results of antimicrobial activity of extracts *Allium* on Plate Count Agar

	Ispitivane biljke	Zona inhibicije - UBB	Tumačenje
1.	<i>Allium ursinum</i> L.	21,13	osjetljiva bakterija (S)
2.	<i>Allium sativum</i> L.	27,91	osjetljiva bakterija (S)
3.	<i>Allium cepa</i> L.	15,24	umjereno osjetljiva bakterija (I)

**Tablica 4.** Rezultati antimikrobne aktivnosti ekstrakata roda *Allium* na *Salmonella* spp.

**Table 4.** Results of antimicrobial activity of *Allium* extracts against *Salmonella* spp.

	Ispitivane biljke	Zona inhibicije - <i>Samonella</i>	Tumačenje
1.	<i>Allium ursinum</i> L.	14,73	umjereno osjetljiva bakterija (I)
2.	<i>Allium sativum</i> L.	14,11	umjereno osjetljiva bakterija (I)
3.	<i>Allium cepa</i> L.	<10 mm	otporna bakterija (R)

**Tablica 5.** Ukupna antimikrobna aktivnost i aktivnost na *Sallmonela* spp.  
**Table 5.** Total antimicrobial activity and activity against *Sallmonela* spp.

Izvor varijacije	UBB	<i>Sallmonela</i> ssp.	
Minimum	15,24	10	
Maksimum	27,91	14,73	
Srednja vrijednost	21,13	14,11	
Zbir	64,28	38,84	
Aritmetička sredina	21,4266	12,9466	
Standardna devijacija	6,3402	1,4841	
Varijacija	40,198	6,6082	58987,7
Koeficijent varijacije	29,590	19,855	31,5830
ANOVA	<i>Suma kvadrata</i> 107,866	<i>Sr. vrijednost</i> 4	<i>Fisher test</i> 23,4032 <i>pr &gt; F</i> 0,09833*

**Tablica 6.** Kruskal-Wallis test  
**Table 6.** Kruskal-Wallis test

H (posmatrana vrijednost)	3,857
H (kritična vrijednost)	3,857
<i>p</i> -pojedinačno	0,04953
jednosmjerna <i>p</i> -vrijednost	< 0,0001
nivo značajnosti	0,05

Na nivou značajnosti  $p=0,050$  odluka je da se odbaci nulta hipoteza o nedostatku razlika između uzoraka. Drugim riječima, razlika između uzoraka je značajna. Pregledom rezultata eksperimentalnih istraživanja znanstvenika iz regije i šire, koji su istraživali navedenu problematiku, kao i narodnog vjerovanja i korištenja predstavnika roda *Allium* u tradicionalnoj medicini, utvrđeno je da predstavnici roda *Allium* pokazuju određenu antimikrobnu aktivnost. Nakon provođenja istraživanja i analizom prikupljenih podataka navedenih uzoraka u disk difuzijskoj metodi utvrđen je utjecaj biljnog ekstrakta u sprječavanju rasta ukupnog broja bakterija, sa zonom inhibicije od 27,91 mm kod *Allium sativum* L., statistički značajnim manjim utjecajem kod *Allium ursinum* L. sa zonom inhibicije od 21,13 mm te skoro

zanemariiv utjecaj *Allium cepa* L. sa zonom inhibicije od svega 15,24 mm. Istraživanja provedena od Nath i sur. (2010) i Škerget i sur. (2009) sa ekstraktima suhих listova lukovice roda *Allium* pokazale su da oni posjeduju značajne antioksidativne i antimikrobne osobine. Benkeblia i sur. (2005) testirali su antibakterijsku aktivnost eteričnih ulja izoliranih iz različitih vrsta *Allium*, te je dokazano da eterično ulje crnog luka pokazuje slab antimikrobni učinak, između ostalih testiranih bakterija i na *Salmonella enteritidis*, dok vrste *Allium sativum* L. i *Allium ursinum* L. pokazuju značajno višu antimikrobnu aktivnost, što je u skladu i sa našim provedenim istraživanjem.

Bakht i sur. (2013) su disk difuzijskom metodom testirali antimikrobnu (antibakterijsku i antifungalnu) aktivnost 6 različitih ekstrakata (etanolni, etil-acetatni, kloroformni, petrol-eterski, *n*-butanolni i vodeni) pripremljenih od svježih lukovica roda *Allium* na 9 vrsta mikroorganizama, među kojima je i *Salmonella typhi*. Najveću efikasnost na *Salmonella typhi* pokazao je tretman kloroformnim ekstraktom *Allium ursinum* L. (i to pri koncentraciji od 1 i 2 mg/disku), dok je *Allium cepa* L. etil-acetatna subfrakcija pokazala slabu inhibiciju rasta.

Prema podacima dobivenim u ovome radu, svi ekstrakti ispitivanih biljaka pokazali su značajnu aktivnost na *Salmonella* ssp. Zone inhibicije ukazuju na visoku različitost, te se dijametar kretao manje <10 mm u slučaju *Allium cepa* L. na *Salmonella* spp., do 27,91 mm u slučaju *Allium sativum* L. na UBB. Antibiotik (Amoksicilin) je korišten kao kontrola za usporedbu aktivnosti ekstrakata.

## ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata dobivenih u ovom istraživanju možemo zaključiti slijedeće:

- Zaključno, vrsta *Allium* ima dobru antimikrobnu aktivnost pri djelovanju na ukupni broj bakterija gdje se zona inhibicije kretala od 15,24 mm (umjerena osjetljivost) za ekstrakt *Allium cepa* L., porasla na 21,13 mm (osjetljiva) kod *Allium ursinum* L. i 27,91 mm (osjetljiva) kod *Allium sativum* L. Ovaj rezultat daje nam povjerenje da konvencionalni medicinski pristup može se koristiti za liječenje nekoliko bolesti.
- Provedena istraživanja su dokazala da *Allium ursinum* L. i *Allium sativum* L. pokazuju i značajno djelovanje protiv *Sallmonela* ssp. gdje se zona inhibicije kretala od 14,11 do 14,73 mm, te rezultati ukazuju mogućnost korištenja navedenih biljaka za liječenje *Sallmonela* ssp. infekcija.

Stoga, uzimajući u obzir rezultate dobivene iz ovog istraživanja, sve veća ograničenja za primjenu antibakterijskih kemikalija, kao što su nuspojave i otpornost bakterija u biofilmu i medicinsku otpornost, osjeća se potreba za zamjenom tih materijala prirodnim materijalima i biljnim kombinacijama.



## LITERATURA

- Andrews, R.E.J., Parks, L.W., Spence, K.D. (1980): Some effects of Diuglas Fir terpenes on certain microorganisms. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 40(2), 301-340.
- Ankri, S, Mirelman, D. (1999): Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect.* 1, 125-129.
- Bakht, J., Khan, S., Shafi, M. (2013a): Antimicrobial potential of fresh *Allium cepa* L. against Gram positive and Gram negative bacteria and fungi. *Pak. J. Bot.* 45, 1-6.
- Benkeblia, N., Dahmouni, S., Onodera, S., Shiomi, N. (2005): Antimicrobial activity of phenolic compound extracts of various onions (*Allium cepa* L.) cultivars and garlic (*Allium sativum* L.). *Journals Food Tech.* 3, 30-34.
- Bison, P. S., Verma, K. (1994): Hand Book of microbiology. CBS Publications: Delhi.
- Chitme, H. R., Chandra, R., Kaushik, S. (2003): Studies on anti-diarrheal activity of *Calotropis gigantea* R.Br. in experimental animals. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 7, 70-75.
- Cohen, M. L. (1992): Epidemiology of drug resistance: Implications for a post-antimicrobial era. *Sci.* 257, 1050-1055.
- Cole, A. M., Hong, T., Nguyen, T., Zhae, C., Bristol, G., Zack, J. A., Waring, A. J., Yang, O. O. (2002): Retrocyclin: A primate peptide that protects cells from infection by T- and M-tropic stains of HIV-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 1813-1818.
- Heinrich, P., Larry, D.L. (Ed.) (1996): Garlic: The science and therapeutic application of *Allium sativum* L. and related species. 2nd ed. Translated to English by: William W.
- Ivanova, A., Mikhova, B., Najdenski, H., Tsvetkov, I., Kostova, I. (2009): Chemical composition and antimicrobial activity of wild garlic *Allium ursinum* of Bulgarian origin. *Nat. Prod. Com.* 4(8):1059-1062.
- Kiessling, C. R., Cutting, J. H.; Loftis, M., K; Kissling, V. W.; Data, A. R., Sofos, J. N. (2002): Antimicrobial resistance of food retailed *Salmonella* isolates. *J. Food Prot.* 65, 603-608.
- Levy, S. W. (1997): Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread. Chichester, Ciba Foundation Symposium pp. 1-14.
- Mihajilov-Krstev, T. (2008): Praktikum iz Mikrobiologije, Univerzitet u Nišu, Prirodno- matematički fakultet, Odsek za biologiju i ekologiju.

- Miron, T., Feigenbalt, G., Weiner, L., Mirelman, D., Wilchek, M., Rabinikov, A. A. (2002): Spectrophotometric assay for allicin, allin and alliinase (alliinlyase) with a chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfonates. *Anal. Biochim.* 307, 76-83.
- Nath, K. V. S., Rao, K. N. V., Banji, D., Sandhya, S., Sudhakar, K., Saikumar, P. i sur. (2010): A comprehensive review on *Allium cepa*. *J. Adv. Pharm. Techno. Res.* 1, 94-100.
- Rabinkov, A., Miron, T., Konsrantinovski, L., Wilchek, M., Mirelman, D., Weiner, L. (1998): The mode of action of allicin: trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins. *Biochim. Biophys. Acts.* 1379, 233-244.
- Reed, G. H. (1993): Foodborne illness (Part 2): Salmonellosis. *Dairy. Food Environ. San.* 13(12), 706.
- Reuter, H. D., Koch, H. P., Lawson, D. L. (1996): Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. In H. P. Koch and L. D. Lawson (Ed.), *Garlic: The science and therapeutic applications of Allium sativum L. and related species*, 2nd ed. William and Wilkins, Baltimore, Md. pp. 135-212.
- Sapunjieva T., Alexieva, I., Mihaylova, D., Popova, A. (2012): Antimicrobial and antioxidant activity of extracts of *Allium ursinum L.* *J. BioSci. Biotech.* 143-145.
- Škerget, M., Majhenič, L., Bezjak, M., Knez, Ž. (2009): Antioxidant, radical scavenging and antimicrobial activities of red onion (*Allium cepa L.*) skin and edible part extracts. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 23, 435-444.
- Taghizadeh, M., Pesian, M. (2001): *Methods in quality control of medicinal plants.* Nashrejahad Press. 192-200.
- Walsh, C. (2000): Molecular mechanism that confer antibacterial drug resistance. *Nature* 406, 775-781.