



Laški smilj

Uredile

Dunja Bandelj

Zala Jenko Pražnikar

Ana Petelin



Laški smilj

Helichrysum italicum

(Roth) G. Don

Uredile

Dunja Bandelj

Zala Jenko Pražnikar

Ana Petelin



Laški smilj

Helichrysum italicum (Roth) G. Don

Uredile · Dunja Bandelj, Zala Jenko Pražnikar in Ana Petelin

Recenzenta · Andreja Čerenak in Lovro Žiberna

Tehnična ureditev · Tajda Senica

Lektor · Davorin Dukič

Prelom · Primož Orešnik

Izdala in založila · Založba Univerze na Primorskem

Titov trg 4, 6000 Koper · www.hippocampus.si

Glavna urednica · Simona Kustec

Vodja založbe · Alen Ježovnik

Koper · 2025

© 2025 Avtorji

Brezplačna elektronska izdaja

<https://www.hippocampus.si/ISBN/978-961-293-525-2.pdf>

<https://www.hippocampus.si/ISBN/978-961-293-526-9/index.html>

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2>



Izid monografije je finančno podprla

Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost

Republike Slovenije iz sredstev državnega proračuna

iz naslova razpisa za sofinanciranje znanstvenih monografij

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili

v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

COBISS.SI-ID 258839811

ISBN 978-961-293-525-2 (PDF)

ISBN 978-961-293-526-9 (HTML)

Vsebina

Predgovor · 9

Dunja Bandelj in Zala Jenko Pražnikar

Sklop 1 · 13

Opis rastline, genetski označevalci za identifikacijo ter agronomski vidik s tržno vrednostjo

1 Nomenklatura, zgodovinski zapisi ter opis laškega smilja · 15

Alenka Baruca Arbeiter, Matjaž Hladnik,

Petra Gabrovšek in Dunja Bandelj

Botanična nomenklatura · **15**

Zgodovinski pregled zapisov o laškem smilju · **16**

Taksonomska klasifikacija in razširjenost laškega smilja · **19**

Morfološke značilnosti podvrste laškega smilja

H. italicum subsp. *italicum* · **23**

Viri · **27**

2 Genetske in genomske raziskave laškega smilja · 31

Petra Gabrovšek, Alenka Baruca Arbeiter,

Matjaž Hladnik in Dunja Bandelj

Uvod · **31**

Uporabnost mikrosatelitskih označevalcev · **31**

Mikrosateliti laškega smilja in njihova uporabnost v genetskih raziskavah · **33**

Raziskave laškega smilja z uporabo drugih označevalcev DNA · **38**

Zaključek · **42**

Viri · **42**

3 Pridelava laškega smilja · 47

Dunja Bandelj in Matjaž Hladnik

Agroekološke zahteve laškega smilja · **47**

Razmnoževanje in priprava sadilnega materiala · **55**

Načini razmnoževanja laškega smilja · **58**

Priprava in oskrba nasada laškega smilja · **61**

Varstvo laškega smilja · **65**

Viri · **71**

4 Tržni potencial laškega smilja · 77

Alenka Baruca Arbeiter in Dunja Bandelj

Viri · **80**

5 Laški smilj v prehrani · 83

Nina Mohorko

Uvod · **83**

Dinamika spreminjanja znanja o divjih rastlinah in njihovi uporabi v kulinariki · **84**

Uporaba laškega smilja v kulinariki · **85**

Prehranska vrednost laškega smilja · **86**

Vpliv načina priprave hrane na prisotnost bioaktivnih snovi v njej · **89**

Grenka hrana kot zdravilo · **89**

Zaključek · **91**

Viri · **91**

Sklop 2 · 97

Tehnološki postopki in bioaktivne spojine laškega smilja

6 Spravilo in predelava laškega smilja · 99

*Dunja Bandelj, Alenka Baruca Arbeiter, Matjaž Hladnik
in Katja Kramberger*

Žetev laškega smilja in pridelki · **99**

Pridobivanje eteričnega olja in hidrolata · **104**

Shranjevanje eteričnega olja in hidrolata · **106**

Viri · **107**

7 Tehnološki postopki pridobivanja pripravkov iz laškega smilja · 111

Katja Kramberger

Uvod · **111**

Ekstrakcija · **111**

Faktorji, ki vplivajo na učinkovitost ekstrakcije · **112**

Ekstrakcijske metode · **114**

Separacijske metode · **118**

Identifikacija bioaktivnih spojin · **122**

Viri · **124**

8 Bioaktivne spojine vodnih in organskih izvlečkov laškega smilja · 127

Katja Kramberger

Uvod · **127**

Kemijska klasifikacija fenolnih spojin · **129**

Fenolne in druge spojine v izvlečkih laškega smilja · **131**

Viri · **136**

9 Bioaktivne spojine hidrolata in eteričnega olja laškega smilja · 141

Dunja Bandelj, Katja Kramberger, Matjaž Hladnik

Bioaktivne spojine v eteričnem olju laškega smilja · **141**

Dejavniki, ki vplivajo na biokemijsko sestavo
in kakovost eteričnega olja · **150**

Bioaktivne spojine v hidrolatu laškega smilja · **154**

Viri · **156**

Sklop 3 · 161

Biološki učinki laškega smilja

**10 Biološka dostopnost in uporabnost zaužitih fenolnih spojin
v laškem smilju · 163**

Zala Jenko Pražnikar in Ana Petelin

Uvod · **163**

Interakcije med fenolnimi spojinami in molekulami v lumnu črevesnega
trakta · **164**

Interakcije med fenolnimi spojinami, prebavnimi encimi črevesnega
trakta in prenašalnimi molekulami · **166**

Mehanizmi transporta fenolnih spojin v ali iz enterocitov · **167**

Presnova fenolnih spojin · **169**

Porazdelitev in izločanje fenolnih spojin · **170**

Farmakokinetika fenolnih spojin, zaznanih v vodnih izvlečkih
laškega smilja · **170**

Zaključek · **172**

Viri · **173**

11 Antioksidativno in protivnetno delovanje laškega smilja · 181

Saša Kenig in Zala Jenko Pražnikar

Uvod · **181**

Določanje antioksidativnega potenciala · **182**

Antioksidativno delovanje laškega smilja – dokazi raziskav *in vitro* · **183**

Antioksidativno delovanje laškega smilja – dokazi raziskav na celičnih
in živalskih modelih · **184**

Antioksidativno delovanje – klinične raziskave · **186**

Protivnetno delovanje · **186**

Določanje protivnetnih in protivnetnih biooznačevalcev · **188**

Protivnetno delovanje laškega smilja – dokazi raziskav *in vitro* · **189**

Protivnetno delovanje laškega smilja – dokazi raziskav *in vivo* · **191**

Protivnetno delovanje laškega smilja – klinične raziskave · **191**

Zaključek · **192**

Viri · **193**

12 Interakcije laškega smilja z mikroorganizmi · 199

Katja Kranjc in Karin Šik Novak

Uvod · **199**

Protimikrobni učinek pripravkov iz laškega smilja · **200**

Učinki čaja iz smilja na črevesno mikrobno združbo · **202**

Učinki na raznolikost črevesne mikrobne združbe · **206**

Učinki na črevesno mikrobno združbo na ravni debel · **206**

Učinki na črevesno mikrobno združbo na ravni rodov · **207**

Zaključek · **208**

Viri · **209**

13 Učinki laškega smilja na presnovo · 215

Zala Jenko Pražnikar in Ana Petelin

Uvod · **215**

Učinki laškega smilja na presnovo v mirovanju · **216**

Učinki laškega smilja na antropometrične parametre in na krvni tlak · **217**

Učinki laškega smilja na presnovo glukoze oz. na glukostazo · **219**

Učinki laškega smilja na lipidni profil · **220**

Hepatoprotektivni učinki laškega smilja · **221**

Zaključek · **222**

Viri · **222**

14 Uporaba laškega smilja v dermatologiji · 227

Saša Kenig

Celjenje rane · **228**

Raziskave *in vitro* · **229**

Raziskave *in vivo* · **230**

Drugi ugodni učinki na kožo · **231**

Viri · **235**

Recenziji · 239

Predgovor

Dunja Bandelj

*Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije,
Univerza na Primorskem*

Zala Jenko Pražnikar

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Dunja Bandelj in Zala Jenko Pražnikar
<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.0>

Laški smilj (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don), nativna rastlina Sredozemlja, je bogat vir številnih fitokemijskih spojin z različnimi biološkimi lastnostmi. Pripisujejo mu protimikrobno, protivnetno, antioksidativno, protivirusno, protitumorsko, protilarvicidno in repelentno aktivnost. Tradicionalno se je uporabljal za zdravljenje respiratornih, prebavnih in kožnih vnetnih obolenj. Druge terapevtske aplikacije vključujejo uporabo pri celjenju ran kot protimikrobno sredstvo, za zdravljenje motenj delovanja žolča in mehurja ter kot analgetično sredstvo. Dragocene biološke lastnosti rastlinskih izvlečkov in odlična adaptacija rastline na ekstremno sušo ter ostre okoljske pogoje prispevajo k povečanemu zanimanju za gojenje rastline v kmetijstvu, kar prispeva k varovanju naravnih populacij ter omogoča stabilno pridelavo in s tem povečuje možnosti za njeno vključitev v kozmetične ter prehranske izdelke z dodano vrednostjo. Gojenje smilja postaja gospodarsko zelo pomembna panoga.

Ideja, da na Univerzi na Primorskem (UP) začnemo z raziskovanjem laškega smilja, se je rodila spontano med pogovorom raziskovalk UP Dunje Bandelj in Zale Jenko Pražnikar med preživljanjem počitnic z družinama na Korziki, ki predstavlja pravo bogato zakladnico raznolikosti te dragocene zdravilne rastline. Okrog leta 2015 smo snovali nove raziskovalne zgodbe naše skupne programske skupine Varstvena biologija od molekul do ekosistema, s katero smo želeli povezati raziskave Fakultete za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije in Fakultete za vede o zdravju. Entuziazem, navdušenost nad rastlino in raziskovalna radovednost so botrovale snovanju raziskav, za katere je bilo že na začetku jasno, da morajo biti aplikativno naravnane, da bomo na koncu znali pojasniti, kakšen učinek ima uporaba laškega smilja na zdravje človeka. Po začetnem pregledu dokumentiranih strokovnih in znanstvenih objav je bilo razvidno, da o genetiki – na ravni molekule DNA – te rastline

ni razpoložljivih informacij, da je večina raziskav osredotočena le na kemijske analize eteričnega olja in da je objavljenih le nekaj raziskav *in vitro* ter raziskav na živalskih modelih o učinkovanju laškega smilja na vnetne procese in/ali oksidativni stres. Po pregledu naravnih rastišč laškega smilja, ki so bila evidentirana sredi 20. stoletja v Sloveniji, pa smo ugotovili, da smo to vrsto v Sloveniji izgubili, najverjetneje zaradi zaraščanja in spremenjene rabe zemljišč. Tako je bilo že na samem začetku pomembno, da se raziskave zastavi celostno in preuči genetske, biološke, biokemijske ter fiziološke lastnosti rastline, značilnosti pridelave in predelave, pridobivanje rastlinskih izvlečkov s kemijsko karakterizacijo in z uporabo rastlinskih izvlečkov za zdravstvene namene, da bi lahko znanstveno podprli tradicionalno rabo laškega smilja in raziskali morebitne nove mehanizme delovanja. Raziskovalno delo je tako plod tesnega sodelovanja raziskovalcev različnih strokovnih profilov; agronomov, genetikov, kemikov, biokemikov, mikrobiologov, dietetikov in farmacevtov, zaposlenih na Fakulteti za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije in Fakulteti za vede o zdravju UP. Povezali smo se tudi z lokalnimi pridelovalci, pri čemer je treba posebej poudariti sodelovanje z največjo pridelovalko mag. Jano Bergant, ki nam nesebično predaja dragocene izkušnje. Na UP se tako lahko pohvalimo, da smo kot prva raziskovalno-izobraževalna institucija v Sloveniji začeli s sistematičnim in celostnim raziskovanjem laškega smilja.

Na začetku raziskovalne poti laškega smilja smo z inventarizacijo domačih vrtov na Obali pridobili rastlinski material, ki smo ga razmnožili in vzpostavili začasni kolekcijski nasad na Purissimi (Spodnje Škofije), ki je bil namenjen vzdrževanju matičnih rastlin za razmnoževanje. V letu 2020 smo v skladu s standardi in protokoli za vzdrževanje genske banke na polju vzpostavili večji nasad v Ospu, kjer hranimo prek 150 različnih genotipov, ki so v fazi preizkušanja in selekcije z namenom, da identificiramo najprimernejše za gojenje v slovenskih pridelovalnih okoliščinah. Kolekcija UP predstavlja največjo zbirko raznolikih genotipov smilja v severnem Jadranu oz. v Sloveniji. Poleg tega nam kolekcijski nasad služi kot vir rastlinskega materiala za kemijsko karakterizacijo in vrednotenje bioloških učinkov laškega smilja *in vitro* ter *in vivo*. V programski skupini na UP smo pridobili tudi prve sekvence genoma *H. italicum* subsp. *italicum*, iz katerih smo razvili visoko informativne označevalce DNA, ki so uporabno orodje za genetsko profiliranje laškega smilja in njegovih sorodnih vrst. To delo je izredno pomembno in omogoča zanesljivo identifikacijo in geografsko sledljivost vrst ter podvrst rodu *Helichrysum*.

Od leta 2017 naprej smo raziskovalci Fakultete za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije ter Fakultete za vede o zdravju izvedli številne raziskave, ki so podrobneje opisane v pričujoči znanstveni monografiji. Rezultati raziskovalnega dela so nastajali v okviru dveh raziskovalnih programov, in sicer v okviru stabilno financiranega raziskovalnega programa ARIS Varstvena biologija od molekul do ekosistema (P1-0386) in internega raziskovalnega programa UP Funkcionalna hrana, dveh bilateralnih projektov, Slovenija–Francija: Genetska in kemijska raznolikost slovenskega in korziškega smilja SloCorim (BI-FR/23-24-PROTEUS-003) in Slovenija–Srbija: Trajnostna hrana za zdravo prihodnost (BI-RS/23-25-039), podoktorskega projekta Potencial jadranskega smilja (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don): celovito profiliranje genoma in transkriptoma za odkrivanje genov v biosintezi rastlinskih naravnih produktov (Z4-1875), aplikativnega projekta Proizvodnja, izolacija in formulacija zdravju koristnih substanc iz *Helichrysum italicum* za uporabo v kozmetični industriji (L2-4430), ciljno-raziskovalnega projekta Možnosti razvoja zeliščarstva v Sloveniji (V4-2207), projekta LAS Vzpostavitev razvojnega in učnega centra Slovenske Istre – VRT PURISSIMA ter študentskega projekta Karakterizacija smilja in proučevanje učinkov produktov smilja na oksidativni stres in vnetje.

Izpostaviti velja tudi številne diplomske, magistrske in doktorske naloge, dela, ki so nastala na podlagi naših raziskav o laškem smilju. Poleg omenjenega smo v zadnjih petih letih objavili več kot deset znanstvenih člankov na temo laškega smilja in znanstveni skupnosti prispevali številna nova spoznanja o njem. Da bi rastlino spoznala širša publika, smo se odločili za predstavitev pionirskega dela na njej z izdajo znanstvene monografije, ki vsebuje celosten pregled podatkov o rastlini in najnovejša znanstvena dognanja. Hkrati bo delo predstavljalo dragoceno gradivo za študente Fakultete za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije (programov Agronomija in Varstvena biologija na 1. stopnji ter Varstvo narave na 2. stopnji), Fakultete za vede o zdravju (programa Prehransko svetovanje – dietetika na 1. stopnji ter Dietetika in klinična prehrana na 2. stopnji) ter za številne druge študente preostalih slovenskih univerz in nasploh za vse, ki se ukvarjajo s preučevanjem ali pa z gojenjem laškega smilja.

Sklop 1

Opis rastline, genetski označevalci za identifikacijo ter agronomski vidik s tržno vrednostjo

1 Nomenklatura, zgodovinski zapisi ter opis laškega smilja · 15

*Alenka Baruca Arbeiter, Matjaž Hladnik,
Petra Gabrovšek in Dunja Bandelj*

2 Genetske in genomske raziskave laškega smilja · 31

*Petra Gabrovšek, Alenka Baruca Arbeiter,
Matjaž Hladnik in Dunja Bandelj*

3 Pridelava laškega smilja · 47

Dunja Bandelj in Matjaž Hladnik

4 Tržni potencial laškega smilja · 77

Alenka Baruca Arbeiter in Dunja Bandelj

5 Laški smilj v prehrani · 83

Nina Mohorko

1

Nomenklatura, zgodovinski zapisi ter opis laškega smilja

Alenka Baruca Arbeiter

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Petra Gabrovšek

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Matjaž Hladnik

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Dunja Bandelj

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem



© 2025 Alenka Baruca Arbeiter, Matjaž Hladnik, Petra Gabrovšek in Dunja Bandelj
<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.1>

Botanična nomenklatura

Slovensko ime: laški smilj (Martinčič idr. 2007)

Sinonimi: suhocvetnica, nesmrtnica (angl. *everlasting*, it. *perpetuino* in *semprevivo*, fr. *immortelle*), »kari rastlina« (angl. *curry plant*) (Appendino idr. 2015)

Slovenska ljudska poimenovanja: božja strešca, božja strešica, laška kamilica, madronšica, molčevje, molec, molova roža, neven, smilje, zmin (Petauer 1993)

Latinsko ime: *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, Hort. Brit. (Loudon) 342 (1830)

Sinonimi: *Gnaphalium italicum* Roth, Bot. Mag. (Romer in Usteri) 4 (10): 19 (1790)

H. italicum (Roth) Guss., Fl. Sicul. Syn. 2:469 (1844), *comb. superfl.* *Helichrysum angustifolium* subsp. *italicum* (Roth) Briq. in Cavill. (Burnat) Fl. Alpes Marit. 6 (2): 265 (1917) (Herrando-Moraira idr. 2016)

Zgodovinski pregled zapisov o laškem smilju

Laški smilj (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don) (v nadaljevanju *H. italicum*) je ena najznamenitejših in ikoničnih rastlin Sredozemlja (Appendino idr. 2015), ki so ji že v antičnih evropskih knjigah o zeliščih posvečeni posamezni deli. Najstarejši zapisi o uporabi rastlinskih vrst iz rodu *Helichrysum* v zdravilne namene so iz obdobja med 3. in 2. stoletjem pred našim štetjem. Teofrast (okoli 371–287 pr. n. št.), starogrški filozof in temeljitelj botanike, je v knjigi Opis rastlin (*Historia Plantarum*), ki velja za eno najpomembnejših knjig naravoslovja iz časa antike, zapisal, da se vrste »Heleiochrysos« lahko uporablja pri zdravljenju opeklin in pri pikih ali ugrizih strupenih živali. Zapisal je tudi recept za *Helichrysum* z medom za zdravljenje opeklin in ran (Scarborough 1978). Leta 77 je grški zdravnik Dioskorid (1. stol. n. št.) objavil ilustrirano knjigo o zeliščih *De Materia Medica*, v kateri je zbral okoli 600 rastlin Sredozemlja, in za *Helichrysum* navedel, da ima poparek cvetov, maceriranih v vinu, diuretične lastnosti in je primeren za zdravljenje motenj uriniranja. Pisal je tudi o njegovi uporabnosti pri kačjih ugrizih ter zdravljenju išiasa in hernije (Quer 1993). Kot navajata Ana Ličina in Vesna Ročak Kralj (2016), je Campanini leta 2009 v svojem delu zapisal, da je rimski pisec in učenjak Plinij Starejši, med drugim izjemen poznavalec antične botanike in farmacije, v svojem delu Naravoslovje (*Naturalis historia*), ki zajema večino takratnega naravoslovnega znanja, svetoval uporabo vrst *Helichrysum* pri bolečinah v hrbtu in kolkih (Ličina in Ročak Kralj 2016). Zapisal je tudi, da je rastlina zaradi svojevrstnega vonja primerna za zaščito oblačil pred molji. Appendino idr. (2015) pa navajajo, da je tudi Plinij Starejši v svojem znamenitem delu Naravoslovje (*Naturalis Historia*) iz leta 21 n. št. zapisal, da se je *Helichrysum* uporabljalo predvsem kot lokalni antiseptik, za preprečevanje nastanka brazgotin, zdravljenje sklepov in zaščito jeter ter zdravljenje okužb dihalnih poti.

Sledijo zapisi iz obdobja renesanse, ki velja za zibelko sodobne medicine in znanosti (Pušnik 1991). Škotski botanik Robert Morison (1715), pionir sodobne sistematske botanike, ki je začel klasificirati rastline na podlagi morfoloških značilnosti, je v knjigi *Plantarum historiae universalis Oxoniensis seu herbarum distributio nova, per tabulas cognationis et affinitatis ex libro Naturae observata et detecata* vrsto poimenoval *Helichrysum chrysocome angustifolia vulgaris*. Nizozemski botanik Hermann Boerhaave je v knjigi *Historia plantarum quae in Horto Academico Lugduni-Batavorum crescunt: cum earum characteribus, & medicinalibus virtutibus* (Boerhaave 1727) pisal o zdravilnih lastnostih vrst iz rodu

Helichrysum in o njihovi uporabi pri zdravljenju živčne napetosti ter histerije (Scott in Hewett 2008). Ker se je v času renesanse za zdravljenje uporabljalo predvsem zdravila na bazi rastlin, so bile prve medicinske tiskane knjige knjige o zeliščih (Pušnik 1991). V njih so se pogosto sklicevali na starogrške in rimske avtorje ter uporabljali podobne recepture. Iz tega obdobja je tudi priznani italijanski zdravnik in botanik Castore Durante (1529–1590), ki je v svojem obsežnem delu *Novo zeliščarstvo* (*Herbario Nuovo*) opisal več kot 900 rastlin in njihovo uporabo za zdravljenje različnih bolezni, med drugim tudi *Helichrysum*. Zanj je zapisal recepturo za pripravo zdravilnega vina s socvetji za zdravljenje jetrnih obolenj ter priporočil pripravo poparka rastline za lajšanje težav s katarjem. Vsem zapisom je skupno, da avtorji načeloma niso navajali točnega imena vrste, ki so ji pripisovali zdravilne lastnosti, temveč le ime rodu *Helichrysum* sp. (Appendino idr. 2015).

Helichrysum se je uporabljalo tudi pri duhovnih obredih in ritualih. Najverjetneje gre za dolgo tradicijo, saj ga je že Teofrast uvrstil med rastline, ki spreminjajo um, zato so ga uporabljali pri obrednem zadimljanju. Stari Rimljani so z njim krasili grobnice, ker cvetovi nikoli ne ovenijo in tako simbolizirajo večnost ter spomin (Appendino idr. 2015). Na hrvaških otokih so s posušenim laškim smiljem polnili vzglavnike, da bi imeli v mrzlih in vetrovnih zimah globlji spanec. Prav tako je bil med najpogostejše uporabljenimi rastlinami v venčkih, suhih šopkih ter aranžmajih pri različnih



Slika 1 Aranžmaji laškega smilja v hiši umetnika Salvadora Dalíja v Španiji (mesto Figueres v Kataloniji) (foto: D. Petrič)

Preglednica 1 Pregled etnofarmakoloških študij, vključujoč laški smilj, v različnih predelih Evrope (prirejeno po Antunes Viegas idr. 2014)

Območje	Indikacija	Del rastline in priprava
Granada, Španija	Zobobol	Poparek cvetov (za spiranje ust)
Castellón, Španija	Prebavne motnje	Poparek cvetov
Sardinija, Italija	Alergije	Poparek celotne rastline
Cordoba, Španija	Čiščenje želodca	Prevretek
Toskana, Italija	Prehlad, kašelj, traheitis in laringitis	Poparek in hlapi listov ter cvetnih vršičkov
Lucca, Italija	Prehlad	Poparek in hlapi nadzemnih delov
Sardinija, Italija	Alopecija	Prevretek celotne rastline
Jaén, Španija	Prebavne motnje in katar	-
Alicante, Španija	Zobobol, okužbe v ustih	Poparek cvetov (za spiranje ust)
Katalonija, Španija	Prebavne motnje	Poparek cvetov
Bosna in Hercegovina	Težave z jetri in žolčem, kašelj	Poparek cvetov
Kalabrija, Italija	Bronhitis in faringitis	Poparek ali uprašena cvetoča zel z medom
Algarvio, Portugalska	Dermatološke težave	Eterično olje nadzemnih delov
Kampanija, Italija	Kašelj	Poparek ali prevretek cvetov
La Coruña, Španija	Vnetje kože	Poparek cvetov (za zunanjo uporabo)
Valencija, Španija	Okužbe črevesja s paraziti	-
Murcia, Španija	Celjenje ran	Prah cvetov, stebel in listov
Ligurijska, Italija	Nespečnost, glavobol, kihanje in kašelj	Poparek cvetov
	Vnetje dihal in kašelj	Prevretek cvetov in listov
	Bolečine v želodcu	Sok mladih listov in vršičkov
	Okužbe s helminti	Prevretek cvetov
Zahodna Grenada, Španija	Prebavne motnje, bolečine v želodcu	Poparek cvetov
	Kašelj, bolezn. ust, jetrne bolezni, herpes	Poparek cvetoče zeli
Portugalska	Dermatomikoza	Eterično olje nadzemnih delov
Kampanija, Italija	Astma	Prevretek cvetoče zeli

verskih praznikov in še danes starejši prebivalci na hrvaških otokih z njim krasijo svetišča ter cerkve (Ličina in Ročak Kralj 2016; Łuczaj idr. 2024). Posušeno cvetje laškega smilja se uporablja tudi za okraševanje domov (slika 1).

Na prehodu iz 20. v 21. stoletje je bilo opravljenih precej etnofarmakoloških raziskav laškega smilja (*H. italicum*). Največ podatkov o njegovi tradicionalni rabi izhaja iz italijanskih pokrajin in z otoka Sardinije, ki ležijo ob Tirenskem morju, ter iz Španije pa tudi iz Portugalske ter Bosne in Hercegovine. Tradicionalno se je laški smilj uporabljalo za zdravljenje respiratornih, prebavnih težav ter kožnih vnetnih obolenj, kot protimikrobno sredstvo in za celjenje ran, za zdravljenje motenj delovanja žolča in mehurja ter kot analgetično sredstvo. Za zdravilne pripravke se je uporabljalo le socvetja ali vse zelnate dele rastline (listi, steblo, socvetje). Med načini priprave, s katerimi so iz rastline ekstrahirali zdravilne učinkovine, so prevladovali poparki in prevretki (Antunes Viegas idr. 2014; Appendino idr. 2015). Pregled etnofarmakoloških zapisov o laškem smilju je zbran v preglednici 1. Za očeta sodobnih znanstvenih raziskav laškega smilj velja Leonardo Santini (1904–1983), ki je med letoma 1940 in 1950 izvedel klinične raziskave pri bolnikih z bronhitisom in astmo. Svoje ugotovitve je objavil v manj uglednih revijah, zato so bile po njegovi smrti dolgo časa prezrte. Poglobljene raziskave laškega smilja in znanstvene objave se začno številčneje pojavljati šele po 90. letih prejšnjega stoletja (Appendino idr. 2015).

Taksonomska klasifikacija in razširjenost laškega smilja

Laški smilj (*H. italicum* (Roth) G. Don) spada v družino Asteraceae (nebinovke), poddružino Asteroideae, pleme Gnaphalieae in rod *Helichrysum* Mill. (smilj) (preglednica 2). Rod vključuje približno 600 vrst, ki so razširjene v Afriki, na Madagaskarju, v Makroneziji, srednji Aziji, Indiji in na območju sredozemskega bazena (Anderberg 1991), kjer uspeva okoli

Preglednica 2 Taksonomska klasifikacija vrste *H. italicum* (Roth) G. Don (laški smilj) (Martinčič idr. 2007)

Vrsta	<i>H. italicum</i> (Roth) G. Don (laški smilj)
Rod	<i>Helichrysum</i> Mill. (smilj)
Pleme	Gnaphalieae
Poddružina	Asteroideae
Družina	Asteraceae (nebinovke)
Red	Asterales (košarnice)
Podrazred	Asteridae
Razred	Magnoliopsida (dvokaličnice)
Poddeblo	Magnoliophytina (kritosemenke)
Deblo	Spermatophyta (semenke)
Kraljestvo	Plantae

25 avtohtonih vrst rodu *Helichrysum* (Morone-Fortunato idr. 2010). Ime rodu izvira iz grških besed *helios* (sonce) in *chrysos* (zlato), kar je povezano z značilno zlatorumeno barvo cvetov smilja (Perrini idr. 2009).

V publikaciji *Flora Europea* (Tutin idr. 1976) so sredozemske, evropske, zahodnoazijske in srednjeazijske vrste rodu *Helichrysum* razvrščene v tri sekcije: (1) *Helichrysum* sect. *Helichrysum*, (2) *Helichrysum* sect. *Virginea* (DC) Fiori in (3) *Helichrysum* sect. *Xerochlaena* (DC.) Benth. Nato so Mercè Galbany-Casals idr. (2006) predlagali dodatno delitev sekcije *Helichrysum* v sekciji *Helichrysum* sect. *Helichrysum* in *Helichrysum* sect. *Stoechadina*. V sekciji *Stoechadina* (DC.) Gren. & Godr. sodi osem sredozemskih vrst, med drugim tudi kompleks *H. italicum*, ki vključuje več podvrst. Po trenutni taksonomski klasifikaciji, ki temelji na obsežni multivariatni analizi morfoloških značilnosti, genetski strukturi ter geografski razširjenosti, se ta kompleks deli v štiri podvrste (Herrando-Moraira idr. 2016):

1. *H. italicum* subsp. *italicum* – najbolj zastopana podvrsta v Sredozemlju in je razširjena v Italiji in na Hrvaškem, na vzhodni sredozemski obali Francije in Korzike, v Bosni in Hercegovini ter delih Grčije (Egejski otoki in Ciper).
2. *H. italicum* subsp. *microphyllum* – podvrsta je endemična na Kreti.
3. *H. italicum* subsp. *siculum* – podvrsta je endemična na Siciliji.
4. *H. italicum* subsp. *tyrrhenicum* – podvrsta je razširjena na jugu Korzike, na Sardiniji, na obali Majorke in na otoku Dragonera.

Za določanje podvrst laškega smilja so potrebni podatki o višini rastline, o listih na generativnih in vegetativnih poganjkih (dolžina, valovitost listnega roba, obarvanost, prisotnost nežlezni in žlezni trihomov na zgornji ter spodnji listni povrhnjici) ter pakobulastem socvetju (širina, število koškov) (preglednica 3).

Za podvrste kompleksa *H. italicum* je značilna izjemna raznolikost fenotipov (fenotip = morfološke in biokemijske lastnosti), ki nastane zaradi interakcije genotipa (genotip = zapis v molekuli DNA) in okolja. Poleg tega je med vrstami in podvrstami možno spontano križanje, zato genetske in morfološke razlike med njimi niso vedno povsem jasne. Razlikovanje podvrst je zato še posebej zahtevno na območjih, kjer dve podvrsti ali vrsti uspevata v neposredni bližini. Tak primer je na južnem delu Korzike, kjer sobivata podvrsti *italicum* in *tyrrhenicum*, v vzhodnem delu Sredozemlja, kjer se podvrsta *italicum* po morfoloških značilnostih približuje podvrsti *microphyllum* (Galbany-Casals idr. 2006; Galbany-Casals idr. 2011; Galbany-Casals idr. 2012; Baruca Arbeiter idr. 2021), ter v Toskani

Preglednica 3 Ključ za določanje podvrst *H. italicum* – laškega smilja

1. Bazalni in pravi listi so izrazito dvobarvni, na zgornji listni povrhnjici skoraj goli – redki nežlezni trihomi – in na spodnji listni povrhnjici gosto porasli z nežleznimi trihomi.	Bazalni in pravi listi so enobarvni ali skoraj enobarvni, na zgornji listni povrhnjici pajčevinasto do gosto porasli z nežleznimi trihomi, na spodnji listni povrhnjici pa gosto porasli z nežleznimi trihomi.	2	4
2. Rastlina visoka do 70 cm, z nekaj zalistnimi listnimi snopi – izjemoma brez njih. Bazalni in pravi listi na cvetnih in vegetativnih poganjkih so dolgi (8) 12–37 mm. Pakobulasto socvetje širine 10–35 (62) x (15) 18–55 (80) mm, z (8) 15–94 (120) koški.	Rastlina visoka do 40 cm, s številnimi zalistnimi listnimi snopi. Bazalni in pravi listi na cvetnih in vegetativnih poganjkih so dolgi 3–18,5 (21) mm. Pakobulasto socvetje širine 6–23 (35) x 8,5–27 (37) mm, s 3–36 (42) koški.		
<i>H. italicum</i> subsp. <i>italicum</i>			3
3. Bazalni in pravi listi na cvetnih in vegetativnih poganjkih so dolgi (7) 10–18,5 (21) mm, z nevalovitim listnim robom.	Bazalni in pravi listi na cvetnih ter vegetativnih poganjkih so dolgi 3–10 (14,3) mm, z običajno valovitim listnim robom.		
<i>H. italicum</i> subsp. <i>siculum</i>		<i>H. italicum</i> subsp. <i>microphyllum</i>	
4. Rastlina visoka do 40 cm, s številnimi zalistnimi listnimi snopi. Bazalni in pravi listi na cvetnih in vegetativnih poganjkih so dolgi 3,7–20 (29) mm. Pakolubasto socvetje širine (9,3) 14–37 (51,5) mm, s 5–37 (64) koški.	Rastlina visoka do 70 cm, z nekaj zalistnimi listnimi snopi, izjemoma brez njih. Bazalni in pravi listi na cvetnih ter vegetativnih poganjkih so dolgi 8 (12)–37 mm. Pakolubasto socvetje širine (15) 18–55 (80) mm, z 8 (15)–94 (120) koški.		
<i>H. italicum</i> subsp. <i>tyrrhenicum</i>		<i>H. italicum</i> subsp. <i>italicum</i>	

Opomba Določevalni ključ je povzet po Sonii Herrando-Moraira idr. (2016).

(Italija), kjer so bili odkriti potencialni hibridi vrst *H. italicum* in *H. litoreum* (Marini idr. 2023). K pretoku genov znotraj posamezne podvrste in med podvrstami pomembno prispeva tudi način opraveševanja, saj je *H. italicum* žužkocvetna ali entomofilna in vetrocvetna ali anemofilna vrsta (Galbany-Casals idr. 2011). Z žuželkami se pelodna zrna običajno prenašajo na krajše razdalje, medtem ko veter zlahka prenaša pelod na bistveno daljše razdalje. Poleg različnih načinov prenašanja peloda imajo pomembno vlogo tudi zračni tokovi, ki raznašajo lahka semena na daljše razdalje in prispevajo k razširjenosti vrste ter posledično k izjemni genetski in morfološki raznolikosti (Hladnik idr. 2024).

V Sredozemlju je najbolj razširjena podvrsta *H. italicum* subsp. *italicum*, značilna za Francijo (še posebej Korziko), Italijo, Španijo, Hrvaško, Bosno in Hercegovino, Srbijo, Črno goro, Grčijo, Ciper, Egejske otoke ter za

posamezna območja Alžirije, Maroka in Tunizije (Pohajda idr. 2015; Her-rando-Moraira idr. 2016). Uspevanje laškega smilja na naravnih rastiščih v Sloveniji je s primerki v herbarijski zbirki Univerze v Ljubljani (Herbarij LJU, Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta) dokumentirano do 60. let 20. stoletja (slika 2):

- A: v kraju Harije (pri Ilirski Bistrici) (V. Plemel, 1844, LJU10028514),
- B: ob vznožju Slavnika pri Podgorju (R. Justin, 1903, LJU10028516),
- C: na travnikih Kojnika nad Podgorjem (R. Justin, 1904, LJU10028517),



Slika 2

Primerki laškega smilja v herbarijski zbirki Univerze v Ljubljani, nabrani na sedmih naravnih rastiščih v Sloveniji: okolica Ilirske Bistrice (A, D), Slavnik (B, F), Kojnik (C), dolina reke Dragonje (E), okolica Sočerge (G) (foto: M. Bačič, 2017)

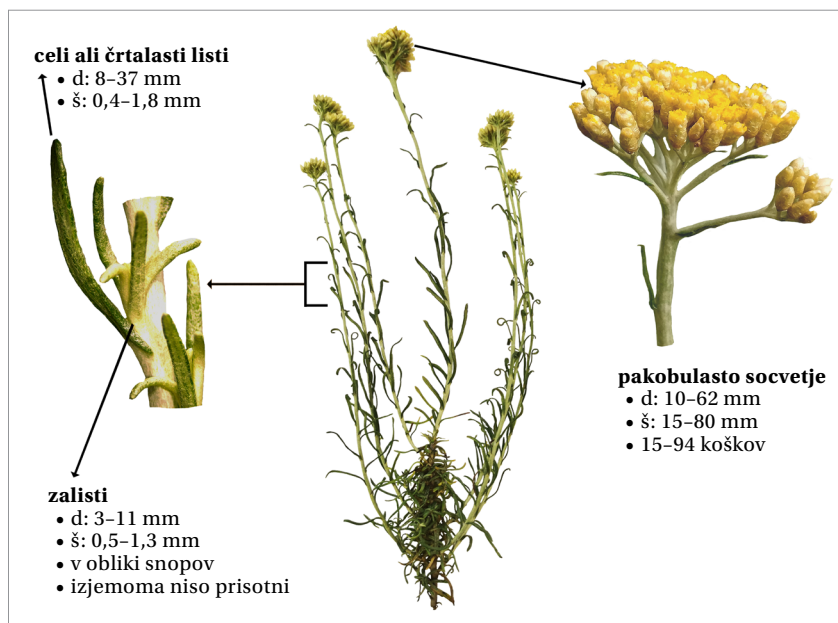
- D: na pustih pašnikih med vasema Brce in Tominje (pri Ilirski Bistrici) (R. Justin, 1905, LJU10028518),
- E: v dolini reke Dragonje (V. Šupin-Šiškovič, 1956, LJU10028522),
- F: na Slavniku (T. Wraber, 1957, LJU10028520),
- G: nad vasico Karli pri Sočergi (T. Wraber, 1959, LJU10028521).

Laški smilj na naravnih rastiščih v Sloveniji trenutno ne raste. Najverjetneje je zaradi zaraščanja izgubil življenjski prostor, saj v naravi uspeva na odprtih, suhih, kamnitih in prisojnih območjih (Galbany-Casals idr. 2011; Bandelj idr. 2020).

Pravilna identifikacija in taksonomska klasifikacija nista pomembni le z botaničnega vidika, temveč tudi zaradi načrtnega gojenja laškega smilja podvrste *H. italicum* subsp. *italicum*. Podvrsta je genetsko zelo raznolika, kar vpliva na kemijsko sestavo eteričnega olja in drugih rastlinskih izvlečkov. Raznolikost v kemijski sestavi pa določa terapevtske lastnosti in usmerja uporabo laškega smilja v različne namene.

Morfološke značilnosti podvrste laškega smilja *H. italicum* subsp. *italicum*

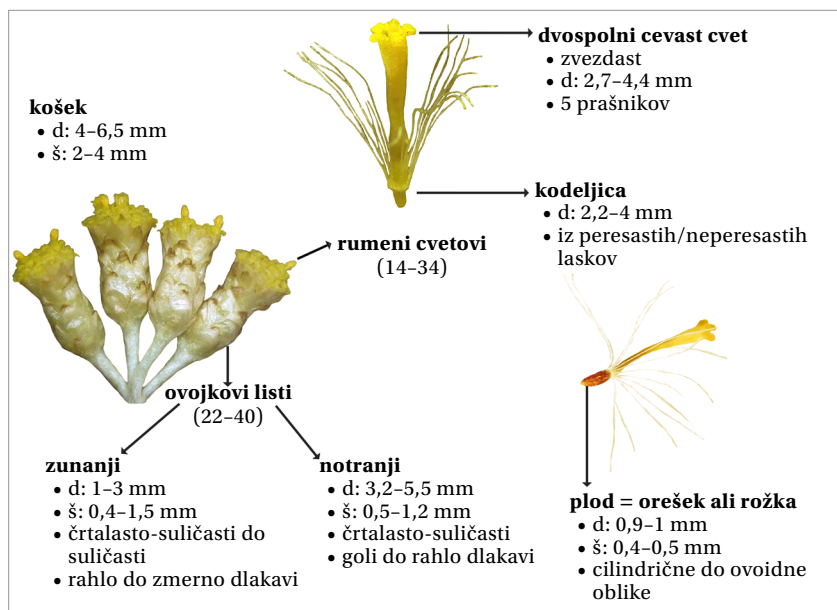
Podvrsta laškega smilja *H. italicum* subsp. *italicum* je zelnata, aromatična trajnica. Raste v obliki polgrma, ki lahko doseže do 70 cm višine. Grm je



Slika 3 Zgradba laškega smilja

pri dnu olesenel in razvejan. Iz olesenelega dela izraščajo pokončni vegetativni in cvetni poganjki. Listi, ki izraščajo iz stebel, so nameščeni spiralo ali premenjalno in so celi ter črtalasti. Listi na cvetnih poganjkih so proti vrhu vedno krajši. Na steblih so pogosto prisotni tudi zalisti, ki izraščajo v obliki snopov. Izjemoma se lahko zgodi, da zalisti niso prisotni. Na vrhu cvetnega poganjka je pakobulasto socvetje, ki vsebuje številne koške (slika 3) (Galbany-Casals idr. 2006; Galbany-Casals idr. 2011; Herrando-Moraira idr. 2016).

Košek (*capitulum*) je glavičasto socvetje in je cilindrične do ozko zvonaste oblike. Košek je obdan z rumenkasto-zelenkastimi ovojkovimi listi, kjer so najbolj zunanji manjši in notranji večji. Košek vsebuje rumene, predvsem cevaste cvetove, ki so hermafroditski (v cvetu so prisotni moški in ženski organi) in jih oprahujejo žuželke ter veter. Venec je zrasel v cev in je zvezdaste oblike, saj se na vrhu končuje s petimi zobci. V cvetu je pet prašnikov in prašnice so zrasle v cev, ki obdaja vrat pestiča. Izjemoma se v košku pojavljajo tudi jezičasti (funkcionalno ženski) cvetovi. Čaša je preobražena v kodeljico (*papus*) iz peresastih ali neperesastih laskov. Plod je orešek ali rožka, ki je cilindrične do ovoidne oblike, z enakomerno razporejenimi belimi laski (kodeljica) (slika 4) (Galbany-Casals idr. 2006; Galbany-Casals idr. 2011; Herrando-Moraira idr., 2016).

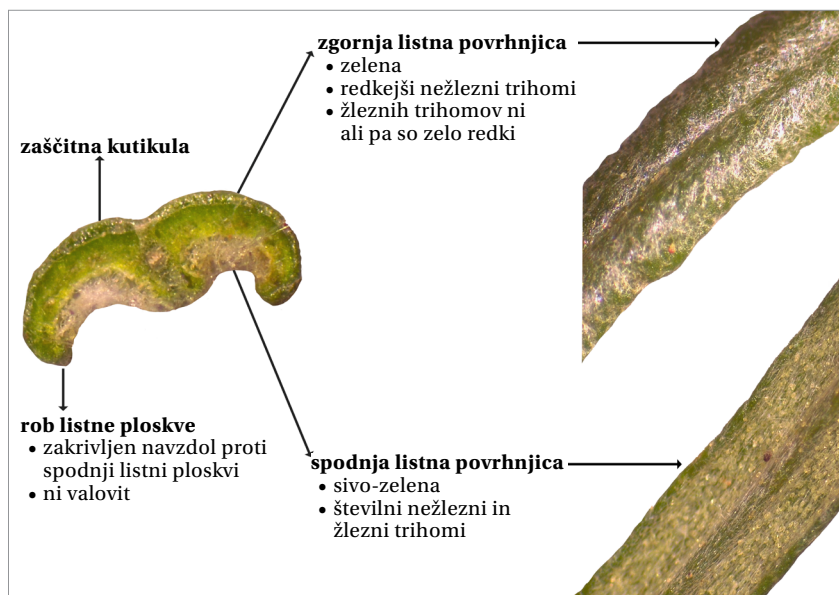


Slika 4 Zgradba koška in cevastega cveta ter ploda laškega smilja

Za rob listne ploskve je značilno, da je zakrivljen navzdol proti spodnji listni ploskvi in ni valovit. Zgornja listna povrhnjica (adaksialna stran lista) je zelene barve in prekriva jo zaščitna kutikula (plast kutina in voskov na zunanjih stenah celic povrhnjice). Za zgornjo povrhnjico so značilni redkejši nežlezni trihomi in praviloma ni žlezni trihomov ali pa so ti zelo redki. Spodnja listna povrhnjica (abaksialna stran lista) je sivo-zelene barve prav zaradi številnih nežlezni trihomov in zanjo so značilni tudi številni žlezni trihomi (slika 5) (Galbany-Casals idr. 2006; Galbany-Casals idr. 2011; Herrando-Moraira idr. 2016).

Izjemna morfološka raznolikost rastlin se ne kaže le med podvrstami laškega smilja, temveč tudi znotraj podvrste *H. italicum* subsp. *italicum*. Rastline se lahko razlikujejo po višini, od nižje rastočih in kompaktnějšíh do pokončnejših oblik, kar je pogosto odziv rastline na okoljske razmere, kot so suša, veter, slana in peščena tla na obalnih območjih ali kamnita tla. Listi se lahko razlikujejo po dolžini in širini ter barvnih odtenkih, ki so od srebrnkastosivih do zelenkastih tonov, kar je odvisno od gostote nitastih nežlezni trihomov. Zelo raznoliki so tudi koški, ki variirajo v velikosti, obliki in odtenkih zlatorumene barve (slika 6).

Iz povrhnjice nadzemnih delov laškega smilja (steblo, stebelni listi, ovojkovi listi, cvetni listi) izraščajo nežlezni in žlezni lasi ali trihomi. To so



Slika 5 Prečni prerez črtalastega lista laškega smilja z zakrivljenim robom listne ploskve

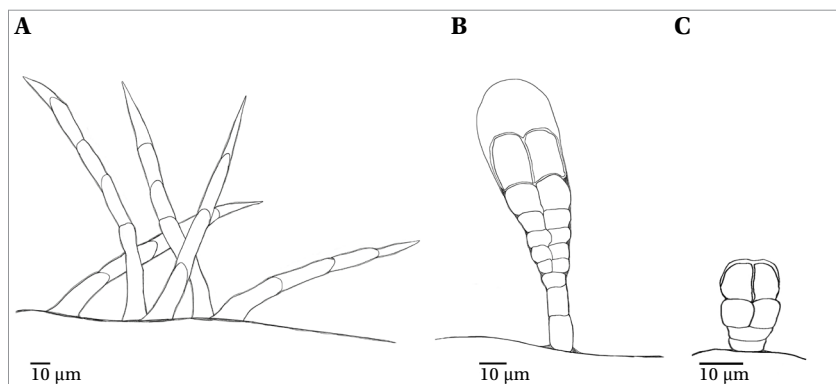


Slika 6 Morfološka raznolikost koškov v pakobulastem socvetju in rastlin laškega smilja

specializirane strukture, ki se pri laškem smilju razvijejo iz epidermalnih celic in so različno oblikovane. Nežlezni trihomi so večcelični, nerazvejani in gladki ter zelo dolgi in prožni. Rastlino ščitijo pred nizkimi temperaturami in škodljivim UV-B-sevanjem, zmanjšujejo izhlapevanje vode iz rastline ter prispevajo k zeleno-sivim barvnim odtenkom (Perrini idr., 2009; Rodrigues idr., 2015). Žlezni trihomi so prav tako večcelični in

Preglednica 4 Celična zgradba in značilnosti dveh tipov (I in II) žleznih trihomov laškega smilja (Perrini idr., 2009; Rodrigues idr., 2015)

		Tip I	Tip II
Značilnosti		Večji in kompleksnejši	Manjši in enostavnejši
Celična zgradba	Bazalni del ali pecelj	Daljši, število celic variira	Kratek, 2 celici
	Osrednji del	4–6 parov vzporednih celic	2 para vzporednih celic
	Apikalni del	2 večji in daljši izločalni celici, ki tvorita velik subkutikularni prostor	2 izločalni celici, ki tvorita ozek subkutikularni prostor
Lokacija		Stebelni listi, steblo	Ovojkovi listi koškov in cvetni listi
Sinteza eteričnega olja		Velike količine	Manjše količine



Slika 7 Celična struktura nežleznih trihomov (A) ter žleznih trihomov tipa I (B) in tipa II (C)

mikroskopske raziskave so pokazale, da sta za laški smilj značilna dva tipa žleznih trihomov (Perrini idr., 2009; Rodrigues idr., 2015). Oba tipa prispevata k izločanju eteričnega olja, a se razlikujeta v celični zgradbi, količini sintetiziranega olja ter mestu na rastlini (preglednica 4, slika 7).

Viri

- Anderberg, A. A. 1991. *Taxonomy and Phylogeny of the Tribe Gnaphalieae (Asteraceae)*. 104. izd. Opera Botanica. Council for Nordic Publications in Botany.
- Antunes Viegas, D., A. Palmeira-de-Oliveira, L. Salguiero, J. Martinez-de-Oliveira in R. Palmeira-de-Oliveira. 2014. »*Helichrysum italicum*: From Traditional Use to Scientific Data.« *Journal of Ethnopharmacology* 151 (1): 54–65.
- Appendino, G., O. Tagliatatela-Scafati, A. Minassi, F. Pollastro, M. Ballero in A. Maxia. 2015. »*Helichrysum italicum*: The Sleeping Giant of Mediterranean Herbal Medicine.« *HerbalGram* 105:36–47.
- Baruca Arbeiter, A., M. Hladnik, J. Jakše in D. Bandelj. 2021. »First Set of Microsatellite Markers for Immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don): A Step Towards the Selection of the Most Promising Genotypes for Cultivation.« *Industrial Crops and Products* 162 (10): 113298.
- Bandelj, D., M. Hladnik, K. Kramberger in A. Baruca Arbeiter. 2020. *Spoznajmo laški smilj*. Založba Univerze na Primorskem.
- Boerhaave, H. 1727. *Historia plantarum quae in Horto Academico Lugduno-Batavorum crescunt: cum earum characteribus, & medicinalibus virtutibus*. Franciscum Gonzagam.

- Galbany-Casals, M., L. Sáez in C. Benedi. 2006. »A Taxonomic Revision of *Helichrysum* Sect: *Stoechadina* (Asteraceae, Gnaphalieae).« *Canadian Journal of Botany* 84 (8): 1203–1232.
- Galbany-Casals, M., P. Carnicero-Campmany, J. M. Blanco-Moreno in R. D. Smitsen. 2011. »Genetic Variation in Mediterranean *Helichrysum italicum* (Asteraceae; Gnaphalieae): Do Disjunct Populations of Subsp. *Microphyllum* Have a Common Origin?« *Plant Biology* 13 (4): 678–687.
- Galbany-Casals, M., J. M. Blanco-Moreno, N. Garcia-Jacas, I. Breitwieser in R. D. Smitsen. 2012. »Morphological and Genetic Evidence of Contemporary Intersectional Hybridisation in Mediterranean *Helichrysum* (Asteraceae, Gnaphalieae).« *Plant Biology* 14 (5): 789–800.
- Herrando-Moraira, S., J. M. Blanco-Moreno, L. Sáez in M. Galbany-Casals. 2016. »Re-Evaluation of the *Helichrysum italicum* Complex (Compositae: Gnaphalieae): A New Species from Majorca (Balearic Islands).« *Collectanea Botanica* 35:e009.
- Hladnik, M., A. Baruca Arbeiter, P. Gabrovšek idr. 2024. »New Chloroplast Microsatellites in *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Their Characterization and Application for the Evaluation of Genetic Resources.« *Plants* 13 (19): 2740.
- Ličina, A., in V. Ročak Kralj. 2016. »Mediterranean Gold– *Helichrysum italicum*.« *The International Journal of Professional Holistic Aromatherapy* 4 (4): 5–12.
- Luczaj, Ł., M. Jug-Dujaković, K. Dolina, M. Jeričević in I. Vitasović-Kosić. 2024. »Ethnobotany of the Ritual Plants of the Adriatic Islands (Croatia) Associated with the Roman-Catholic Ceremonial Year.« *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 93:180804.
- Marini, L., L. Bini, M. Gori idr. 2023. »Genetic and Morphological Assessment of *Helichrysum* Mill. from Tuscan Archipelago (Italy).« *Scientia Horticulturae* 321:112360.
- Martinčič, A., T. Wraber, N. Jogan, A. Podobnik, B. Turk in B. Vreš. 2007. *Mala flora Slovenije: ključ za določevanje praprotnic in semenk*. Tehniška založba Slovenije.
- Morison, R. 1715. *Plantarum historiae universalis Oxoniensis seu herbarum distributio nova, per tabulas cognationis et affinitatis ex libro Naturae observata et detecata*. Theatrum Sheldonianum.
- Morone-Fortunato, I., C. Montemurro, C. Ruta idr. 2010. »Essential Oils, Genetic Relationships and in vitro Establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *Italicum* from Wild Mediterranean Germplasm.« *Industrial Crops and Products* 32 (3): 639–649.
- Perrini, R., I. Morone-Fortunato, E. Lorusso in P. Avato. 2009. »Glands, Essential Oils and in vitro Establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G.

- Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nyman.« *Industrial Crops and Products* 29 (2–3): 395–403.
- Petauer, T. 1993. *Leksikon rastlinskih bogastev*. Tehniška založba Slovenije.
- Pohajda, I., G. Dragun in L. Puharič Visković. 2015. *Smilje*. Savjetodavna služba.
- Pušnik, F. 1991. »Medicina renesanse in dunajska medicinska fakulteta v času Andreja Perlacha (1490–1551).« *Časopis za zgodovino in narodopisje* 62 (2): 237–250.
- Quer, P. F. 1993. *Plantas medicinales: el Dioscórides renovado*. Zv. 3. Labor.
- Rodrigues, A. M., L. Silva, P. L. V. Fale, M. L. Serralheiro in L. Ascensão. 2015. »Glandular Trichomes and Biological Activities in *Helichrysum italicum* and *H. stoechas*, Two Asteraceae Species Growing Wild in Portugal.« *Microscopy and Microanalysis* 21 (5): 91–92.
- Scarborough, J. 1978. »Theophrastus on Herbals and Herbal Remedies.« *Journal of the History of Biology* 11 (2): 353–385.
- Scott, G., in L. M. Hewett. 2008. »Pioneers in Ethnopharmacology: The Dutch East India Company (VOC) at the Cape from 1650 to 1800.« *Journal of Ethnopharmacology* 115 (3): 339–360.
- Tutin, T. G., V. H. Heywood, N. A. Burges in D. H. Valentine. 1976. *Flora Europaea*. Zv. 4, *Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*. Cambridge University Press.

2

Genetske in genomske raziskave laškega smilja

Petra Gabrovšek

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Matjaž Hladnik

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Alenka Baruca Arbeiter

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Dunja Bandelj

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem



© 2025 Petra Gabrovšek, Alenka Baruca Arbeiter, Matjaž Hladnik in Dunja Bandelj
<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.2>

Uvod

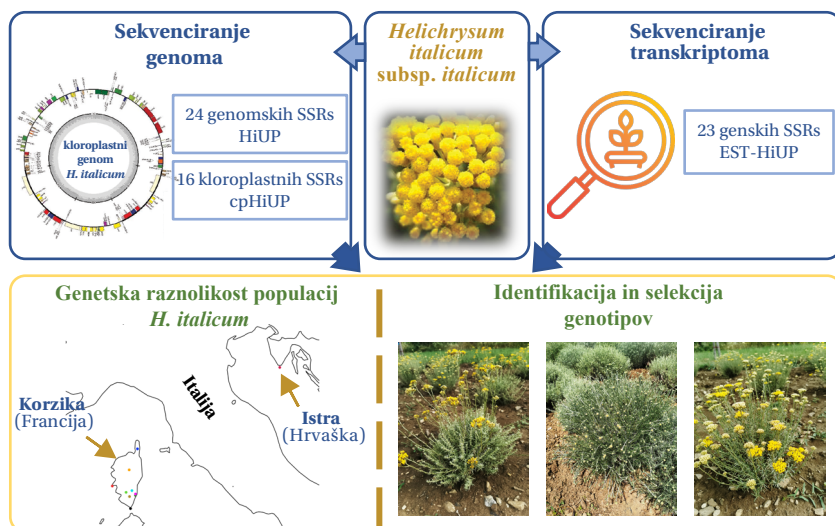
Preučevanje genskih virov je pomembno za ugotavljanje uporabnosti rastlin laškega smilja in omogoča izbor najprimernejših genotipov za pridelavo v kmetijskem prostoru. Za raziskave genskih virov so, poleg preizkušanja ter morfološkega in biokemijskega vrednotenja genskih virov v kolekcijskih nasadih, potrebna tudi učinkovita molekularna orodja. Razlikovanje genotipov laškega smilja na osnovi morfologije je zaradi njegove fenotipske raznolikosti in spontanega križanja med podvrstami na območjih, kjer se njihova rastišča prekrivajo, izjemno težavno (Galbany-Casals idr. 2006). Natančna karakterizacija in identifikacija laškega smilja na ravni genoma sta pomembni tudi v postopkih identifikacije za kontrolo identitete vrste, podvrste, za določanje geografskega izvora ter za zagotavljanje sledljivosti sadilnega materiala na trgu (Baruca Arbeiter idr. 2021).

Uporabnost mikrosatelitskih označevalcev

Označevalci DNA predstavljajo pomembno orodje v raziskavah raznolikosti genskih virov. Za namene razlikovanja posameznih rastlin znotraj

in med populacijami sorodnih vrst se razvija vrstno specifične, kodominantne mikrosatelitske označevalce. Mikrosateliti ali SSR (iz angl. *Simple Sequence Repeats*; ponovitve enostavnih zaporedij) so kratka zaporedja z osnovnim motivom dolžine od enega do šest nukleotidov (Gupta idr. 1996), ki se nahajajo v kodirajočih (angl. EST-SSR – *Expressed Sequence Tag derived SSR*; SSR, pridobljeni iz oznak izraženih zaporedij) in nekodirajočih regijah ter v kloroplastnem (Chung idr. 2006) in mitohondrijskem genomu (Rajendrakumar idr. 2007). Zaradi kodominantnega dedovanja omogočajo sledenje materinim in očetovim alelom na lokusu, ki jih pomnožimo v verižni reakciji s polimerazo (angl. *Polymerase Chain Reaction* – PCR). S pomočjo mikrosatelitov pridobimo profile DNA ali prstni odtis DNA (angl. *DNA fingerprinting*) posamezne rastline. Rastline med seboj ločimo na osnovi prisotnosti različnih, pomnoženih alelov na več lokusih. Mikrosateliti odlikuje izjemna variabilnost, zato se kot označevalski sistem uvrščajo v sam vrh glede uporabnosti v genetskih raziskavah. Pri rastlinah so se izkazali kot zelo primerno orodje za genotipizacijo ali identifikacijo osebkov oz. sorodnih taksonov, za karakterizacijo rastlinskih genskih virov, za preučevanje raznolikosti ter za filogenetske, populacijske in evolucijske raziskave. Poleg tega so nepogrešljivo orodje v programih žlahtnjenja rastlin (Varshney idr. 2005; Zalapa idr. 2012; Vieira idr. 2016; Taheri idr. 2018).

Za razvoj mikrosatelitskega označevalskega sistema je potrebno poznavanje zaporedja DNA tarčne vrste, in v primeru, če zaporedij ni na voljo, je potrebno predhodno sekvenciranje genoma ali transkriptoma preučevane vrste. Sledita identifikacija regij s prisotnimi mikrosatelitskimi motivi ter razvoj začetnih oligonukleotidov, ki se prilegajo na obrobno regijo mikrosatelita. Novorazvite začetne oligonukleotide je treba predhodno testirati glede uspešnosti pomnoževanja v PCR. Iz nabora večjega števila uspešno pomnoženih mikrosatelitov se nato za nadaljnje raziskave izbere le visoko informativne, polimorfne mikrosatelitske lokuse. Pridobljena nukleotidna zaporedja genoma in transkriptoma omogočajo še številne druge aplikacije. Mednje sodijo asociacijske raziskave celotnih genomov (angl. *Genome-Wide Association Studies* – GWAS), ki povezujejo genotip s fenotipom in vključujejo iskanje genetskih variacij po celotnem genomu ter njihovo povezovanje z določenimi lastnostmi (Guo idr. 2021). Prav tako omogočajo tudi identifikacijo genov, odgovornih za določene lastnosti (npr. za odpornost rastlin ali sintezo biološko aktivnih spojin), ter ekspresijske raziskave (Lovén idr. 2012).



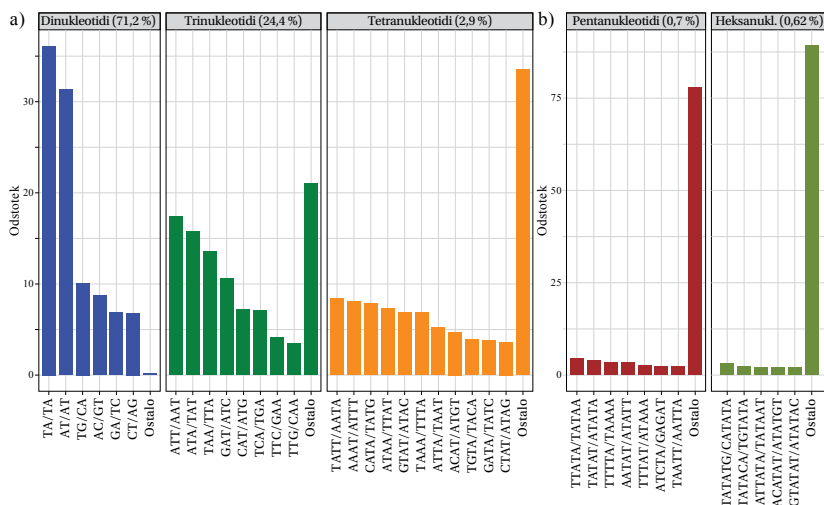
Slika 1 Genetske raziskave laškega smilja na UP FAMNIT: razvoj genoma in transkriptoma ter treh nizov mikrosatelitskih označevalcev (HiUP, cpHiUP, EST-HiUP)

Mikrosateliti laškega smilja in njihova uporabnost v genetskih raziskavah

Raziskovalci Univerze na Primorskem, Fakultete za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije (UP FAMNIT) smo prvi v svetovnem merilu razvili mikrosatelitske označevalce laškega smilja. K odločitvi za razvoj je prispeval pregled genetskih raziskav in podatkovnih zbirk nukleotidnih zaporedij za laški smilj v letu 2020, s katerim smo ugotovili, da so informacije zanj izjemno skromne in omejene ter da ni razpoložljivih vrstno specifičnih molekularskih označevalcev. Mikrosateliti smo razvili iz zaporedij, ki smo jih pridobili s sekvenciranjem genoma (DNA) in transkriptoma (RNA) ter jih uspešno uporabili za identifikacijo genotipov in preučevanje genetske raznolikosti naravnih populacij laškega smilja (slika 1).

Sekvenciranje genomske DNA smo opravili s tehnologijo Ion Torrent. Iz pridobljenih 17.025.076 kakovostnih zaporedij s povprečno dolžino 245 baznih parov (bp) smo pridobili 450.590 daljših zaporedij ali kontigov v skupni dolžini 258,6 Mbp, kar predstavlja 15,9 % predvidene celotne velikosti genoma laškega smilja (Baruca Arbeiter idr. 2021).

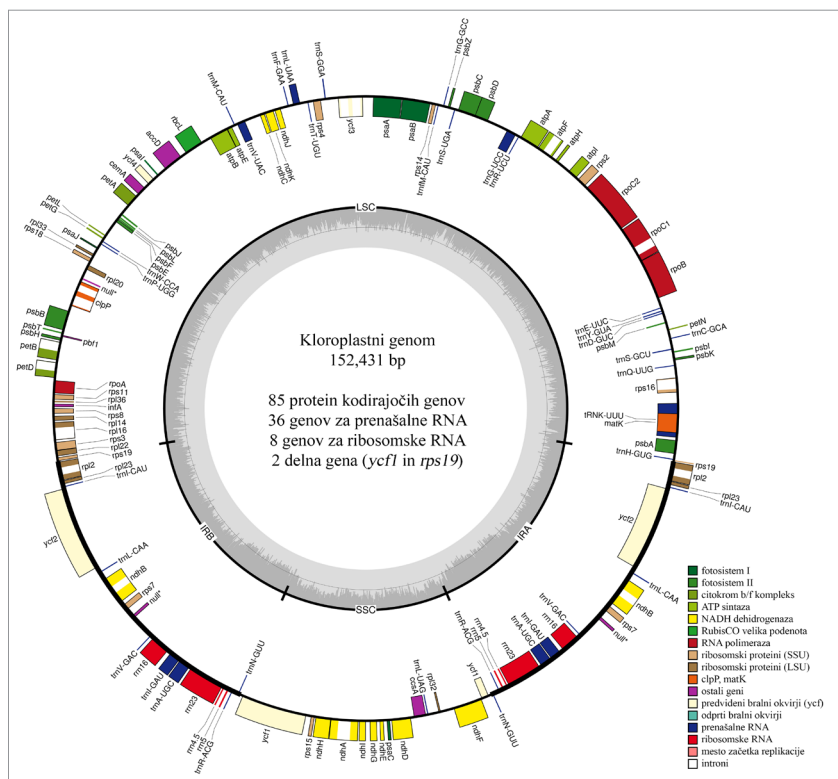
Zložena nukleotidna zaporedja smo uporabili za razvoj mikrosatelitskih označevalcev. Mikrosatelitske motive je vsebovalo 8,19 % kontigov (36.882), med katerimi so prevladovali dinukleotidni motivi (71,2 %;



Slika 2 Pogostost dinukleotidov, trinukleotidov in tetranukleotidov (a) ter pentanukleotidov in heksanukleotidov (b) v genomu laškega smilja

30.673), sledili so trinukleotidi (24,4 %; 10.519) in tetranukleotidi (2,9 %; 1.243), penta- in heksanukleotidi pa so skupno predstavljali najmanjši delež (1,4 %) v genomu laškega smilja. Najpogostejši dinukleotidni motivi so bili TA/AT (36,1 %), AT/AT (31,3 %), TG/CA (10,1 %) in AC/GT (8,8 %), medtem ko so bili najpogostejši trinukleotidni motivi ATT/AAT (17,4 %), ATA/TAT (15,7 %) in TAA/TTA (13,5 %) (slika 2). V nadaljevanju smo pregledali zložena nukleotidna zaporedja z mikrosatelitskimi motivi po izbranih kriterijih in izbrali 60 zaporedij, primernih za razvoj začetnih oligonukleotidov. Od 60 regij z razvitimi začetnimi oligonukleotidi sta bila dva uspešno pomnožena lokusa monomorfna (0,9 %), preostalih 24 (41,8 %) pa polimorfnih. Končni niz vključuje 24 genomskih mikrosatelitskih označevalcev z oznako HiUP, katerih podatki so prosto dostopni v podatkovni bazi GenBank (Baruca Arbeiter idr. 2021).

Mikrosatelitske označevalce smo uporabili v preliminarni raziskavi za preučevanje genetske raznolikosti 27 rastlin laškega smilja z vzhodne jadranske obale in rastlin, ki smo jih vzgojili iz kupljenega certificiranega semena laškega smilja na trgu. Na lokusu HiUP-21 smo odkrili le dva alela, največ alelov (15) pa smo odkrili na lokusu HiUP-23. V povprečju smo z nizom HiUP 24 označevalcev pomnožili 8,5 alela na mikrosatelitski lokus. Na podlagi analize nekaterih parametrov variabilnosti (število učinkovitih alelov, opažena in pričakovana heterozigotnost, informacijska vrednost polimorfizma, verjetnost enakosti genotipov) smo izbrali deset



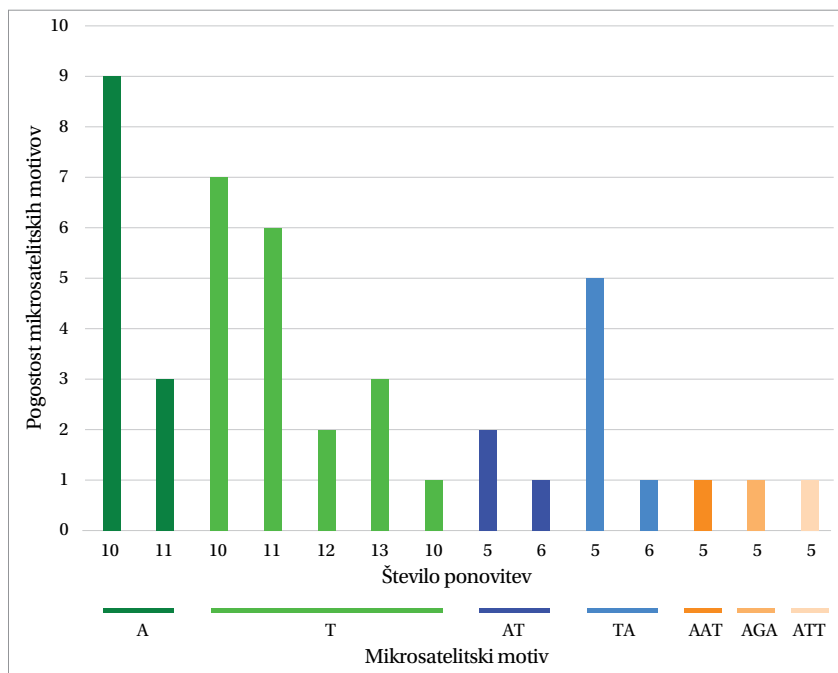
Slika 3 Kloroplastni genom laškega smilja

mikrosatelitskih označevalcev (HiUP-04, HiUP-05, HiUP-07, HiUP-13, HiUP-14, HiUP-18, HiUP-19, HiUP-20, HiUP-22, HiUP-24), ki so se izkazali kot zelo informativni in primerni za preučevanje genetske strukture ter raznolikosti laškega smilja. Omogočili so tudi razlikovanje med populacijami laškega smilja s severnega in z južnega dela vzhodnojadrske regije. Genotipizacija z mikrosateliti je razkrila tudi napačno identifikacijo vrste na deklaraciji certificiranega semena. Z genetskimi profili, podprtimi z edinstvenimi aleli, smo potrdili, da certificiran sadilni material ne pripada vrsti *Helichrysum italicum*, kar smo podprli še z morfološki meritvami, temveč gre za vrsto *Helichrysum angustifolium* (Lam.) DC (Baruca Arbeiter idr. 2021) oz. po novem predlogu poimenovanja za vrsto *Helichrysum litoreum* Guss (Aghababayan idr. 2009; Baruca Arbeiter idr. 2021; Hladnik idr. 2023). Pomnoževanje z novimi označevalci je bilo uspešno tudi pri vrsti peščeni smilj (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench) (Kramberger idr. 2021; Van Rossum idr. 2024). Prvi niz mikrosatelitskih

označevalcev laškega smilja predstavlja dragoceno orodje za nadaljnje selekcijske programe, karakterizacijo genskih virov in zaradi prenosljivosti omogoča tudi raziskave sorodnih vrst laškega smilja.

Nukleotidno zaporedje genoma laškega smilja smo uporabili tudi za sestavo celotne kloroplastne DNA (angl. *Chloroplast DNA* – cpDNA) (Hladnik idr. 2019). Velikost kloroplastnega genoma laškega smilja je 152.431 bp in vsebuje 131 genov, od tega 85 protein kodirajočih genov, 36 genov za prenašalno RNA (angl. *Transfer RNA* – tRNA), osem genov za ribosomsko RNA (angl. *Ribosomal RNA* – rRNA) in dva delna gena (*ycf1*, *rps19*) (slika 3). Dolžina regije LSC (angl. *Large Single Copy*; večja enojna kopija) znaša 84.445 bp, regije IR (angl. *Inverted Repeats*; inverzni oz. nasprotno orientirani ponovitvi) 24.773 bp in regije SSC (angl. *Small Single Copy*, manjša enojna kopija) 18.440 bp. V kloroplastu adenin predstavlja 31,3 %, citozin 18,3 %, gvanin 18,8 % in timin 31,5 %.

Sestavljen kloroplastni genom nam je omogočil identifikacijo in razvoj kloroplastnih mikrosatelitskih označevalcev (angl. *Chloroplast Simple Sequence Repeats* – cpSSRs) (Hladnik idr. 2024). V cpDNA smo identificirali 43 regij z mikrosatelitskimi ponovitvami. Največ je bilo mononukleotidnih mikrosatelitov (31; 72,1 %), sledili so dinukleotidni (9; 21,0 %) in trinukleotidni (3; 6,9 %) (slika 4). 34 mikrosatelitov (79,1 %) smo odkrili v regiji LSC, sedem (16,3 %) v regiji SSC, dva mikrosatelita pa smo identificirali v regijah IRA in IRB. Za vse najdene mikrosatelite smo dizajnirali pare začetnih oligonukleotidov in preizkusili uspešnost njihovega pomnoževanja. Izbrani niz 16 polimorfni kloroplastnih mikrosatelitskih označevalcev (cpHiUP) smo uporabili za genotipizacijo desetih populacij laškega smilja s Korzike (Francija) in z rta Kamenjak (Hrvaška). Populacijsko analizo smo izvedli le z desetimi najboljšimi označevalci (cpHiUP-01, cpHiUP-05, cpHiUP-06, cpHiUP-7, cpHiUP-08, cpHiUP-12, cpHiUP-13, cpHiUP-14, cpHiUP-15, cpHiUP-15) in odkrili kar 38 haplotipov (specifična kombinacija alelov na več kloroplastnih mikrosatelitskih lokusih), od tega 32 geografsko specifičnih ter deset privatnih alelov, značilnih za sedem populacij. Z vsemi desetimi kloroplastnimi mikrosatelitskimi označevalci je bilo pomnoževanje uspešno tudi na vzorcih *H. litoreum* in *H. arenarium*, s čimer smo potrdili 100-odstotno prenosljivost na sorodne vrste. Skupno smo detektirali 56 alelov, od tega sedem unikatnih za *H. litoreum*, šest za *H. arenarium* in 26 za *H. italicum*, medtem ko je bil le en alel skupen vsem trem vrstam.



Slika 4 Pogostost posameznih mikrosatelitskih motivov v kloroplastnem genomu laškega smilja

Novorazviti genomski in kloroplastni mikrosatelitski označevalci predstavljajo nepogrešljivo orodje za razlikovanje vrst, ki je pomembno v taksonomskih in filogenetskih raziskavah, zato so uporabni tudi na področju varstvene biologije. V sodelovanju s skupino Fabienne Van Rossum idr. (2024) smo raziskovalci UP FAMNIT genomske mikrosatelitske označevalce laškega smilja uporabili za analizo genetske raznolikosti upadajočih populacij vrste peščenega smilja z namenom ohranitve edine naravne populacije v Belgiji. Pristopili smo z idejo, da bi potencialne, genetsko raznolike in neklonsko razmnožene rastline iz populacij v Nemčiji uporabili kot vir rastlinskega materiala za izboljšanje genskega pretoka zadnje populacije na jugu Belgije. Prenosljivost 12 genomskih mikrosatelitskih označevalcev smo testirali na vzorcih peščenega smilja treh nemških populacij ter potrdili uspešno pomnoževanje pri osmih lokusih (HiUP-01, HiUP-02, HiUP-05, HiUP-08, HiUP-13, HiUP-16, HiUP-18 in HiUP-19). Na podlagi parametrov variabilnosti smo za nemške populacije ugotovili visoko genetsko raznolikost in nizek koeficient samoopraševanja, kljub dejstvu, da je vrsta znana kot samooplodna,

medtem ko smo v belgijski populaciji ugotovili nizko genetsko raznolikost in klonalnost. V raziskavi smo potrdili domnevo, da so nemške populacije primerne za translokacijo rastlin v belgijsko populacijo, s čimer bi omogočili povečanje genetske raznolikosti in evolucijske odpornosti populacij peščenega smilja v Belgiji.

Za genetske raziskave rastlin so, poleg genomskih in kloroplastnih mikrosatelitskih označevalcev, uporabni tudi genski mikrosateliti ali EST-SSRs. Primerni so za odkrivanje raznolikosti v izraženih regijah genoma in so označevalci tarčnih genov (Andersen in Lübberstedt 2003). Tako kot genomski mikrosateliti so tudi genski običajno uporabni za sorodne vrste (Wöhrmann in Weising 2011). Razvoj označevalcev EST-SSRs je odvisen od razpoložljivosti zbirk EST, zato smo na UP FAMNIT z uporabo enake tehnologije, omenjene pri sekvenciranju genomske DNA, razvili transkriptom laškega smilja in prve genske mikrosatelitske označevalce (EST-SSRs) laškega smilja (Gabrovšek idr. 2024). Pridobili smo 21.568.881 kakovostnih zaporedij, združenih v 24.806 kontigov s povprečno dolžino 1.832 bp, kar po oceni, pridobljeni z analizo z orodjem BUSCO, znaša 48,6 % popolnega transkriptoma. Nato smo izvedli funkcijsko anotacijo kontigov, s poudarkom na agronomsko zanimivih lastnostih, kot so različni presnovki in biosintezne poti za terpenoide, poliketide, glikane ter druge sekundarne presnovke, odpornost na bolezni in škodljivce ipd. V anotiranih transkriptih smo identificirali 1.999 popolnih mikrosatelitov. Najpogostejši so bili trinukleotidni motivi (70,03 %, 1.397), sledili so dinukleotidni (24,26 %, 484), tetranukleotidni (2,76 %, 55), heksanukleotidni (2,01 %, 40) ter pentanukleotidni (0,95 %, 19) mikrosatelitski motivi. Iz nabora anotiranih transkriptov z mikrosatelitskimi regijami smo, upoštevajoč domnevno funkcijo, izbrali 79 lokusov za razvoj začetnih oligonukleotidov (Gabrovšek idr. 2024). Po končani optimizaciji protokola pomnoževanja smo pri 31 (39,2 %) EST-SSRs pridobili kakovostne pomnožke, medtem ko pri ostalih 48 (60,8 %) označevalcih EST-SSRs pomnoževanje ni bilo uspešno ali pa so se pomnožili nespecifični produkti. V nizu 31 EST-SSRs je bilo osem lokusov monomorfnih, preostalih 23 pa polimorfni, zato so potencialno uporabni za genetske raziskave.

Raziskave laškega smilja z uporabo drugih označevalcev DNA

Pred razvojem vrstno specifičnih mikrosatelitskih označevalcev so bili genski viri rodu *Helichrysum* na območju sredozemskega bazena preučevani z različnimi označevalskimi sistemi. Mercè Galbany-Casals idr.

(2004) so želeli ugotoviti, ali je rod *Helichrysum* monofiletski, kar pomeni, da vse vrste v tem rodu izvirajo iz enega skupnega prednika. Med prvimi so preučili vrste rodu *Helichrysum* z območja Sredozemlja ter nekaj predstavnikov afriškega izvora z analizo nukleotidnega zaporedja regije ITS (iz angl. *Internal Transcribed Spacer*; notranji prepisni vmesnik). Uporabili so regiji ITS1 in ITS2, ki se nahajata med geni za rRNA, ki se jih uporablja za filogenetske in taksonomske analize zaradi njihove variabilnosti med vrstami ter znotraj vrst (Mäder idr. 2010). Kot zunanjo skupino so vključili vrste iz plemena Gnaphalieae (družina Asteraceae). Rezultati raziskave so pokazali, da naj bi bil rod *Helichrysum* polifiletski. Pleme Gnaphalieae najverjetneje izvira iz Afrike, od koder se je širilo v Evrazijo, Avstralijo in Ameriko. Za potrditev te hipoteze so potrebne dodatne raziskave. Filogenetska raziskava je vrsto *H. italicum* uvrstila v osrednji predel sredozemskega bazena. Rezultati so podprli domnevo, da je rod *Helichrysum* v Sredozemlju monofiletski. Izjemi sta vrsti *H. frigidum* in *H. montelinasanum*, ki naj bi se razvili iz afriških vrst. Razmerja podobnosti znotraj vrst iz Sredozemlja ostajajo nerazjasnjena, kar je posledica nedavnih dogodkov speciacije znotraj rodu ter spontanega križanja in genskega pretoka.

Z namenom izboljšanja razlikovanja med zelo sorodnimi vrstami so Mercè Galbany-Casals idr. (2009) raziskavo razširili in označevalce ITS nadgradili z analizo nukleotidnih zaporedij regije ETS (iz angl. *External Transcribed Spacer*; zunanji prepisni vmesnik). Tudi regija ETS je del gena za rRNA in se pogosto uporablja za filogenetske in evolucijske raziskave. Analizirali so 36 vrst rodu *Helichrysum* iz Sredozemlja in Azije, 47 predstavnikov afriških vrst *Helichrysum* ter dve vrsti iz Irana in Jemna. V filogenetskem drevesu ETS so imeli vzorci podvrste *H. italicum* subsp. *italicum* skupno vozlišče s *H. italicum* subsp. *siculum* in *H. italicum* subsp. *microphyllum*. Podatki nakazujejo, da prednik predstavnikov rodu *Helichrysum* izvira iz Sredozemlja, od koder se je razširil v azijsko regijo. Tudi Nie idr. (2013) so z analizo regije ITS nakazali sorodnost med sredozemskimi in azijskimi predstavniki iz rodu *Helichrysum*.

Raziskovalci UP FAMNIT (Hladnik idr. 2023) smo regije ITS uporabili za analizo genetske raznolikosti naravnih populacij laškega smilja z vzhodne jadranske obale (Hrvaška, Črna gora) ter okrasnih rastlin iz Slovenije z namenom ločevanja rastlin različnega geografskega porekla na podlagi unikatnih nukleotidnih zaporedij regije ITS. Z raziskavo smo pokazali, da prihaja do velikega prekrivanja v nukleotidnih zaporedjih regije ITS,

kar zmanjšuje možnost uporabe označevalcev za razlikovanje med podvrstami in za ugotavljanje geografskega izvora rastlin.

Wilma Sabetta idr. (2006) pa so za preučevanje genetske raznolikosti laškega smilja z območja Sredozemlja uporabili označevalce AFLP (iz angl. *Amplified Fragment Length Polymorphism*; polimorfizem dolžin pomnoženih fragmentov), ki omogočajo odkrivanje polimorfizmov v naključnih regijah genoma. V raziskavo so vključili rastline laškega smilja iz Francije (Korzika) in Italije (Apulija, Sicilija, Sardinija, Bazilikata, Kalabrija, Toskana in Ligurija). Vzorci so se glede na sorodnost razporedili v tri skupine. V prvi skupini so prevladovali vzorci s Korzike, v drugi z območij Apulije in Bazilikate ter nekaj klonov s Korzike, tretjo skupino pa so zastopali vzorci z otoka Elba, iz Toskane in Ligurije.

Označevalce AFLP so uporabili tudi Rosaria Perrini idr. (2009) za raziskavo vpliva tehnik rastlinskih tkivnih kultur na genetsko variabilnost ekotipa *H. italicum* subsp. *microphyllum* (po novejši klasifikaciji subsp. *tyrhenicum*) s Korzike. Rezultati analize so pokazali, da je rastlinski material pri gojenju *in vitro* genetsko stabilen, saj so rastline ohranile 99,3 % podobnosti. Variabilnost na določenih lokusih bi bila lahko tudi posledica *in vitro* induciranih DNA-metilacijskih sprememb, na katere so lahko občutljivi restriksijski encimi, ki so del protokola AFLP.

Irene Morone-Fortunato idr. (2010) so s pomočjo označevalcev AFLP in analize eteričnega olja ugotavljali genetsko in kemijsko variabilnosti 20 genotipov *H. italicum* subsp. *italicum* z območja Italije in Francije (Korzika). Genotipi so se razvrstili v dve skupini, ki sta odražali tudi kemijsko raznolikost.

Na območju Sardinije (Italija) so Sara Melito idr. (2013) preučevali genetsko in kemijsko raznolikost laškega smilja. V analizo AFLP je bilo vključenih 50 populacij. Razvrščanje v sorodnostne skupine je pokazalo dve gruč, ki sta se ujemali z geografsko razširjenostjo in okoljskimi razmerami Sardinije. Predpostavljajo, da je genetska struktura nastala pod vplivom prilagoditve okolju, kar se odraža v genetski in kemijski raznolikosti vrste.

Na območju vzhodne jadranske obale so Tonka Ninčević idr. (2021) sistematično vzorčili 18 naravno rastočih populacij laškega smilja in jih analizirali z označevalci AFLP. Želeli so preučiti genetsko raznolikost in strukturo ter identificirati lokuse, ki so potencialno odgovorni za razvoj lastnosti, pomembnih za prilagajanje rastlin okolju. Vzorci so se razvrstili v dve sorodnostni skupini glede na geografsko območje (severni in južni Jadran). Identificirali so štiri lokuse, ki so bili povezani z okoljskimi

lastnostmi (temperatura in padavine), kar nakazuje, da je na nastanek genetske raznolikosti vplivalo tudi lokalno podnebje.

V nekatere raziskave genskih virov rodu *Helichrysum* je bilo vključenih več različnih označevalskih sistemov. Mercè Galbany-Casals idr. (2011) so z označevalci AFLP, s kloroplastnimi označevalci (regija *psbA-trnH*) ter z morfološkim vrednotenjem raziskovali podvrsti *H. italicum* subsp. *microphyllum* in *H. italicum* subsp. *italicum* v sredozemskem bazenu. Ugotovili so, da se vrsta *H. italicum* deli na vzhodno in zahodno sredozemsko skupino, delitev pa se ni ujemala glede na podvrsto (subsp. *microphyllum* in subsp. *italicum*). Genetska raznolikost je bila skladna z morfološko raznolikostjo, kar so pripisali lokalni selekciji lokusov, ki so povezani s kvantitativnimi lastnostmi. Precejšen polimorfizem v nukleotidnih zaporedjih kloroplastne DNA so odkrili v zahodnosredozemski skupini, tako med populacijami kot tudi znotraj njih. Primerjava nukleotidnih zaporedij cpDNA *H. italicum* in drugih vrst rodu *Helichrysum* pa je pokazala, da so nekateri haplotipi skupni vsem vrstam.

Mercè Galbany-Casals idr. (2014) so za filogenetsko analizo rodu *Helichrysum* uporabili kombinacijo označevalcev ITS in regije *rpl32-trnL* v kloroplastu. V analizo so bile vključene številne vrste iz rodu *Helichrysum*, med drugim tudi *H. italicum* subsp. *italicum* in subsp. *microphyllum*, ter vrste iz rodov *Achyrocline*, *Anaphalis*, *Pseudognaphalium* in *Humeocline*. Filogenetsko drevo z označevalci ITS se je nekoliko razlikovalo od filogenetskega drevesa s kloroplastnimi označevalci, kar je najverjetneje posledica kompleksnih evlucijskih procesov, kot so spontano križanje, alopoliploidija (pogost mehanizem za razvoj vrst pri rastlinah, do katerega pride, ko se križata dve različni vrsti in ima potomec garnituri kromosomov obeh staršev, kromosomi pa niso homologni) in hitra radiacija, kar pomeni hiter razvoj velikega števila vrst iz skupnega prednika v kratkem evlucijskem času (Galbany-Casals idr. 2014). Raziskava je potrdila, da je rod *Helichrysum* filogenetsko zelo kompleksen in široko razpršen znotraj plemena Gnaphalieae. Izviral naj bi iz južne Afrike, kjer je tudi središče njegove diverzifikacije. Avtorji so poudarili, da bi bilo za pravilno razumevanje razmerij znotraj rodu *Helichrysum* in sorodnih vrst ključnega pomena povezovanje molekularnih, morfoloških ter biogeografskih podatkov.

Genetsko in morfološko raznolikost 12 populacij rodu *Helichrysum* iz Toskane so nedavno raziskali tudi Marini idr. (2023) ter uporabili označevalski sistem medmikrosatelitne regije (angl. *Inter Simple Sequence*

Repeats – ISSR; regije med ponovitvami enostavnih zaporedij) in 27 morfoloških znakov. Raziskava je potrdila visoko genetsko in morfološko raznolikost, ki je bila izrazitejša znotraj populacij kot med populacijami. Za večino toskanskih vzorcev so potrdili, da pripadajo vrsti *H. italicum*, pri nekaterih pa so zaznali potencialno hibridizacijo z vrsto *H. litoreum*.

Zaključek

Raziskave laškega smilja in njegovih podvrst z različnimi molekulskimi označevalci potrjujejo, da je taksonomija zelo kompleksna in še vedno ne povsem pojasnjena, predvsem zaradi izjemne fenotipske raznolikosti, ki je posledica razlik v genotipih in okolju. Zaradi tega je še posebej pomemben razvoj označevalcev EST-SSRs, ki kažejo na splošno nižji polimorfizem v primerjavi z genomskimi SSR (Gupta idr. 2003) in bi bili zato učinkovitejši pri razlikovanju podvrst laškega smilja ter geografsko ločenih populacij. Nedvoumna identifikacija zdravilnih rastlin je ključnega pomena za zagotavljanje avtentičnosti in sledljivosti sadilnega materiala ter s tem varne uporabe rastlin. Z nizom novih označevalcev EST-SSRs nismo povečali le razpoložljivosti označevalcev laškega smilja, temveč bodo ti tudi v pomoč pri identifikaciji lokalnih genotipov (za zaščito pristnosti lokalnih proizvodov in geografskega porekla) in razvoju novih sort visoke kakovosti. Kljub številnim aplikacijam, ki jih omogočajo genomske in transkriptomske raziskave, je razpoložljivost kodirajočih in nekodirajočih nukleotidnih zaporedij pri laškem smilju omejena. Poleg tega prevladujejo raziskave, ki so osredotočene samo na kemijsko analizo eteričnega olja in drugih izvlečkov laškega smilja, medtem ko ostaja genetsko ozadje raznolikosti kemotipov nepojasnjeno.

Zato je izjemno pomembno, da si nenehno prizadevamo za razvoj visokokakovostnih nukleotidnih zaporedij genoma in transkriptoma ter visokoinformativnih molekulskih označevalcev, s čimer pomembno prispevamo k boljšemu razumevanju genetskega ozadja kompleksnih presnovnih poti in raznolikih kemotipov laškega smilja. To je namreč osnova za napredek v žlahtniteljskih programih, ki lahko hitreje privedejo do razvoja prvih dragocenih sort laškega smilja za ciljno uporabo v medicini in farmaciji.

Viri

Aghababyan, M., W. Greuter, P. Mazzola in F. M. Raimondo. 2009. »On the Taxonomy and Nomenclature of *Gnaphalium angustifolium* Lam. and *Helichrysum litoreum* Guss. (*Compositae*).« *Bocconea* 23:157–163.

- Andersen, J. R., in T. Lübberstedt. 2003. »Functional Markers in Plants.« *Trends in Plant Science* 8 (11): 554–560.
- Baruca Arbeiter, A., M. Hladnik, J. Jakše in D. Bandelj. 2021. »First Set of Microsatellite Markers for Immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don): A Step Towards the Selection of the Most Promising Genotypes for Cultivation.« *Industrial Crops and Products* 162 (10): 113298.
- Chung, A. M., J. E. Staub in J. F. Chen. 2006. »Molecular Phylogeny of Cucumis Species as Revealed by Consensus Chloroplast SSR Marker Length and Sequence Variation.« *Genome* 49 (3): 219–229.
- Gabrovšek, P., A. Baruca Arbeiter, M. Hladnik in D. Bandelj. 2024. »Development of EST-SSR from *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don (Asteraceae) de novo Assembled Transcriptome.« *V Genetika 2024: Book of Abstracts: 10th Congress of the Genetic Society of Slovenia and [10th] Meeting of the Slovenian Society for Human Genetics*, uredili S. Kranjc Brezar, M. Čemažar in B. Markelc. Genetic Society of Slovenia.
- Galbany-Casals, M., L. Saez in C. Benedi. 2006. »A Taxonomic Revision of *Helichrysum* sect. *Stoechadina* (Asteraceae, Gnaphalieae).« *Canadian Journal of Botany* 84 (4): 1203–1232.
- Galbany-Casals, M., M. Blanco-Moreno, N. Garcia-Jancas, I. Breitwieser in R. D. Smissen. 2011. »Genetic Variation in Mediterranean *Helichrysum italicum* (Asteraceae; Gnaphalieae): Do Disjunct Populations of subsp. *microphyllum* Have a Common Origin?« *Plant Biology* 13 (4): 678–687.
- Galbany-Casals, M., N. Garcia-Jacas, L. Saez, C. Benedi in A. Susanna. 2009. »Phylogeny, Biogeography, and Character Evolution in Mediterranean, Asiatic, and Macaronesian *Helichrysum* (Asteraceae, Gnaphalieae) Inferred from Nuclear Phylogenetic Analyses.« *International Journal of Plant Sciences* 170 (3): 365–380.
- Galbany-Casals, M., N. Garcia-Jacas, A. Susanna, L. Saez in C. Benedi. 2004. »Phylogenetic Relationships in the Mediterranean *Helichrysum* (Asteraceae, Gnaphalieae) Based on Nuclear rDNA ITS Sequence Data.« *Australian Systematic Botany* 17 (3): 241–253.
- Galbany-Casals, M., M. Unwin, N. Garcia-Jacas, R. D. Smissen, A. Susanna in R. J. Bayer. 2014. »Phylogenetic Relationships in *Helichrysum* (Compositae: Gnaphalieae) and Related Genera: Incongruence Between Nuclear and Plastid Phylogenies, Biogeographic and Morphological Patterns, and Implications for Generic Delimitation.« *Taxon* 63 (3): 608–624.
- Guo, X., Y. Song, S. Liu, M. Gao, Y. Qi in X. Shang. 2021. »Linking Genotype to Phenotype in Multi-Omics Data of Small Sample.« *BMC Genomics* 22 (1): 537.

- Gupta, P. K., H. S. Balyan, P. C. Sharma in B. Ramesh. 1996. »Microsatellites in Plants: A New Class of Molecular Markers.« *Current Science* 70 (1): 45–54.
- Gupta, P. K., S. Rustgi, S. Sharma, R. Singh, N. Kumar in H. S. Balyan. 2003. »Transferable EST-SSR Markers for the Study of Polymorphism and Genetic Diversity in Bread Wheat.« *Molecular Genetics and Genomics* 270 (4): 315–323.
- Hladnik, M., A. Baruca Arbeiter in D. Bandelj. 2023. »Sequence Characterization of ITS Regions of Immortelle *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don from the East Adriatic Coast.« *Genes* 14 (2): 480.
- Hladnik, M., A. Baruca Arbeiter, T. Knap, J. Jakše in D. Bandelj. 2019. »The Complete Chloroplast Genome of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don (Asteraceae).« *Mitochondrial DNA Part B* 4 (1): 1036–1037.
- Hladnik, M., A. Baruca Arbeiter, P. Gabrovšek idr. 2024. »New Chloroplast Microsatellites in *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Their Characterization and Application for the Evaluation of Genetic Resources.« *Plants* 13 (9): 2740.
- Kramberger, K., Z. Jenko Pražnikar, A. Baruca Arbeiter, A. Petelin, D. Bandelj in S. Kenig. 2021. »A Comparative Study of the Antioxidative Effects of *Helichrysum italicum* and *Helichrysum arenarium* Infusions.« *Antioxidants* 10 (3): 380.
- Lovén, J., D. A. Orlando, A. A. Sigova idr. 2012. »Revisiting Global Gene Expression Analysis.« *Cell* 151 (3): 476–482.
- Mäder, G., P. M. Zamberlan, N. J. R. Fagundes idr. 2010. »The Use and Limits of ITS Data in the Analysis of Intraspecific Variation in *Passiflora* L. (Passifloraceae).« *Genetics and Molecular Biology* 33 (1): 99–108.
- Marini, L., L. Bini, M. Gori idr. 2023. »Genetic and Morphological Assessment of *Helichrysum* Mill. from Tuscan Archipelago (Italy).« *Scientia Horticulturae* 321:112360.
- Melito, S., A. Sias, G. L. Petretto, M. Chessa, G. Pintore in A. Porceddu. 2013. »Genetic and Metabolite Diversity of Sardinian Populations of *Helichrysum italicum*.« *PLOS One* 8 (11): e79043.
- Morone-Fortunato, I., C. Montemurro, C. Ruta idr. 2010. »Essential Oils, Genetic Relationships and in vitro Establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don spp. italicum from Wild Mediterranean Germplasm.« *Industrial Crops and Products* 32 (3): 639–649.
- Nie, Z., V. Funk, H. Sun, T. Deng, Y. Meng in J. Ween. 2013. »Molecular Phylogeny of *Anaphalis* (Asteraceae, Gnaphalieae) with Biogeographic Implications in the Northern Hemisphere.« *Journal of Plant Research* 126 (1): 17–32.

- Ninčević, T., M. Jug-Dujaković, M. Grdiš idr. 2021. »Population Structure and Adaptive Variation of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Along Eastern Adriatic Temperature and Precipitation Gradient.« *Scientific Reports* 11:24333.
- Perrini, R., V. Alba, C. Ruta, I. Morone-Fortunato, A. Blanco in C. Montemurro. 2009. »An Evaluation of a New Approach to the Regeneration of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, and the Molecular Characterization of the Variation Among Sets of Differently Derived Regenerants.« *Cellular and Molecular Biology Letters* 14 (3): 377–394.
- Rajendrakumar, P., A. K. Biswal, S. M. Balachandran, K. Srinivasarao in R. M. Sundaram. 2007. »Simple Sequence Repeats in Organellar Genomes of Rice: Frequency and Distribution in Genic and Intergenic Regions.« *Bioinformatics* 23 (1). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl547>.
- Sabetta, W., C. Montemurro, R. Perrini, I. Morone-Fortunato in A. Blanco. 2006. »Genetic Diversity Assessment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Mediterranean Germplasm by AFLP Markers.« V *Proceedings of the 50th Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress*. Società Italiana di Genetica Agraria.
- Taheri, S., T. L. Abdulah, M. R. Yusop idr. 2018. »Mining and Development of Novel SSR Markers Using Next Generation Sequencing (NGS) Data in Plants.« *Molecules* 23 (2): 399.
- Van Rossum, F., C. Godé, A. Baruca Arbeiter idr. 2024. »Genetic Diversity Assessment of *Helichrysum arenarium* (Asteraceae) for the Genetic Restoration of Declining Populations.« *Ecology and Evolution* 14 (2): e10953.
- Varshney, R. K., A. Graner in M. E. Sorrells. 2005. »Genic Microsatellite Markers in Plants: Features and Applications.« *Trends in Biotechnology* 23 (1): 48–55.
- Vieira, M. L. C., L. Santini, A. L. Diniz in C. F. Munhoz. 2016. »Microsatellite Markers: What They Mean and Why They Are so Useful.« *Genetics and Molecular Biology* 39 (3): 312–328.
- Wöhrmann, T., in K. Weising. 2011. »In Silico Mining for Simple Sequence Repeat Loci in a Pineapple Expressed Sequence Tag Database and Cross-Species Amplification of EST-SSR Markers Across Bromeliaceae.« *Theoretical and Applied Genetics* 123 (4): 635–647.
- Zalapa, J. E., H. Cuevas, H. Zhu idr. 2012. »Using Next-Generation Sequencing Approaches to Isolate Simple Sequence Repeat (SSR) Loci in the Plant Sciences.« *American Journal of Botany* 99 (2): 193–208.

3

Pridelava laškega smilja

Dunja Bandelj

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Matjaž Hladnik

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

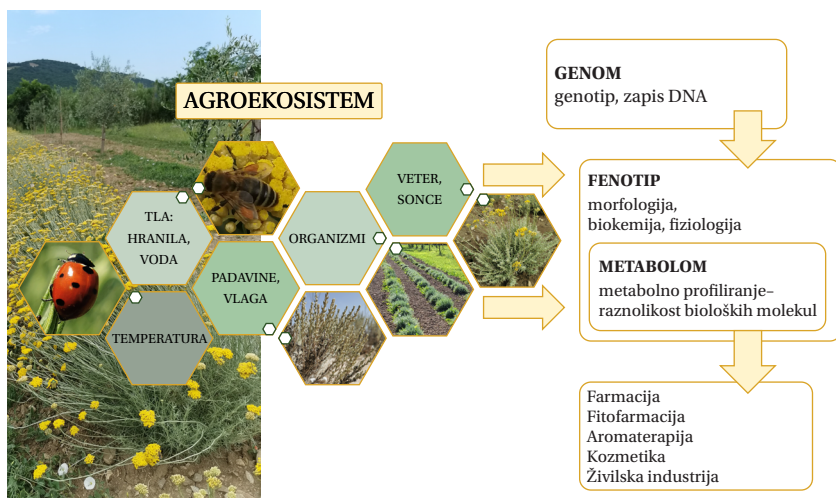


© 2025 Dunja Bandelj in Matjaž Hladnik

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.3>

Agroekološke zahteve laškega smilja

Laški smilj je prostorastoča rastlina v naravi, ki je zaradi vsestranske uporabe nedavno prešla v kmetijski prostor (agroekosistem). Prenos rastline iz naravnega okolja v kmetijsko predstavlja izziv, saj se ekosistema razlikujeta v strukturi in delovanju. Za naravni ekosistem so značilni visoka habitatna heterogenost, vrstna in genetska pestrost, zaprt krogotok hranil in odpornost na vplive abiotskih (neživih) ter biotskih (živih) dejavnikov. Na populacije vplivajo razmere v okolju in tekmovanje med organizmi. Agroekosistem je poenostavljen in ranljiv, vanj posega človek. Za agroekosisteme sta značilna slabše kroženje in izguba hranil, biološka raznolikost je manjša, trofične ravni so poenostavljene, mnoge niše ostanejo nezasedene, obstaja velika nevarnost pojava patogenov in škodljivcev (Gliessman 2014). S pomočjo poznavanja agroekologije se poskuša v kmetijstvu čim bolj posnemati naravne ekosisteme in pridelavo izvajati z minimalnimi vložki. Gospodarski uspeh pridelave laškega smilja bo odvisen od upoštevanja njegovih ekoloških zahtev. Lego nasada zato izberemo glede na primernost ekoloških dejavnikov za rastlino (slika 1) in ne obratno, saj dejavnike okolja težko ali jih ne moremo spreminjati. Omenjeni pristop je glavno vodilo agroekologije. Neprimerne lege višajo stroške priprave terena in pridelave, tvegamo pa tudi večji napad bolezní in škodljivcev. Običajno dejavniki okolja delujejo hkrati in v interakciji vplivajo na rast, razvoj ter pridelek rastline.



Slika 1 Prikaz ekoloških dejavnikov v agroekosistemu, ki vplivajo na fenotip in posledično na metabolom izvlečkov laškega smilja

Svetloba

Sončna svetloba je primarni vir energije v ekosistemih, ki jo rastline prestrežejo s fotosintetskim aparatom in s fotosintezo pretvorijo v kemijsko energijo, ki se vgradi v biomaso oz. organske spojine rastline. Svetloba, ki neposredno vpliva na rastline, vključuje ultravijolično svetlobo (UV), vidni spekter (400 in 760 nm) ter nevidni infrardeči spekter (IR) (800 in 3000 nm). UV v interakciji z vidnim spektrom pospešuje tvorbo rastlinskih pigmentov iz skupine antocianov, svetlobna energija vidnega spektra pa je pomembna za fotosintezo rastlin. Infrardeča svetloba vpliva na hormone, ki so vključeni v kalitev in regulirajo odziv rastline na dolžino dnevnne svetlobe, medtem ko svetloba z valovno dolžino nad 3.000 nm segreva (Gliessman 2014). Kakovost, intenziteta in čas trajanja fotosintetsko aktivne svetlobe so ključnega pomena za rastlino.

Laški smilj je izrazito heliofilna rastlina, zato so zanj primerne le dobro osončene lege. Osvetlitev omogoča tudi primerna sadilna razdalja med vrstami in v vrsti. Nepravilna izbira lege in slaba osvetljenost nasada bosta negativno vplivali na vegetativno prirast, slabši bo razvoj cvetnih poganjkov in pričakovati je časovni zamik v fenoloških fazah. Ker sekundarni presnovki nastajajo kot odgovor na dejavnike iz okolja, se lahko spremeni tudi sinteza nekaterih sekundarnih presnovkov. V senčnih legah se lahko poveča tudi tveganje za razvoj glivičnih obolenj ali razmnoževanje škodljivcev.

Temperatura

Temperatura neposredno vpliva na rast in razvoj rastlin. Rastline imajo omejitve, zato so razvile različne tolerance na ekstremno nizke ali visoke temperature. Pri izbiri lokacije je treba preučiti povprečne dnevne temperature, razlike v temperaturi med dnevom in nočjo ter letnimi časi. Pomembno je pridobiti tudi podatek o pogostosti ekstremno visokih ali nizkih temperatur. Na temperaturo, vlažnost zraka in prisotnost vetrov vplivata tudi topografija ter bližina vodnih površin, gozda ali urbanega naselja. Učinki visokih temperatur na rastline so rezultat kompleksne interakcije procesov v rastlini. Rastline izgubljajo vodo, poveča se propustnost membran, pojavijo se motnje v transportu, zaradi inaktivacije encimov in drugih pomembnih beljakovin se zmanjša presnovna aktivnost, hkrati pa se lahko tvorijo presnovki, s katerimi rastlina poskuša kljubovati stresu. Ta proces je za rastlino energetsko potraten. Če dihanje rastline preseže aktivnost fotosinteze, se rast ustavi. Vztrajanje previsokih temperatur lahko vodi v celično smrt, ki jo na rastlini opazimo v obliki kloroz in ožigov (Bandelj in Baruca Arbeiter 2020). V večini primerov je funkcija listov oslabiljena pri temperaturi 42 °C, letalne temperature pa so med 50 in 60 °C. Rastline so za presežek temperatur razvile številne prilagoditve, kot so manjši, svetlejši, beli do sivi listi, ki odbijejo svetlobo in absorbirajo manj toplote, dlakavost, vertikalna orientacija listov ter obsežnejši koreninski sistem, ki omogoča večjo absorpcijo vode. Tudi nizke temperature vplivajo na rastlino. Pri padcu temperature se presnova upočasni in rastlina preide v mirovanje. Pri padcu temperature pod ledišče se v citoplazmi celic formirajo kristali, ki poškodujejo membrane in celične organele. Poškodbe celic in tkiv so odvisne od trajanja nizke temperature, hitrosti ohlajanja ozračja ter spremljajočih dogodkov (Gliessman 2014).

Posebnih raziskav, ki bi poročale o idealnih temperaturah za gojenje laškega smilja, ni na voljo. Laški smilj zelo dobro tolerira širok razpon temperatur, saj uspeva na morski obali pa vse do 800 m (Ciccarelli idr. 2016) oz. 1.700 m nadmorske višine (Melito idr. 2016). Uspeva tudi na območjih s snežno odejo, kjer le-ta deluje kot toplotni izolator z vzdrževanjem konstantne temperature. Visoke temperature mu ne povzročajo težav, ker je nanje prilagojen in uspeva v zelo vročih, suhih poletjih z močnim sončnim sevanjem. Taka rastišča so značilna za peščene sipine in obalne klife v Sredozemlju, kjer so pogoji za rast izredno ekstremni zaradi plitvih in s hranili siromašnih tal, pomanjkanja vode, intenzivne sončne svetlobe, pršenja morske vode in povečane koncentracije soli ter močnega vetra (Ciccarelli idr. 2016).

Padavine in vlaga

Padavine so v sredozemskem okolju najpomembnejši omejitveni dejavnik okolja v kmetijski pridelavi. Pri načrtovanju lokacije nasada je treba preučiti povprečno letno količino padavin, razporeditev, periodičnost, intenziteto, čas trajanja ter dostopnost vode rastlinam. V Sloveniji je v zadnjih dveh desetletjih možno zaznati spremembe v padavinskem režimu. Razporeditev padavin skozi leto ne sledi več običajnemu vzorcu jesensko-zimskih in spomladanskih viškov, temveč so padavine časovno nepredvidljive. Pogosto jih primanjkuje izven rastne dobe. Te padavine so za kmetijsko pridelavo pomembne, saj ustvarijo vodne rezerve v tleh za poletni čas, ko padavin običajno ni. Ker pa je laški smilj prilagojen na pomanjkanje vode, poletna suša nanj ne vpliva. Na Korziki, denimo, kjer obdelujejo preko 100 ha površin laškega smilja, so rastline v rastni dobi izpostavljene dolgemu sušnemu obdobju, vendar rastlin ne namakajo. Podobno velja za slovenske razmere. S tega vidika je laški smilj rastlina, primerna za območja, ki so izpostavljena dolgotrajni suši. Obratno pa območja z veliko padavin, v kombinaciji s težkimi, slabo odcednimi tlemi, negativno vplivajo na rast in razvoj rastlin. V težkih in mokrih tleh se ustvarijo ugodne razmere za razrast talnih gliv, ki zamašijo prevodni sistem in uničijo rastline.

Prilagodljivost laškega smilja na sušni stres potrjujejo tudi raziskave. Tonka Ninčević idr. (2021) so z analizo genetske raznolikosti in podnebnih dejavnikov na vzhodni jadranski obali ugotovili, da je imel sušni stres najverjetneje pomembno vlogo pri prilagajanju na okolje in oblikovanju genetske raznolikosti populacij jadranskega laškega smilja. Carla Cesaraccio idr. (2004) so pri preučevanju vpliva suše na fenološke faze *H. italicum* ugotovili, da v neugodnih, sušnih razmerah rastlina prekinе vegetativno rast. Ker je laški smilj predstavnik sušnih, polzimezelenih rastlin, se okolju s pomanjkanjem vode prilagaja z odpadanjem oz. s sušenjem listov, s čimer zmanjšuje celotno listno površino, zato uporablja strategijo izogibanja (Ciccarelli idr. 2016). Laški smilj ima tudi zelo plitke korenine, kar mu omogoča, da prestreže zračno vlago in roso, ki nastane na tleh ponoči in predstavlja pomemben vir vode v okoljih, kjer le-te primanjkuje (Antunes idr. 2018). Sušni stres v sredozemskem podnebjū navadno spremljajo visoke temperature in višja raven sončnega sevanja, ki skupaj povzročajo fotoinhibicijo (zmanjšanje fotosintetske aktivnosti, pri čemer rastlina ne porablja več ogljikovega dioksida, ampak zaradi celičnega dihanja porablja le kisik in proizvaja ogljikov dioksid) in fotooksidacijo (oksidacija, ki jo povzroči svetloba in vodi do nastanka

hidroperoksidov), ki prispevata k nastanku reaktivnih kisikovih spojin, ter fotorespiracijo (svetlobno dihanje), ki ščiti fotosintetski aparat pred fotoinhibicijo (Zhang idr. 2016). Rastline poskušajo to uravnovežiti s sintezo neencimatskih in encimatskih spojin, sekundarnih presnovkov/antioksidantov/osmoprotektorjev, s katerimi se inducira fiziološka in molekularna obramba (Caser idr. 2016). Spojine ščitijo celične membrane in proteine v obdobju pomanjkanja vode ter reaktivnim kisikovim spojinam preprečujejo, da bi uničile fotosistem v kloroplastih, kjer na tilakoidnih membranah poteka fotosinteza (Bandelj in Baruca Arbeiter 2020).

Raziskav, ki bi natančneje opisale fiziološke in biokemijske odzive laškega smilja na sušo, zaenkrat ni na voljo. So pa raziskave sorodne vrste *Helichrysum petiolare* pokazale, da močan stres zaradi pomanjkanja vode drastično zniža suho maso nadzemnega in podzemnega dela, vsebnost klorofila in karotenoidov, vodni potencial listov, učinkovitost rabe vode, stopnjo transpiracije, stomatalno prevodnost, neto stopnjo fotosinteze in antioksidativno delovanje. Zmerni sušni stres pa je povzročil le majhne spremembe v fiziologiji. Vplival je na povečanje količine monoterpen-skih ogljikovodikov in oksigeniranih seskviterpenov, kar Caser idr. (2016) ocenjujejo kot pozitivno, saj te spojine bogatijo rastlinske izvlečke.

Laški smilj samoniklo v naravi uspeva v zelo suhem in tudi vlažnem okolju ob morju. Relativna zračna vlaga zraka bo v agroekološkem sistemu imela bistveno večji vpliv. Več vlage lahko pričakujemo v nasadih v priobalnem pasu in v nižjih legah ter v bližini gozda. Čeprav posebnih raziskav za laški smilj ni na razpolago, lahko iz izkušenj v kmetijstvu predvidevamo, da povečana vlaga povečuje možnost pojava glivičnih okužb, zato za laški smilj v vsakem primeru svetujemo izbiro prevetrene lege.

Veter

Veter ni vedno prisoten ekološki dejavnik. V agroekosistemu je pomemben, saj vpliva na razporeditev toplote in prispeva k regulaciji zračne vlage. Njegov vpliv je odvisen od jakosti in časa trajanja. Na območjih s konstantnimi vetrovi (bližina morja, gorovja) je pričakovati močnejši vpliv. Prisotnost rahlega vetra v pridelovalnih sistemih zmanjšuje vlago in tako preprečuje širjenje patogenih gliv. Prav tako veter v nasadu znižuje temperaturo in blaži vpliv močnega sončnega sevanja. Pri rastlinah ima vpliv na dinamiko odpiranja in zapiranja listnih rež pri transpiraciji. Posledično določa status vode v rastlini, večje izgube nastajajo pri hitrosti vetra nad 10 km/h. Rastlina izgubo kompenzira z vlekom vode iz tal in s premeščanjem vode iz koreninskega sistema v liste. Pretirana izguba



Slika 2

H. italicum subsp. *tyrrhenicum* na jugu Korzike

vode lahko vpliva na fotosintezo in privede do počasnejše rasti (Bandelj in Baruca Arbeiter 2020; Gliessman 2014).

Zaradi močnega vetra lahko rastline laškega smilja pred žetvijo poležejo, zato je lahko spravilo pridelka nekoliko težavnejše. V naravi laški smilj uspeva na obali, ki je zelo izpostavljena ostrim pogojem z močnimi vetrovi (npr. rt Kamenjak na istrskem polotoku), zato laški smilj močan veter tolerira. V nekaterih primerih pa lahko opazimo tudi rastline nižje, pritlikave rasti, kar je ena od prilagoditev ostrim pogojem. Take rastline laškega smilja uspevajo na kamnitih in peščenih sipinah obale na jugu Korzike, ki so taksonomsko uvrščene v podvrsto *tyrrhenicum* (slika 2).

Tla

Tla so kompleksna, živa, spreminjajoča se in dinamična komponenta agroekosistema. Z razpoložljivostjo tehnologij v današnji kmetijski praksi, ki se poslužuje mehanske in kemijske obdelave tal, se lahko hitro spreminja razmere v tleh. Tla se običajno obravnava kot medij za rast rastlin in se kompleksnim ekološkim procesom namenja premalo pozornosti. V zadnjem obdobju se raziskave na tem področju usmerjajo v preučevanje mikrobne združbe, ki ima ključno vlogo pri regulaciji bioloških, kemijskih



Slika 3

Rastišče laškega smilja na granitni podlagi na Korziki

in fizioloških procesov vzpostavljanja ter ohranjanja rodovitnosti tal. Pomembni dejavniki so tekstura, struktura, gostota, poroznost, prisotnost zraka in vode v tleh, pH tal, vsebnost hranil in organske snovi ter biotska pestrost v tleh (Bandelj in Baruca Arbeiter 2020).

Laški smilj uspeva na apnenčasti, granitni (slika 3) ali vulkanski podlagi. Bianchini idr. (2009) so preučevali vpliv parametrov tal na sestavo eteričnega olja laškega smilja na Korziki. Ugotovili so velik vpliv teksture in kislosti. Vsebnost anorganskih spojin (Ca, Na, Fe, Mn, Zn, Cu, N, P, Mg, K) v tleh je imela nekoliko manjši vpliv na sestavo eteričnega olja. Pozitivno korelacijo so ugotovili za Zn in Mn z monoterpenskim ogljikovodiki. Ugotovili so povezanost vsebnosti neril-aceteta z relativno nizko kislostjo, nizkim odstotkom gline, finega peska in grobega melja oz. visokim odstotkom grobega peska in drobnega melja. Avtorji poudarjajo, da je sestava eteričnega olja lahko odvisna tudi od sončnega sevanja, razpoložljivosti vode oz. drugih ekoloških dejavnikov, ki pa niso bili predmet omenjene raziskave.

Laški smilj je prilagojen na siromašna tla z minimalno vsebnostjo hranil (Pohajda idr. 2015), uspeva pa tudi v pesku (slika 4). Ines Pohajda idr. (2015) menijo, da kislota tla niso primerna za sajenje laškega smilja, gojenje



Slika 4

Peščeno rastišče *H. italicum* subsp. *tyrrhenicum* na jugu Korzike

pa se lahko načrtuje v karbonatnih, dobro odcednih, lahkih, peščenih, plitkih in ilovnatih tleh. Po izkušnjah UP FAMNIT so srednje težka tla lahko že mejna, saj se tako kot pri težkih tleh lahko pojavijo okužbe s talnimi glivami, ki največkrat vodijo v postopno propadanje rastlin. Laškega smilja zato ne sadimo v tla, ki so slabo propustna in se v njih zadržuje voda. V slovenskih razmerah se nasadi laškega smilja nahajajo večinoma na lažjih in srednje težkih tleh v slovenski Istri ter na Krasu.

Kar nekaj raziskav je bilo opravljenih na področju onesnaženosti tal in vpliva le-teh na laški smilj. V Toskani (Italija) so Bini idr. (2016) preučevali vpliv tal, onesnaženih z nekaterimi težkimi kovinami (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) na rastline laškega smilja. Z mikroskopsko analizo listov so ugotovili, da se pri rastlinah pojavijo spremembe v organizaciji celic. Žlezni trihomi rastlin z onesnaženega območja so deformirani, saj imajo popolnoma drugačno morfologijo. Sestavljeni so samo iz daljšega peclja, ki ga tvorijo 3–4 celice in na vrhu katerega je ena izločalna celica. Tudi palisadno tkivo je manj organizirano in zmanjšana je debelina listov. Bini idr. (2016) menijo, da rastline po strukturi celic kažejo na določeno stopnjo odpornosti, zato bi se lahko laški smilj uporabljal za projekte remediacije tal. Podobno je pokazala tudi raziskava na Sardiniji. Rastline laškega

smilja, ki rastejo na onesnaženih tleh, akumulirajo bistveno več Cd, Ni, Pb in Zn kot rastline, ki rastejo na neonesnaženih tleh, pri Cu pa niso odkrili bistvenih razlik. Rastline so zaradi povišanih koncentracij težkih kovin za ekstrakcijo neprimerne, lahko pa se uporabijo za fitoremediacijo, saj so večinoma tolerantne, predvsem za Cd, Pb in Zn (Greggio idr. 2022).

Razmnoževanje in priprava sadilnega materiala

Za vzpostavitev nasada je treba izbrati sadilni material s preverjeno taksonomsko identiteto in zdravstvenim stanjem ter z ustreznimi kemijskimi karakteristikami glede na cilj gojenja. Pri taksonomski klasifikaciji moramo biti pozorni na informacijo o vrsti in podvrsti. Od ponudnika zahtevamo informacije o izvoru in o njegovi sledljivosti, še posebej v primeru, če nismo usposobljeni za morfološko ločevanje podvrst ali vrst (Bandelj idr. 2020).

Na trgu je veliko ponudnikov sadik in semen in v praksi so se že pojavili primeri, ko kljub deklaraciji o vrsti, potrjeni s strani certifikacijskega organa, taksonomska identiteta ni bila pravilna. Pojav smo zaznali tudi na UP FAMNIT, ko smo kupili certificirano seme vrste *H. italicum*, v nasadu pa opazili odstopanja v morfologiji in vsebnosti eteričnega olja. Z genetskim profiliranjem DNA smo ugotovili, da gre za popolnoma drugo vrsto (*Helichrysum litoreum*) (Baruca Arbeiter idr. 2021; Hladnik idr. 2023), ki zaradi izjemno nizke vsebnosti eteričnega olja in drugačnega vonja ni ustrezala namenu pridobivanja eteričnega olja. V fazi razvoja sadik iz semen in sajenja mladih rastlin ni bila možna identifikacija vrste, saj rastline še niso bile dokončno morfološko razvite. V takih primerih lahko pride do ogromne gospodarske škode s finančnimi posledicami, še posebej če z napačnim sadilnim materialom zasadimo večjo površino nasada. O podobnem primeru poročajo tudi na Hrvaškem (Baruca Arbeiter idr. 2021). Dobra praksa, ki bi jo veljalo vpeljati v drevesnice, je kontrola identitete vrste z označevalci DNA, ki bi jo lahko opravljale inštitucije s kompetencami in z znanjem za genetsko profiliranje rastlin. Na podlagi izkušenj in raziskovanja genskih virov laškega smilja agronomi svetujemo izbor podvrste, ki uspeva prosto v naravi geografskega območja, kjer je nasad načrtovan. Običajno so nativni genski viri dobro prilagojeni na ekološke razmere svojega okolja in zato se pričakuje, da bodo uspešni tudi v pridelavi. Če se nasad načrtuje v Sloveniji, je zaradi geografske bližine in podobnosti podnebnih razmer najbolje pridobiti rastline, ki izvirajo iz severovzhodne obale Jadranskega morja oz. istrskega polotoka ali severnega Jadrana. Na trgu so zaradi prostega trgovanja

s sadilnim materialom v Evropski uniji razpoložljive tudi sadike iz držav, kjer laški smilj ni nativen (npr. sadike iz Nemčije, Avstrije, Velike Britanije). Tudi anketiranje v okviru Ciljno raziskovalnega projekta V4-2207 Možnosti razvoja zeliščarstva v Sloveniji (2022–2024) slovenskih pridelovalcev smilja je pokazalo raznolikost porekla sadilnega materiala. Večina (48 %) pridelovalcev je sadike laškega smilja kupila v Sloveniji, sledijo Italija in Hrvaška (vsaka z 11 %) ter Avstrija (7 %), medtem ko imajo posamezne kmetije sadike s Korzike in iz Nemčije. Poleg tega je večina pridelovalcev (70 %) sadike kupila, 19 % pa jih je poročalo o lastni proizvodnji. V primeru nepoznavanja natančnega geografskega izvora sadilnega materiala se svetuje predhodno testiranje v slovenskih ekoloških razmerah. Preizkušanje potenciala rastlin v introdukcijskem nasadu, kjer se ugotavlja uspešnost rastlin v domačem okolju, je osnovna dobra praksa v kmetijstvu. Vrednotenje tujih genskih virov običajno poteka več zaporednih let, z namenom, da se izniči vpliv variabilnosti zaradi vremenskih razmer ter da se ugotovi, kako bodo izbrane agronomske tehnologije vplivale na rast in razvoj, cvetenje, vsebnost in kemijsko sestavo eteričnega olja ter katere bolezni ali škodljivci bi lahko potencialno ogrozili pridelavo. Preizkušanje potenciala rastlin je potrebno tudi v primeru, če si sadilni



Slika 5 Preizkušanje potenciala in izbira najboljših rastlin laškega smilja za pridelavo potekata v več korakih

material zagotovimo sami z nabiranjem semen ali rezanjem potaknjencev v naravi. Koraki preizkušanja potenciala rastlin v introdukcijskem nasadu so prikazani na sliki 5.

Razmnoževanje laškega smilja lahko poteka generativno s semeni ali vegetativno s potaknjenci. Mnogi zeliščarji se poslužujejo nabiranja semen in poganjkov za potaknjence v naravi ter domače vzgoje sadik. V Sloveniji smo dolžni za odvzem iz narave pridobiti dovoljenje v primeru, ko gre za ogrožene prostoživeče rastlinske vrste, ki so zavarovane z Uredbo o zavarovanih prosto živečih rastlinskih vrstah (2004). Sestavni del uredbe je tudi priloga, v kateri so določene vse ogrožene in mednarodno varovane rastlinske vrste, vendar laški smilj ni uvrščen na seznam zavarovanih rastlinskih vrst na območju Slovenije, kar je pričakovano, saj pri nas trenutno ni evidentiranih populacij ali naravnih rastišč laškega smilja. Slednje pomeni, da v naravi ni možno pridobiti razmnoževalnega materiala.

V primeru nabiranja sadilnega materiala v naravi v drugi državi je treba upoštevati nacionalno in mednarodno zakonodajo oz. uredbe, ki urejajo dostop do genskih virov. Evropska unija se je pravno zavezala k Nagojskemu protokolu h Konvenciji o biološki raznovrstnosti, ki ureja pošteno in pravično delitev uporabe genskih virov. Konvencija o biološki raznovrstnosti priznava suverene pravice držav do njihovih naravnih virov. Pogodbenice protokola so pristojne za odločanje o tem, ali želijo urediti dostop do svojih genskih virov in določiti pogoje za delitev koristi, ki izhajajo iz uporabe genskih virov (»Dostop do genskih virov in delitev koristi, ki izhajajo iz njihove uporabe (Nagojski protokol)« 2020).

Na Hrvaškem je laški smilj uvrščen na listo zaščitene rastlin (Pravilnik o proglaševanju divljih svojti zaščičenim i strogo zaščičenim 2009, Priloga III), zato je za njegovo nabiranje za namene destilacije ali trženja potrebno dovoljenje, ki ga izda Ministrstvo za varstvo okolja in narave. Dovoljenje lahko izdajo samo za lokacije, kjer rastline niso ogrožene (Pohajda idr. 2015), in prav tako natančno definirajo količino rastlinskega materiala, ki se ga lahko nabere. V primeru, če se odloči za pridobitev razmnoževalnega materiala v drugi državi, je treba glede tam veljavne zakonodaje in regulativnih zahtev o dostopu ter delitvi koristi od rabe genskih virov kontaktirati tamkajšnjo nacionalno kontaktno točko za izvajanje Nagojskega protokola. Glede na zahtevno regulacijo prenosa sadilnega materiala med državami se svetuje, da se sadilni material zagotovi pri uradnih slovenskih dobaviteljih.

Pri nenadzorovanem prenosu rastlin iz druge države se je treba zavedati tveganj vnosa rastlinskih patogenov, ki lahko ogrozijo celotno rastlinsko

pridelavo v Sloveniji, zato se tak način vnosa v državo odsvetuje. Nepoznavalci fitopatologije in entomologije običajno niso pozorni na znake okužb, po drugi strani pa rastline, ki se jih prenaša, morda ne kažejo znamenj okužb in se le-te pokažejo šele kasneje v pridelavi. Zato je zelo pomembno, da rastline pregleda fitopatolog. Fitosanitarno spričevalo se dosledno zahteva za rastline, ki izhajajo iz držav izven EU (Finančna uprava Republike Slovenije 2022), pri prenosu znotraj EU pa le za tiste rastlinske vrste, kjer je visoko tveganje v zvezi z določenimi škodljivimi organizmi. Tak primer je bakterija *Xylella fastidiosa*, ki povzroča propad številnih rastlin, med njimi citrusov, oljk (bakterijski ožig oljk) in trte, zato so te rastline pri prenosu znotraj EU ustrezno pregledane in spremljane. Gostiteljske rastline te bakterije pa so številne aromatične rastline, med njimi tudi laški smilj, zato je vsakršno nekontrolirano vnašanje v državo zelo tvegano. Do leta 2010 se je bakterija pojavljala samo v severni in južni Ameriki, v Aziji (Tajvan) so jo odkrili leta 2013, na sredozemskih vrstah in v urbanem okolju pa so jo v Evropi odkrili v Španiji, Italiji, Franciji in na Portugalskem (EPPO Global Database: <https://gd.eppo.int/>). S tega vidika je torej zelo pomembno, da se rastlinskega materiala ne prenaša z okuženih območij (Bandelj idr. 2024). V primeru prenosa rastlinskega materiala znotraj EU za potrebe trgovanja pa je treba upoštevati predpise, določene z zakonodajo EU, pri čemer mora biti rastlinski material opremljen z rastlinskim potnim listom.

Načini razmnoževanja laškega smilja

Generativno razmnoževanje

Seme laškega smilja je zelo drobno, podolgovate oblike in črne barve. V enem gramu je običajno od 3.300 do 3.700 semen (Pohajda idr. 2015). Po izkušnjah UP FAMNIT je kaljivost kupljenega semena približno 50-odstotna, podatki o kaljivosti semena iz narave pa niso razpoložljivi. Rastline, ki so razmnožene s semenom, razvijejo generativni koreninski sistem, ki ga tvorijo glavna in stranske korenine. Običajno so rastline odpornejše na sušo, saj koreninski sistem prodira globlje v talni profil. Pri vzgoji sadik iz semen se seme poseje v kakovosten substrat, za 1 m² zadostuje 0,5 g semena. Tako se pridobi od 300 do 400 sadik, ki so po treh mesecih primerne za saditev na prostem (Pohajda idr. 2015). Pri razmnoževanju laškega smilja s semenom se pričakuje izjemno heterogenost in raznolikost rastlin. Vzrok sta navzkrižna oprašitev in oplodnja ter posledično edinstvena garnitura genov v vsaki posamezni rastlini (Bandelj idr. 2020). Rastline, vzgojene iz semena, bodo v nasadu neizenačene, kar ima

lahko določene prednosti, kot npr. možnost različne odpornosti na biotske ali abiotske dejavnike. Po drugi strani pa se lahko neizenačenost kaže v različnih kemotipih posameznih rastlin in časovno različnem nastopu posameznih fenofaz.

Vegetativno razmnoževanje

Za pripravo večjih nasadov laškega smilja se svetuje izbiro vegetativno razmnoženih sadik, ki omogočajo pridelavo stabilnega pridelka z izenačenimi kakovostnimi lastnostmi. Vegetativno razmnožene sadike se pripravi iz poganjkov matičnih (izvornih) rastlin, ki morajo biti popolnoma zdrave. Potaknjence se pripravlja v zaščitenem prostoru. Za njihovo pripravo se vzame letošnje poganjke z grmičkov, ki imajo dobro razvit in olesenel bazalni del. Poganjke se nareže na dolžino od 4 do 6 cm. V spodnjem delu se liste odstrani, na zgornjem pa liste pustimo. Po izkušnjah UP FAMNIT tretiranje s hormoni za pospešitev razvoja korenin ni potrebno. Pripravljene poganjke se nato potika v kakovosten substrat. Potaknjencem je treba zagotoviti dovolj vode, visoko relativno zračno vlago in primerno osvetlitev. Ko rastline dobro razvijejo koreninski sistem in primerno odženejo, se jih presadi v lončke. Potaknjence se lahko pripravlja v spomladanskem in jesenskem času. Celoten proces razmnoževanja v zaščitenem prostoru poteka od štiri do pet tednov (Pohajda idr. 2015). Na UP FAMNIT smo v letu 2024 izvedli poskus razmnoževanja sedmih različnih genotipov – križancev laškega smilja. Iz matičnih rastlin smo pridobili potaknjence, ki so bili brez predhodnega tretiranja s hormoni vloženi v kakovosten substrat. Preživetje (in koreninjenje) klonov je bilo odvisno od genotipa; najnižje ugotovljeno preživetje rastlin je znašalo le 16,7 %, najvišje pa 90,5 %.

Razmnoževanje s tkivnimi kulturami

Laški smilj se dobro odziva tudi v tkivni kulturi. V tem primeru gre za vzgojo rastlinskega materiala *in vitro*, v sterilnih razmerah na definiranih trdih ali tekočih hranilnih podlagah ali gojiščih. Zaradi dela v sterilnih razmerah je možnost prenosa okužb s patogeni manjša v primerjavi z drugimi načini razmnoževanja. Z mikropropagacijo, kot imenujemo hitro *in vitro* razmnoževanje rastlin s pomočjo tehnik tkivnih kultur, lahko v laboratoriju vzgojimo veliko število rastlin. Za izvorni material za vzpostavitev tkivne kulture uporabimo apikalne (terminalne) in aksilarne (lateralne ali stranske) brste. Preden se poganjke razreže na izsečke (deli poganjka z enim ali več kolenci), jih je treba najprej temeljito razkužiti.

Izsečke se pripravi v sterilnih pogojih, v brezprašni komori, ter se jih namesti v pripravljeno sterilno gojišče. Gojišče poleg drugih komponent vsebuje makro- in mikrohranila, vitamine in hormone oz. rastne regulatorje, ki v fazi vzpostavitve tkivne kulture in razmnoževanja uravnava-jo rast poganjkov, v kasnejši fazi (faza koreninjenja) pa razvoj korenin. Poskusi mikropropagacije so pokazali, da sta za laški smilj primerna oba medija, MS (Murashige in Skoog) in DKW (Driver in Kuniyuki), ki so jima dodali različne citokinine v koncentraciji 5 μM (benzilaminopurin (BAP), kinetin ali zeatin), 0,005 μM avksina indol-3-maslene kisline (IBA), 30 g/L saharoze in 6,5 g/L agarja. Najvišji delež rastlin sta Nataliya Dimitrova in Lilyana Nacheva (2018) dobili z medijem DKW ob dodatku 5 μM kinetina. Koreninjenje je potekalo v gojišču MS s polovično količino makroelementov in z dodanim avksinom, ki je bil tokrat v višji koncentraciji v primerjavi s predhodnim gojiščem (0,1 mg/L ali 0,2 mg/L), in sicer IBA ali naftalenocetno kislino (angl. *Naphthaleneacetic acid* – NAA). Visok delež koreninjenja so dosegli na vseh testiranih medijih. Skoraj 100-odstotno koreninjenje so zabeležili pri kontrolnem gojišču brez dodanega rastnega regulatorja, vendar pa je dodatek IBA ali NAA pripomogel k večjemu številu korenin pri posamezni rastlini (razen v primeru gojišča z 0,2 mg/L NAA, pri katerem je bilo število korenin manjše v primerjavi s kontrolo) ter k višjim rastlinam (Dimitrova in Nacheva 2018). Rastlinski material, poganjke in ukoreninjene rastline se goji v rastni komori, kjer je možna regulacija dolžine osvetlitve (fotoperioda), temperature, valovne dolžine in intenzitete svetlobe. Po štirih tednih poganjki običajno dosežejo dolžino 3–4 cm in razvijejo pet do šest kolenc. Ko rastline razvijejo koreninski sistem, se jih posadi v lončke s substratom in sledi faza aklimatizacije v rastlinjaku (Perrini idr. 2009).

Različne načine razmnoževanja laškega smilja so preučevali tudi Asya Kozhuharova idr. (2019), ki so za gojenje *in vitro* kot začetni material uporabili semena in vršičke poganjkov ter potaknjence za hidroponsko razmnoževanje. V začetni fazi, po nanosu semen in izsečkov na gojišče, so ugotovili visoko stopnjo kontaminacije z mikroorganizmi, saj je preživelole 55,8 % semen in večina izsečkov je propadla zaradi nekroz ali prisotnosti gliv. Kaljivost semen so spodbudili z dodatkom giberelinske kisline (GA3) (0,1 %) in tako dosegli 24,4-odstotno kaljivost, medtem ko so kulturo vršičkov poganjkov brez okužb z glivami pridobili na gojišču z dodanim antibiotikom. Na sistemu hidroponike pa se je ukoreninilo 77,8 % potaknjencev. Oba postopka, *in vitro* in hidroponski, sta se pokazala kot učinkovita ter omogočila razmnožitev rastlinic v obdobju šestih mesecev.



Slika 6 Tkvna kultura laškega smilja in oprema za delo s tkivnimi kulturami

Od začetka razmnoževanja laškega smilja z vršički poganjkov v tkivni kulturi z metodami *in vitro* pa do razvoja cvetočih rastlin v kolekcijskem nasadu je bilo potrebnih 18 mesecev (Kozhuharova idr. 2023).

Na UP FAMNIT smo rastline laškega smilja v tkivni kulturi vzgojili iz semen. Za delo s tkivnimi kulturami je potrebna posebna laboratorijska oprema kot, denimo, brezprašna komora za delo v sterilnih pogojih (slika 6) ter rastna komora, kjer v reguliranih pogojih vzdržujemo tkivne kulture.

Priprava in oskrba nasada laškega smilja

Laški smilj se goji kot trajnico od pet do osem let (Pohajda idr. 2015), zato se je treba načrtovanja in vzpostavitve nasada lotiti skrbno. Ključna je izbira ustrezne lokacije, ki mora temeljiti na osnovi analiz okoljskih razmer in tal. Nato je treba ustrezno pripraviti tla, izdelati sadilni načrt, priskrbeti ustrezen sadilni material in sajenje izvesti z ustreznimi sadilnimi razdaljami. Z drevesnicami ali vrtnarijami se je treba pravočasno dogovoriti za dobavo in nakup sadilnega materiala.

Izbira lege z ustreznimi ekološkimi razmerami je ključen dejavnik uspešnosti pridelave. Kot je opisano v poglavju »Pridelava laškega smilja« (razdelek Agroekološke zahteve laškega smilja), so tla ključen dejavnik, zato se izbere le takšna, kjer ne prihaja do zastajanja vode. Priprava tal mora biti osredotočena na aktivnosti, ki bodo zagotovile optimalne razmere za rast in razvoj rastlin že od samega začetka. Priporoča se globlje

oranje in rahljanje talne grude spomladi ali jeseni pred sajenjem. Nujno je opraviti tudi analize tal, da se pridobi podatke o vsebnosti makro- in mikrohranil. Na osnovi kemijske analize kmetijski svetovalci pripravijo gnojilni načrt, po katerem se tla založno gnoji pred globokim oranjem. Zelišča se gojijo po ekološki shemi, zato je treba upoštevati smernice za ekološko gnojenje. Priporočljivo je tudi, da so tla predhodno obogatena z organsko snovjo, kar se lahko doseže s predhodnim gojenjem predpovseva ali podorin.

Laški smilj se običajno sadi spomladi (marec, april) ali jeseni (september, oktober). Na manjših površinah, kjer se bo laški smilj gojil za hobi in lastne potrebe, lahko sajenje poteka ročno. Na večjih površinah pa bo sajenje lažje s pomočjo strojev. Pri določanju razdalje med vrstami se upošteva tudi delovno širino strojev za obdelavo tal, ki so na razpolago. Na manjših površinah, kjer bo prevladovala ročna obdelava, se lahko sadi gosteje. Kljub temu da so priporočene razdalje med vrstami in v vrsti 0,7 m x 0,4 m (35.000 sadik/ha) ali 0,6 m x 0,3 m (55.000 sadik/ha) (Pohajda idr. 2015), pa so izkušnje UP FAMNIT pokazale, da se v treh letih rastline tako razrastejo, da je prehod med njimi med žetvijo otežen. Zato se tudi na manjših površinah priporoča razdaljo vsaj 0,7 m x 0,5 m (pribl. 28.000 rastlin/ha, 0,35 m²/rastlino, pribl. 3 rastline/1 m²). V večjih, plantažnih nasadih priporočajo razdalji 0,9 m x 0,4 m in 0,8 m x 0,4 m (Čagalj idr. 2019). Za večje nasade nad 1 ha na UP FAMNIT priporočamo razdaljo vsaj 1,0 m x 0,5 m (pribl. 20.000 rastlin/ha, 0,5 m²/rastlino, 2 rastlini/1 m²). Glede na izkušnje večjega pridelovalca laškega smilja v dolini reke Dragonce se je za primerno gostoto sajenja izkazala razdalja 1,6 m x 0,8 m (1,28 m²/rastlino, 7.800 rastlin/ha).

Sajenje spomladi bo pri mladih rastlinah zahtevalo nekoliko več pozornosti glede razpoložljivosti vode, saj so padavine v rastni dobi oz. poleti nepredvidljive in jih običajno primanjkuje, zato je suša zelo pogost pojav. V tem primeru se v prvem letu po sajenju priporoča občasno zalivanje. V jesenskem obdobju so padavine pogostejše, čeprav je lahko tudi jeseni prisotna suša, kar je posledica globalnih podnebnih sprememb in spremenjenega padavinskega režima. V vsakem primeru je treba biti pozoren, da imajo mlade rastline na začetku dovolj vode za nemoten razvoj in dobro ukoreninjenje na polju. Ker je laški smilj dobro prilagojen na aridna območja, kasnejše dodajanje vode ni potrebno, s čimer prispevamo tudi k ohranjanju dragocenega naravnega vira – vode.

Redna obdelava tal v nasadu je pomembna in upravljanje s pleveli predstavlja največji izziv. Pridelki zelišč in aromatičnih rastlin se lahko zaradi plevelov drastično zmanjšajo. Pleveli z gojenimi rastlinami tekmujejo, jim odvzemajo vodo, hranila, svetlobo in življenjski prostor. Ob neoptimalnem upravljanju plevelov lahko pride do manjših pridelkov in večjega pojava bolezni ter škodljivcev, saj so pleveli gostiteljske rastline za številne rastlinske patogene. Pleveli zmanjšujejo zeleno maso, vplivajo pa tudi na vsebnost eteričnega olja (Pala in Mennan 2022). Njihova prisotnost v požetem materialu lahko pridelek zelišč kontaminira. Primesi niso zaželene, ker lahko prisotnost posebnih presnovkov vpliva na kemijsko sestavo ali kakovost pridelka. Čeprav je bilo opravljenih nekaj poskusov zatiranja plevelov s kemičnimi sredstvi pri zeliščih, pa je zanimanje za ta pristop majhno, saj se spodbuja ekološko pridelavo in metode, kjer je uporaba kemičnih snovi prepovedana (Council Regulation (EEC) No 2092/91 1991 in Council Regulation (EEC) No 2078/92 1992). Ker običajne prakse za zmanjševanje populacije plevelov ne zadostujejo, je velik interes za razvoj učinkovitih agronomskih, bioloških ali fizikalnih metod kot alternativo kemijskim metodam (Carrubba in Militello 2013).

Pri zatiranju plevela se najpogosteje poslužuje mehanskega pristopa, kot so puljenje, okopavanje, košnja, mulčenje, osipavanje, rahljanje s prekopalniki. Nekateri pridelovalci na manjših površinah uporabljajo tudi prekrivne materiale, kot so zastirke, mulči, razne tkanine (juta), rastlinski materiali (pokošena trava, slama, žagovina ...). Zastirke iz umetnih mas – PVC-folije se zaradi ekoloških tveganj počasi umikajo iz pridelave, nadomeščajo pa jih biorazgradljive folije, ki pa so povezane z večjimi finančnimi vložki. Pri tem je treba upoštevati, da s pokrivanjem površin vplivamo na mikroklimo v nasadu, saj spremenimo vlažnost in temperaturo. Če se uporablja zastirke iz rastlinskih materialov, se lahko spremeni tudi dostopnost hranil, razgradnja rastlinskih zastirk pa lahko zaradi sproščanja spojin v okolje na zelišča deluje alelopatsko (Dias 1991). V prihodnosti bo morda zaživila uporaba bioherbicidov iz rastlin, ki lahko zaradi alelopatskih lastnosti zavirajo rast plevelov (Kostina-Bednarz idr. 2023), vendar je na tem področju potrebnih še veliko raziskav. Namesto čiste obdelave se lahko nasad zatravi in se izvaja košnja med vrstami, kar bo v primeru obilnejših padavin preprečilo erozijo in zbitost tal ter prispevalo k večji biotski raznovrstnosti rastlin in organizmov v medvrstnem prostoru. Kateri način zatiranja plevelov se izbere, je odvisno tudi od površine nasada, izbranih sadilnih razdalj in razpoložljive mehanizacije. Pomembno je, da se pleveli kontinuirano odstranjuje.

Načeloma je laški smilj nezahtevna rastlina za gojenje. V primeru čiste obdelave v nasadu (slika 7) je treba večjo pozornost nameniti oskrbi tal s hranili in z organsko snovjo. Dodajanje hranil in organske snovi se vedno načrtuje na osnovi analize tal ter izdelanega gnojilnega načrta. V ekološki pridelavi gnojenje z lahkotopnimi mineralnimi gnojili ni dovoljeno, lahko pa se uporablja gnojila, ki so v ekološki pridelavi dovoljena (organska: kompost, uležan gnoj domačih živali, kupljena organska gnojila, organski ostanki iz rastlinske predelave, gnojenje z mletimi zrni stročnic itd. ter naravna, težko topna mineralna gnojila kot npr. hypercorn ($26\% \text{P}_2\text{O}_5$) ter kalijev fosfat ($50\% \text{K}_2\text{O}$). Alternativi čisti obdelavi sta sejanje podorin, metuljnic in uporaba naravnih zastirk, ovčje volne (Kmetijsko gozdarska zbornica 2017).

V prvih dveh letih po sajenju je pomembno, da se rastline okrepijo, kar se lahko doseže z ustrezno rezjo. Priporočljivo je, da se rastline po cvetenju poreže na višino 10 cm in s tem spodbudi razrast stranskih poganjkov ter krepitev bazalnega dela rastline. V tretjem letu se lahko pričakuje že polno razvitost rastlin. V četrtem letu je običajno čas za pomladitev rastlin. Ko spodnji deli grmov začenjajo leseneti, se prirast enoletnih poganjkov



Slika 7
Nasad laškega smilja
s čisto obdelavo tal

zmanjša in potrebna je nizka rez, ki bo spodbudila odganjanje iz brstov, ki se nahajajo na olesenelih delih. Pomembno je, da se rez ne opravi prenizko proti koreninskemu vratu, temveč nad delom, kjer se nahajajo brsti. Svetuje se, da se pomladitveno rez opravi v zgodnjem spomladanskem času. Po izkušnjah UP FAMNIT ima laški smilj odlično regenerativno sposobnost ter pomladitvena, močna rez zelo dobro spodbudi rast novih poganjkov.

Varstvo laškega smilja

Podatkov s področja varstva laškega smilja je v primerjavi z drugimi kmetijskimi rastlinami manj. Po poročanju slovenskih pridelovalcev in iz pregleda literature so bile na laškem smilju v manjšem ali večjem obsegu opažene različne bolezni (preglednica 1) in škodljivci (preglednica 2).

Iz Bosne in Hercegovine, območja Hercegovine, kjer laški smilj uspeva na 1.500 hektarjih (Ostojić idr. 2018), poročajo, da so se škodljivci pričeli pojavljati sočasno s širjenjem površin (Ostojić idr. 2019). V nasadih so opazili predvsem gosenice osatnika (*Vanessa cardui* (Linnaeus, 1758)), kjer so na posamezni rastlini zabeležili tudi po več kot trideset gosenic. Ostojić idr. (2018) navajajo, da so pomembni tudi naslednji škodljivci: gosenice talnih ali zemeljskih sovč (Agrotis spp.), srebrnosivi rilčkar (*Phyllobius argentatus* (Linnaeus, 1758)) in hrušev rjavček (*Phyllobius oblongus* (Linnaeus, 1758)). Potrdili so tudi prisotnost listnih uši vrste *Macrosiphoniella helihrysi* (Remaudière, 1952) (Ostojić idr. 2019). Pregledne raziskave Ostojića idr. (2018) ter Pohajde idr. (2015) omenjajo še nekatere molje, kot npr. *Bucculatrix gnaphaliella* (Treitschke, 1833), *Eublemma minutata* (Fabricius, 1794), *Pyrausta aerealis* (Hübner, 1793), *Coleophora gnaphalii* (Zeller, 1839), *Coleophora helichrysiella* (Krone, 1909) in *Bucculatrix helichrysella* (Constant, 1889), vendar v Bosni in Hercegovini ter na Hrvaškem njihova prisotnost oz. škodljivost še ni bila potrjena.

V tehnološkem listu za gojenje laškega smilja, ki so ga pripravili v Franciji na Kmetijski zbornici Okcitanija (Occitanie) in v okviru medregijske skupine PPAM BIO¹ (Plantes à parfum, aromatiques et médicinales biologiques) navajajo, da laški smilj nima ekonomsko pomembnejših škodljivcev (Riquet in Sauvaire 2020).

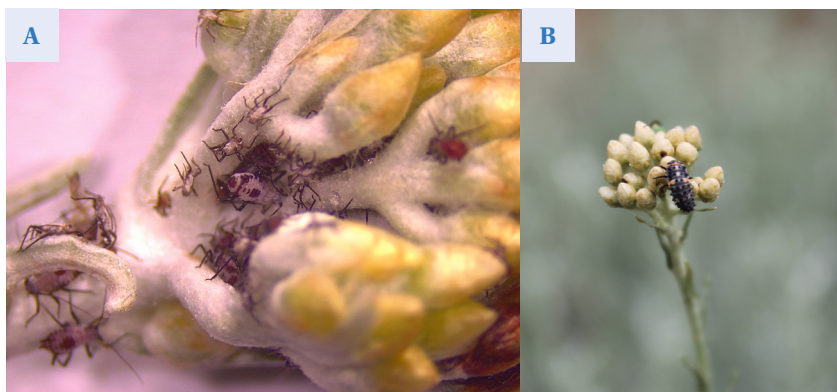
¹ PPAM BIO je skupina pridelovalcev za pridelavo eteričnih, aromatičnih in zdravilnih rastlin, pridelanih ekološko. Ustanovila jo je Nacionalna zveza za ekološko kmetijstvo (Fédération Nationale d'Agriculture Biologique – FNAB), ki deluje pod okriljem organizacije FranceAgriMer, le-ta pa pod Ministrstvom za kmetijstvo.

Preglednica 1 Pregled škodljivcev laškega smilja.

Red	Vrsta (znanstveno ime)	Slovensko ime***	Vir
Coleoptera (hrošči)	<i>Phyllobius argentatus</i> (Linnaeus, 1758)*	srebrnosivi rilčkar	Ostojić idr. (2018)
	<i>Phyllobius oblongus</i> (Linnaeus, 1758)*	rjavček	Ostojić idr. (2018)
Diptera (dvokrilci)	<i>Liriomyza</i> spp.	listne zavrtalke	Ostojić idr. (2018)
Hemiptera (polkrilci)	<i>Macrosiphoniella jancke</i> (Börner, 1939)	vrsta uši	Ostojić idr. (2018)
	<i>Macrosiphoniella helichrysi</i> (Remaudière, 1952)	vrsta uši	Ostojić idr. (2019)
	<i>Coccidae</i> (Stephens, 1829)	kaparji iz družine <i>Coccidae</i>	Ostojić idr. (2018)
	<i>Lygus</i> spp.	ščitaste stenice	Bandelj idr. (2020)
Lepidoptera (metulji)	<i>Agrotis</i> spp.	sovke iz rodu <i>Agrotis</i>	Ostojić idr. (2018)
	<i>Vanessa cardui</i> (Linnaeus, 1758)*	osatnik	Ostojić idr. (2018)
	<i>Tebenna micalis</i> (Mann, 1857)	kovinski molj	UP FAMNIT
	<i>Acronicta rumicis</i> (Linnaeus, 1758)*	kisljučna sovka	Ostojić idr. (2018)
Thysanoptera (resokrilci)	<i>Frankliniella occidentalis</i> (Pergande, 1895)**	cvetlični resar	Ostojić idr. (2018); Pohajda idr. (2015)

Opombe * Prepoznani kot pomembnejši škodljivci. ** Predvsem škodljivci v zaprtih prostorih. *** Obstoj slovenskih imen je bil najprej preverjen v Šifrantu imen CIRSIUM (<http://www.fito-info.si/APL/Sist/SifrantOrg.htm>) ter na portalu IVR (<https://www.ivr.si/skodljivci-organizmi/>).

Od leta 2020, ko je bil vzpostavljen koleksijski nasad na UP FAMNIT, spremljamo tudi zdravstveno stanje rastlin laškega smilja. Poleg uši in sedempikčastih polonic (*Coccinella septempunctata* (Linnaeus, 1758)) ter njihovih ličink (slika 8), ki se z ušmi prehranjujejo, smo v prvih letih opazili še ščitaste stenice iz rodu *Lygus* sp., ki škodo povzročajo s sesanjem rastlinskih sokov (Bandelj idr. 2020). V letu 2024 je v koleksijskem nasadu v Ospu prvič prišlo do številčnega pojava molja *Tebenna micalis* (Mann, 1857), katerega gosenice so povzročile veliko škodo z ustvarjanjem rogov v poganjkih in posledično je prišlo do sušenja rastlin (sliki 9 in 10). *T. micalis* je oligofag, običajno gostuje na rastlinah družine Asteraceae (Ellis 2023), pojavlja pa se od junija do avgusta (UKMoths, b. l.). V primeru



Slika 8 Listne uši (Aphididae) (A) in ličinka sedempikčaste polonice (*C. septempunctata*) (B) na laškem smilju



Slika 9 Zapredki gosenic *T. micalis* (A) in poškodovan osrednji del rastline (B)



Slika 10 Gosenica (A) in odrasel osebek *T. micalis* (B)

številčnega napada na UP FAMNIT svetujemo predčasno žetev laškega smilja, saj so gosenice po rezi bolj izpostavljene zunanjim dejavnikom (npr. visoki temperaturi poleti), kar lahko pripomore k zmanjšanemu preživetju. O škodljivcu poročajo tudi v Franciji (Allegret b. l.).

V primeru daljšega obdobja z visoko relativno zračno vlago lahko pride do pojava plesni (*Botrytis* sp.) na nadzemnih delih rastline ali gliv iz rodov *Pythium* in *Rhizoctonia*, ki povzročajo gnitje koreninskega sistema in drugih delov rastline (preglednica 2) (Pohajda idr. 2015).

V Srbiji na laškem smilju poročajo o pojavu glive ogljene trohnobe soje (*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid) (Pavlovič idr. 2015). Glivo so odkrili na rastlinah s hitro sušečimi se listi in temno rjavimi pegami v spodnjem delu rastlin. Za omenjeno bolezen je značilno, da se bolezenska znamenja pokažejo v vročih in suhih obdobjih, ko so rastline izpostavljene stresu (Žerjav 2017).

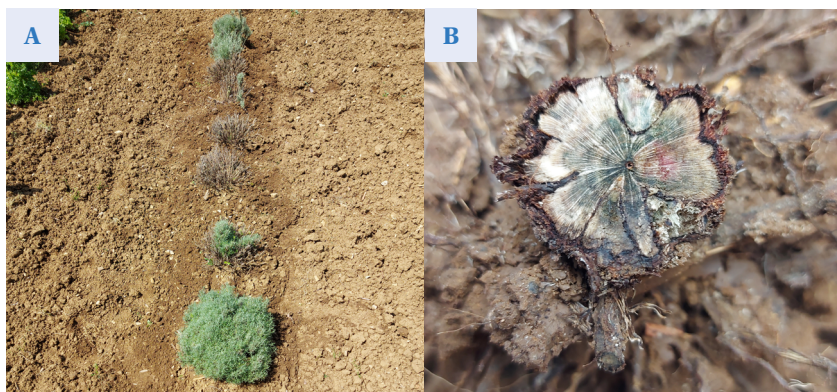
Propadnje posameznih rastlin smo opazili tudi v kolekcijskem nasadu UP FAMNIT v Ospu. Glede na vidna znamenja bolezni (slika 11) in genetska testiranja je propadanje najverjetneje povezano s patogenimi glivami. V sodelovanju s Kmetijsko gozdarskim zavodom Nova Gorica (KGZS-Zavod GO) smo odvzeli vzorce propadajočih rastlin in rezultati analize, ki jo je opravil Kmetijski inštitut Slovenije (KIS), so pokazali prisotnost gliv *Diaporthe* spp. (nespolni stadiji *Phomopsis*) in *Phoma* spp. (Marko Devetak, osebna informacija). Glive iz rodu *Phomopsis* so večinoma hemibiotrofne, kar pomeni, da imajo lastnosti biotrofnih in nekrotrofnih gliv (Udayanga idr. 2011). Biotrofne glive za razvoj potrebujejo živega gostitelja, medtem ko gostitelj po okužbi z nekrotrofno glivo propade, gliva pa za rast izkorišča hranila iz odmrlih delov organizma. Med glivami iz rodu *Phomopsis* so poznane tudi endofitne vrste, ki so pogosto prisotne v prevodnih sistemih rastlin, kjer lahko delujejo tudi kot koristni organizmi (Udayanga idr. 2011). V izogib okužbam s kompleksom gliv *Diaporthe/Phomopsis* je treba izbirati lege z manj vlage. Izgube pridelkov lahko močno narastejo v primeru deževnega in toplega vremena (Žerjav in Zajc 2022). Tudi za glive iz rodu *Phoma* velja, da se okužbe pojavljajo v slabo odcednih tleh (Deb idr. 2020).

Analiza prisotnosti gliv na rastlinah z znamenji glivičnih okužb (prisotnost micelija, plodišč, sušenje rastlin) je bila izvedena tudi na UP FAMNIT. Glive smo izolirali iz stebela, listov in korenin rastlin. Pred identifikacijo z analizo DNA smo izolirane glive gojili na gojišču v petrijevkah, ki je bilo pripravljeno s krompirjevim dekstroznim agarjem. Pred nanosom

Preglednica 2 Pregled gliv, ki lahko povzročijo propadanje rastlin laškega smilja

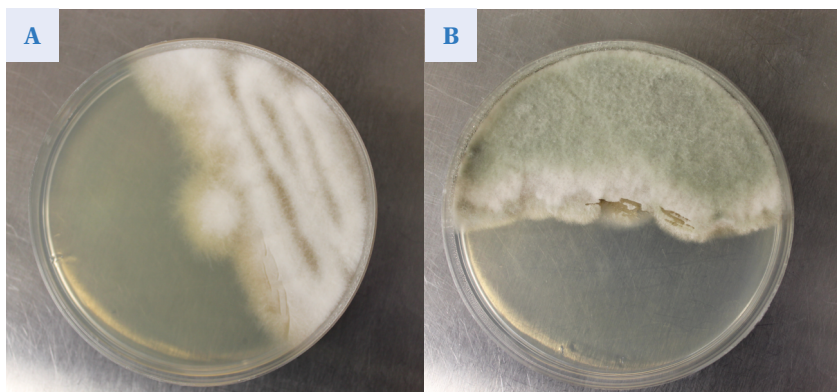
Deblo/red	Vrsta (znanstveno ime)	Bolezen I	Vir v povezavi z laškim smiljem
Ascomycota/ Botryosphaerales	<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid	Ogljena trohnoba soje	Pavlovič idr. (2015)
Ascomycota/ Diaporthales	<i>Diaporthe</i> spp./ <i>Phomopsis</i>	Kompleks gliv, ki povzroča bolezní kot npr. črna pegavost stebel soje, ožig stebel, pegavost in ožig strokov, plesnivost semen (Žerjav in Zajc 2022)	UP FAMNIT, KGZS-Zavod GO (Marko Devetak, osebna informacija)
Ascomycota/ Helotiales	<i>Botrytis</i> spp.	Vrste, ki povzročajo sivo plesen na različnih kulturah	Pohajda idr. (2015)
Ascomycota/ Hypocreales	<i>Fusarium</i> spp.	Z glivami iz rodu <i>Fusarium</i> so povezane bolezni kot npr. bolezní korenin, trohnoba in različne uvelosti	Beljo idr. (2016)
Ascomycota/ Pleosporales	<i>Alternaria</i> spp.	Z glivami iz rodu <i>Alternaria</i> so povezane različne pegavosti listov	Beljo idr. (2016), Pohajda idr. (2015)
Ascomycota/ Pleosporales	<i>Phoma</i> spp.	Npr. fižolova rjava pegavost	UP FAMNIT, KGZS-Zavod GO (Marko Devetak, osebna informacija)
Basidiomycota/ Ceratobasidiales	<i>Rhizoctonia</i> spp.	Z glivami iz rodu <i>Rhizoctonia</i> so povezane bolezní kot npr. padavica sadik, gnitje korenin, gnitje plodov in stebila	Pohajda idr. (2015)
Oomycota/ Peronosporales	<i>Pythium</i> spp.	Padavica sadik	Pohajda idr. (2015)
Oomycota/ Peronosporales	<i>Phytophthora</i> spp.	Z glivami iz rodu <i>Phytophthora</i> so povezane bolezní korenin in plesni ter gniloba plodov	Beljo idr. (2016)

Opomba V kolikor ni navedenega vira, je bil seznam bolezní pridobljen na portalu Integrirano varstvo rastlin (<https://www.ivr.si/skodljivi-organizmi/>).



Slika 11 Sušenje posameznih rastlin v nasadu (A) in prečni prerez olesenelega stebela propadajoče rastline (B)

rastlinskega materiala (izsečkov) na gojišče smo korenine in stebla prečno prerezali, liste pa narezali na rezine. Del rastlinskega materiala smo pred pripravo izsečkov sterilizirali z 10-odstotnim natrijevim hipokloritom, preostali rastlinski material pa je bil na gojišče položen brez predhodne sterilizacije. Namen površinske sterilizacije je preučevanje endofitov, tj. gliv, ki naseljujejo notranje dele rastlin. Glive, ki so izraščale



Slika 12 Kultura glive, izolirana iz površinsko sterilizirane korenine in z DNA-analizo, identificirana kot *Fusarium oxysporum* Schltdl (slovenska imena bolezni: fuzarijska uvelost graha, krompirjeva uvelost, nožna bolezen beluša) (A), in kultura, izolirana iz površinsko steriliziranega stebela in identificirana kot *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl (slovenska imena bolezni: alternarijska pegavost plodov paradižnika, padavica sadik) (B) (vir: CIRSIUM (<http://www.fito-info.si/APL/Sist/SifrantOrg.htm>))

iz izsečka rastline, smo prenesli na nova gojišča in tako pridobili čisto kulturo glive (slika 12).

Poleg gliv *F. oxysporum* in *A. alternata* (slika 12), so bile identificirane tudi druge glive, kot so *Curvularia spicifera* ((Bainier) Boedijn), *Rhizoctonia solani* (J. G. Kühn) in *Rhizopus oryzae* (Went & Prins. Geerl). Rodovi *Fusarium*, *Alternaria* in *Rhizoctonia*, iz katerih izhajajo povzročitelji bolezni laškega smilja, so že bili omenjeni (preglednica 2). Kompleks *F. oxysporum* vsebuje številne seve, ki povzročajo vaskularno uvelost pri različnih kmetijskih rastlinah v različnih tleh in po vsem svetu (Gordon 2017). Znani so tudi sevi, ki niso patogeni in so bili testirani za možnost uporabe v biotičnem varstvu (Edel-Hermann idr. 2009). *A. alternata* je gliva, ki je pogosto omenjena kot patogena, vendar lahko živi tudi v asimptomatski simbiozi kot endofit (DeMers 2022).

V znanstveni literaturi ni zaslediti omembe vrst *C. spicifera* in *R. oryzae* kot patogenov laškega smilja. Po navedbah v podatkovni zbirki Evropske in sredozemske organizacije za zaščito rastlin (EPPO Global Database) ter Safe Qostal idr. (2019) gliva *C. spicifera* povzroča predvsem bolezni trav in žit (gniloba, ožigi). Nedavno je bila potrjena tudi kot povzročiteljica ožigov listov navadnega komarčka v Turčiji (Eken idr. 2024). Glive iz rodu *Rhizopus* običajno živijo na odmrlem in propadajočem rastlinskem materialu (Lennartsson idr. 2014). Omenjajo jih kot povzročiteljice sadne gnilobe med skladiščenjem (Khokhar idr. 2019), vendar je bila *R. oryzae* prepoznana tudi kot povzročiteljica koreninske gnilobe arašidov (Xu idr. 2015).

Omenjene glive bi bile lahko vir okužb in propadanja rastlin, vendar pa je glede na različne lastnosti sevov posameznih vrst mogoče, da identificirane glive rastline kolonizirajo brez škodljivega učinka ali pa so se na rastline naselile šele po okužbi, na propadajoč rastlinski material kot saprofiti. Analize mikrobnih združb kažejo, da rastline sobivajo s številnimi mikroorganizmi, ki jih bo treba v prihodnje bolje preučiti.

Viri

- Allegret, S. B. I. »Fiche technique Hélichryse italienne Biotop.« Pépinières Biotop. <https://www.biotop-aromatiques.com/pages/fiche.php?ref=17>.
- Antunes, C., A. J. Pereira, P. Fernandes idr. 2018. »Understanding Plant Drought Resistance in a Mediterranean Coastal Sand Dune Ecosystem: Differences between Native and Exotic Invasive Species.« *Journal of Plant Ecology* 11 (1): 26–38.

- Bandelj, D., in A. Baruca Arbeiter. 2020. »Ekološke zahteve.« V *Oljka*, uredila S. Dreu. Kmečki glas.
- Bandelj, D., M. Hladnik in A. Baruca Arbeiter. 2020. *Tehnološke smernice za gojenje laškega smilja*. Založba Univerze na Primorskem.
- Bandelj, D., M. Hladnik in A. Baruca Arbeiter. 2024. »Izzivi pri prenosu prostorastočih zdravilnih in aromatičnih rastlin v pridelavo.« *Hmeljarski bilten* 31:130–149.
- Baruca Arbeiter, A., M. Hladnik, J. Jakše in D. Bandelj. 2021. »First Set of Microsatellite Markers for Immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don): A Step Towards the Selection of the Most Promising Genotypes for Cultivation.« *Industrial Crops and Products* 162 (10): 113298.
- Beljo, J., M. Barbari, M. Čagalj idr. 2016. »Ekološka proizvodnja smilja i eteričnog ulja: dosadašnje spoznaje.« V *Ekološka proizvodnja smilja i eteričnog ulja: dosadašnje spoznaje*, uredila M. Ivanković in J. Duranović. Algoritam in.
- Bianchini, A., F. Santoni, J. Paolini, A.-F. Bernardini, D. Mouillot in J. Costa. 2009. »Partitioning the Relative Contributions of Inorganic Plant Composition and Soil Characteristics to the Quality of *H. italicum* subsp. *italicum* (Roth) G. Don fil. Essential Oil.« *Chemistry and Biodiversity* 6 (7): 1014–1033.
- Bini, C., L. Maleci, C. Tani in M. Wahsha. 2016. »Preliminary Observations on the Metal Tolerance and Resilience Capacity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Growing On Mine Soils.« *EQA – International Journal of Environmental Quality* 21 (1): 41–50.
- Carrubba, A., in M. Militello. 2013. »Nonchemical Weeding of Medicinal and Aromatic Plants.« *Agronomy for Sustainable Development* 33 (3): 551–561.
- Caser, M., F. D'Angiolillo, W. Chitarra idr. 2016. »Water Deficit Regimes Trigger Changes in Valuable Physiological and Phytochemical Parameters in *Helichrysum petiolare* Hilliard & B.L. Burtt.« *Industrial Crops and Products* 83:680–692.
- Cesaraccio, C., G. Pellizzaro, P. Duce in D. Spano. 2004. »Analysis of Phenological Behaviour of some Mediterranean Shrub Species in Responses to Warming and Drought Conditions.« V *16th Biometeorology and Aerobiology Conference*. American Meteorological Society.
- Ciccarelli, D., P. Picciarelli, G. Bedini in C. Sorce. 2016. »Mediterranean Sea Cliff Plants: Morphological and Physiological Responses to Environmental Conditions.« *Journal of Plant Ecology* 9 (2): 153–164.
- Council Regulation (EEC) No 2092/91 of 24 June 1991 on Organic Production of Agricultural Products and Indications Referring Thereto on Agri-

- cultural Products and Foodstuffs. 1991. *Official Journal of the European Communities*, št. L 198: 1–15.
- Council Regulation (EEC) No 2078/92 of 30 June 1992 on Agricultural Production Methods Compatible with the Requirements of the Protection of the Environment and the Maintenance of the Countryside. 1992. *Official Journal of the European Communities*, L 215: 85–90.
- Čagalj, M., I. Grgić in M. Zrakić Sušac. 2019. »Economic Evaluation (Efficiency) of Investment in Organically Grown Immortelle [*Helichrysum italicum* ssp. *italicum*] in Bosnia and Herzegovina: The First Report from Mediterranean.« *Journal of Central European Agriculture* 20 (1): 524–551.
- Deb, D., A. Khan in N. Dey. 2020. »Phoma Diseases: Epidemiology and Control.« *Plant Pathology* 69 (7): 1203–1217.
- DeMers, M. 2022. »*Alternaria alternata* as Endophyte and Šathogen.« *Microbiology* 168 (3): 001153.
- Dias, L. S. 1991. »Allelopathic Activity of Decomposing Straw of Wheat and Oat and Associated Soil on Some Crop Species.« *Soil and Tillage Research* 21 (1–2): 113–120.
- Dimitrova, N., in L. Nacheva. 2018. »Micropropagation of *Helichrysum italicum* (ROTH) G. Don: A Medicinal Plant with Ornamental Value.« *Journal of BioScience and Biotechnology* 7 (2): 97–101.
- »Dostop do genskih virov in delitev koristi, ki izhajajo iz njihove uporabe (Nagojski protokol).« 2020. European Union: EUR-Lex, 20. november, <https://eur-lex.europa.eu/SL/legal-content/summary/access-to-genetic-resources-and-sharing-of-benefits-arising-from-their-utilisation-nagoya-protocol.html>.
- Edel-Hermann, V., S. Brenot, N. Gautheron, S. Aimé, C. Alabouvette in C. Steinberg. 2009. »Ecological Fitness of the Biocontrol Agent *Fusarium Oxysporum* Fo47 in Soil and Its Impact on the Soil Microbial Communities.« *FEMS Microbiology Ecology* 68 (1): 37–45.
- Eken, C., M. Mutlucan, S. Önder, M. Tonguç in S. Erbaş. 2024. »Identification of *Curvularia Spicifera* Causing Foliage Blight on *Foeniculum Vulgare*.« *Notulae Scientia Biologicae* 16 (2): 11966.
- Ellis, W. N. 2023. »*Tebenna Micalis* (Mann, 1857).« *Plant Parasites of Europe: Leafminers, Galls and Fungi*, 10. marec <https://bladmineerders.nl/parasites/animalia/arthropoda/insecta/lepidoptera/ditrysia/apoditrysia/choreutoidea/choreutidae/tebenna/tebenna-micalis/>.
- Finančna uprava Republike Slovenije. 2022. »Vnos rastlin in rastlinskih proizvodov.« Portal Finančne uprave Republike Slovenije, 28. oktober. https://www.fu.gov.si/zivljenjski_dogodki_prebivalci/vnos_rastlin_in_rastlinskih_proizvodov.

- Gliessman, S. R. 2014. *Agroecology: The Ecology of Sustainable Food Systems*. 3. izd. CRC.
- Gordon, T. R. 2017. »*Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* Wilt Syndrome.« *Annual Review of Phytopathology* 55 (1): 23–39.
- Greggio, N., A. Buscaroli, D. Zannoni, S. Sighinolfi in E. Dinelli. 2022. »*Helichrysum italicum* (roth) G. Don, a Promising Species for the Phytostabilization of Polluted Mine Sites: A Case Study in the Montevecchio Mine (Sardinia, Italy).« *Journal of Geochemical Exploration* 242 (1-3): 107088.
- Hladnik, M., A. Baruca Arbeiter in D. Bandelj. 2023. »Sequence Characterization of ITS Regions of Immortelle *H. italicum* (Roth) G. Don from the East Adriatic Coast.« *Genes* 14 (2): 480.
- Khokhar, I., Y. Jia, I. Mukhtar idr. 2019. »First Report of *Rhizopus Oryzae* Causing Postharvest Fruit Rot on Pear in China.« *Plant Disease* 103 (6): 1423–1423.
- Kmetijsko gozdarska zbornica. 2017. »Tehnološka navodila za ekološko pridelavo zelenjadnic.«
- Kostina-Bednarz, M., J. Płonka in H. Barchanska. 2023. »Allelopathy as a Source of Bioherbicides: Challenges and Prospects for Sustainable Agriculture.« *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 22:471–504.
- Kozhuharova, A., B. Traykova, Y. Shopova in M. Stanilova. 2019. »Alternative Biotechnological Approaches for Propagation of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don (Asteraceae).« *ARPHA Conference Abstracts* 2:e46447.
- Kozhuharova, A., M. Stanilova, V. Vladimirov, M. Nikolova, B. Traykova in S. Berkov. 2023. »Clonal In Vitro Propagation as a Tool for Production of High Quality Planting Material of *Helichrysum italicum* (Asteraceae).« *Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences* 76 (8): 1206–1213.
- Lennartsson, P. R., M. J. Taherzadeh in L. Edebo. 2014. »*Rhizopus*.« V *Encyclopedia of Food Microbiology*, uredila C. A. Batt in M. L. Tortorello, 2. izd. Academic Press.
- Melito, S., G. L. Petretto, J. Podani idr. 2016. »Altitude and Climate Influence *Helichrysum italicum* subsp. *Microphyllum* Essential Oils Composition.« *Industrial Crops and Products* 80:242–250.
- Ninčević, T., M. Jug-Dujaković, M. Grdiša idr. 2021. »Population Structure and Adaptive Variation of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Along Eastern Adriatic Temperature and Precipitation Gradient.« *Scientific Reports* 11 (1): 24333.
- Ostojić, I., M. Zovko, D. Petrović in L. Bošnjak. 2018. »Štetnici smilja [*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don.] u plantažnom uzgoju na području Hercegovine.« *Fragmenta phytomedica* 32 (1): 21–30.

- Ostojić, I., M. Zovko, D. Petrović, D. Jurković in L. Bošnjak. 2019. »Lisna uš smilja *Macrosiphoniella helichrysi* (Hemiptera: Aphididae), nova vrsta u fauni lisnih uši u Bosni in Hercegovini.« *Radovi Poljoprivredno-prehrambenog fakulteta Univerziteta u Sarajevu* 69 (1): 59–67.
- Pala, F., in H. Mennan. 2022. »Weed Management in Medicinal and Aromatic Plants.« V *New Development on Medicinal and Aromatic Plants-II*, uredil G. Özyazıcı. Iksad.
- Pavlović, S., D. Ristić, G. Aleksić, D. Milosević, T. Stević in M. Starović. 2015. »The First Report of Macrophomina Phaseolina of Immortelle (*Helichrysum italicum*) in Serbia.« *Plant Disease* 99 (9): 1279–1279.
- Perrini, R., I. Morone-Fortunato, E. Lorusso in P. Avato. 2009. »Glands, Essential Oils and in vitro Establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nyman.« *Industrial Crops and Products* 29 (2–3): 395–403.
- Pohajda, I., G. Dragun in L. Puharić Visković. 2015. *Smilje*. Savjetodavna služba.
- Pravilnik o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim. 2009. *Narodne novine*, št. 99. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_08_99_2569.html.
- Qostal, S., S. Kribel, M. Chliyh idr. 2019. »*Curvularia Spicifera*, a Parasite of the Fungal Complex of Root Rot of Wheat and Barley in Morocco.« *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* 20 (9–10): 354–365.
- Riquet, J., in Y. Sauvaire. 2020. »Éléments technico-économiques pour l'Occitanie – juin 2020.« *Chambre régionale d'agriculture d'Occitanie in PPAM BIO Conseil*.
- Udayanga, D., X. Liu, E. H. C. McKenzie idr. 2011. »The Genus *Phomopsis*: Biology, Applications, Species Concepts and Names of Common Phytopathogens.« *Fungal Diversity* 50 (1): 189–225.
- UKMoths. B. I. »*Tebenna micalis* (Mann, 1857).« *UKMoths*. <https://ukmoths.org.uk/species/tebenna-micalis/>.
- Uredba o zavarovanih prosto živečih rastlinskih vrstah. 2004. *Uradni list Republike Slovenije*, št. 46. <https://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?sop=2004-01-2215>.
- Xu, M. L., J. G. Yang, F. L. Wang, J. X. Wu in Y. C. Chi. 2015. »First Report of *Rhizopus Arrhizus* (Syn. *R. Oryzae*) Causing Root Rot of Peanut in China.« *Plant Disease* 99 (10): 1448.
- Zhang, C., D.-X. Zhan, H.-H. Luo, Y.-L. Zhang in W.-F. Zhang. 2016. »Photorespiration and Photoinhibition in the Bracts of Cotton Under Water Stress.« *Photosynthetica* 54 (1): 12–18.

- Žerjav, M. 2017. »Ogljena trohnoba soje.« Integrirano varstvo rastlin, oktober. <https://www.ivr.si/skodljivec/ogljena-trohnoba-soje/>.
- Žerjav, M., in J. Zajc. 2022. »Ožig stebel in strokov soje, črna pegavost stebela in plesnivost semen.« Integrirano varstvo rastlin, julij. <https://www.ivr.si/skodljivec/ozig-stebel-in-strokov-soje-crna-pegavost-stebela-in-plesnivost-semen/>.

4

Tržni potencial laškega smilja

Alenka Baruca Arbeiter

*Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije,
Univerza na Primorskem*

Dunja Bandelj

*Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Alenka Baruca Arbeiter in Dunja Bandelj

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.4>

Zanimanje za laški smilj je zaradi njegovih številnih biološko aktivnih spojin, odlične prilagoditve rastline na sušo in zahtevne okoljske razmere ter vsestranske uporabnosti čedalje večje, zato je nedavno prešel v kmetijsko pridelavo. Gojenje laškega smilja postaja gospodarsko zanimiva panoga in danes ga v večjem obsegu gojijo na Korziki (Francija) in na Hrvaškem ter v Italiji, Bolgariji in Srbiji (Ninčević idr. 2019; Aćimović idr. 2021). V Sloveniji je več pridelovalnih površin prisotnih predvsem v slovenski Istri in na Krasu, kjer so ekološki pogoji zanj ustrezni. Na spletu številni slovenski ponudniki promovirajo izdelke iz laškega smilja, iz česar je moč sklepati, da je interes zanje med potrošniki velik. Slednje predstavlja priložnost za gojenje rastline z namenom pridobivanja proizvodov in izdelkov slovenskega izvora. Z anketo smo v okviru Ciljno raziskovalnega projekta V4-2207 Možnosti razvoja zeliščarstva v Sloveniji (2022–2024) v Sloveniji evidentirali le 2,54 ha površin, posajenih z laškim smiljem, zato je ocena pridelka eteričnega olja med 27,7 (7.800 rastlin/ha) do 68,1 kg (20.000 rastlin/ha). Podatki najverjetneje ne odražajo realnega stanja, saj v raziskavi niso bili evidentirani vsi nasadi laškega smilja v Sloveniji. Mnogi laški smilj pridelujejo na manjših površinah, zato niso vpisani v Register kmetijskih gospodarstev in tudi nimajo registrirane dopolnilne dejavnosti.

Po podatkih Javne agencije Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP) je trenutno v register uvoznikov učinkovin vpisanih 18 podjetij (Javna agencija Republike Slovenije za zdravila

in medicinske pripomočke, b. l.a) in v register veletrgovcev z učinkovinami kar 33 podjetij (Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke, b. l.b); uvoz surovine močno presega trenutno ponudbo doma pridelanega laškega smilja. Vsa registrirana podjetja lahko predstavljajo potencialne partnerje v naročeni pridelavi zelišč, s čimer bi lahko vzpostavili dolgoročne pogodbe za odkup laškega smilja in njegovih polizdelkov ter omogočili vključitev slovenskega laškega smilja v farmacevtske in kozmetične izdelke.

Eterično olje laškega smilja velja za eno najdražjih, zato je na mednarodnem trgu velika konkurenca, predvsem iz držav, kot so Francija (Korzika), Italija, Hrvaška, Bosna in Hercegovina, Srbija ter Bolgarija, kjer so pridelovalci bolj organizirani in imajo dogovorjen odkup pridelka. V Sloveniji bi težko konkurirali velikim pridelovalcem iz tujine, vendar pa je to tudi priložnost, da se slovenski pridelovalci povežejo in osredotočijo na višjo kakovost, butičnost ter ekološko pridelavo. Laški smilj zaradi terapevtskih lastnosti predstavlja izjemen potencial uporabe v kozmetičnih in farmacevtskih izdelkih ter v aromaterapiji in prehrani. Zaradi tega bi se morali slovenski pridelovalci povezovati z domačo kozmetično, farmacevtsko in živilsko industrijo, galenskimi laboratoriji ter veletrgovci, da bi ti prepoznali vrednost slovenske, doma pridelane surovine, saj so trenutno usmerjeni v uvoz zelišč in standardiziranih polizdelkov (eterična olja in drugi rastlinski izvlečki) (Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke b. l.a.).

Laški smilj predstavlja tudi velik potencial za razvoj butičnih produktov in blagovnih znamk. Iz pregleda spletnih strani je razvidno, da številni slovenski ponudniki rastlino pridelajo sami in jo vključujejo v lastne proizvode. Med slovenskimi ponudniki pa so tudi taki, ki eterično olje ali hidrolat laškega smilja kupijo in sami izdelujejo najrazličnejše produkte (kreme, čistilne gele, micelarno vodo, pilinge, macerate, šampone, mila, čaje). Mnogi te produkte promovirajo kot slovenske, čeprav pri specifikaciji njihovih sestavin ni razvidno poreklo eteričnega olja ali hidrolata. Pri zeliščih je sledljivost izjemnega pomena predvsem z vidika namenskih ali nenamenskih poneverb. Tveganje zanje se običajno poveča z naraščanjem povpraševanja in cen ter v primeru daljših dobavnih verig (Black idr. 2016). Med poneverbe sodi zamenjava rastlinskih vrst ali podvrst, ki je mogoča tudi pri laškem smilju, saj je zanj značilna izjemna genetska, morfološka in biokemijska raznolikost (Herrando-Moraira idr. 2016; Hladnik idr. 2024). Vse bolj pereča tema je ponarejanje eteričnega

olja. Naravni rastlinski izvlečki imajo pomembno tržno prednost pri proizvodnji številnih izdelkov, vendar je njihova cena pogosto veliko višja od cen sintetičnih spojin (Do idr. 2015). Eteričnim oljem, ki dosegajo visoko ceno, kamor sodi tudi laški smilj, se pogosto dodaja cenejša eterična olja in umetne dišave ali sintetične biološko aktivne spojine, z namenom poustvarjanja značilnega vonja in terapevtskih učinkov. Druga vrsta ponarejanja eteričnega olja je celo redčenje z rastlinskimi olji (Capetti idr. 2021).

V Sloveniji zakonodaja in standardi kakovosti za eterična olja temeljijo na evropski zakonodaji in mednarodnih standardih: Uredba (ES) št. 178/2002 Evropskega parlamenta in Sveta (2002) vzpostavlja splošne zahteve za varnost hrane in sledljivost, kar vključuje tudi eterična olja, če so namenjena prehrani ali uporabi v prehranskih dopolnilih; Uredba (ES) št. 1223/2009 Evropskega parlamenta in Sveta (2009) o kozmetičnih izdelkih ureja enotna pravila za vse kozmetične izdelke z namenom zagotavljanja usklajenega trga ter varovanja zdravja potrošnikov; Uredba (ES) št. 1907/2006 Evropskega Parlamenta in Sveta (2006) upravlja registracijo, evalvacijo, avtorizacijo in omejevanje kemikalij, kar velja tudi za eterična olja; Uredba (ES) št. 1272/2008 Evropskega parlamenta in Sveta (2008) določa klasifikacijo, označevanje in pakiranje nevarnih snovi, vključno z eteričnimi olji. Poleg tega morajo slovenski proizvajalci upoštevati nacionalno zakonodajo s področij varnosti hrane, kozmetike in kemikalij, ki vključuje določila, ki urejajo eterična olja oz. registracijo, uporabo in obravnavo kemikalij, vključno z eteričnimi olji (Zakon o zdravstveni ustreznosti živil in izdelkov ter snovi, ki prihajajo v stik z živilom (ZZUZIS) 2000; Zakon o kemikalijah (Zkem-UPB1) (2003); Zakon o kozmetičnih proizvodih (ZkozP-UPB) 2003), ki so usklajeni z evropskimi predpisi. Čeprav posebni slovenski standardi za kakovost eteričnih olj ne obstajajo, se slednja pogosto preverja glede na ISO-standarde (ISO 9235 opredeljuje naravna aromatična sredstva, vključno z eteričnimi olji) ali zahtevane specifikacije posameznih industrijskih sektorjev (prehrana, kozmetika, farmacija). Gre za zakonodajno zahtevno področje, ki bi zahtevalo več strokovne podpore. Tak pristop bi omogočil proizvodnjo kakovostnih in preverjenih izdelkov ter zagotovil zaščito potrošnikov, da prejmejo točno tisto, kar plačajo.

Dragocene terapevtske lastnosti, raznolika uporabnost in možnosti pridelave laškega smilja v različnih slovenskih regijah predstavljajo izjemno priložnost, da slovenski laški smilj postane ključna surovina za razvoj

naravnih izdelkov z visoko dodano vrednostjo. Slovenija se ponaša z dolgo tradicijo farmacevtske in kozmetične industrije, kar odpira številne možnosti za vključitev smilja v razvoj naravnih zdravilnih in kozmetičnih izdelkov, ki bodo prepoznavni in konkurenčni na domačem ter mednarodnem trgu.

Viri

- Aćimović, M., J. Ljujić, J. Vulić idr. 2021. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil from Serbia: Chemical Composition, Classification and Biological Activity – May It Be a Suitable New Crop for Serbia?« *Agronomy* 11 (7): 1282.
- Black, C., S. A. Haughey, O. P. Chevallier, P. Galvin-King in C. T. Elliott. 2016. »A Comprehensive Strategy to Detect the Fraudulent Adulteration of Herbs: The Oregano Approach.« *Food Chemistry* 210:551–557.
- Do, T. K. T., F. Hadji-Minaglou, S. Antoniotti in X. Fernandez. 2015. »Authenticity of Essential Oils.« *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 66:146–157.
- Capetti, F., A. Marengo, C. Cagliero idr. 2021. »Adulteration of Essential Oils: A Multitask Issue for Quality Control. Three Case Studies: *Lavandula angustifolia* Mill., *Citrus limon* (L.) Osbeck and *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel.« *Molecules* 26 (18): 5610.
- Herrando-Moraira, S., J. M. Blanco-Moreno, L. Sáez in M. Galbany-Casals. 2016. »Re-Evaluation of the *Helichrysum italicum* Complex (Compositae: Gnaphalieae): A New Species from Majorca (Balearic Islands).« *Colletanea Botanica* 35: e009.
- Hladnik, M., A. Baruca Arbeiter, P. Gabrovšek idr. 2024. »New Chloroplast Microsatellites in *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Their Characterization and Application for the Evaluation of Genetic Resources.« *Plants* 13 (19): 2740.
- Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke. B. l.a. »Seznam uvoznikov učinkovin vpisanih v register uvoznikov učinkovin na dan 30. 6. 2025.«
- Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke. B. l.b. »Seznam veletrgovcev z učinkovinami vpisanih v register veletrgovcev z učinkovinami na dan 30. 6. 2025.«
- Ninčević, T., M. Grdiša, Z. Šatović in M. Jug-Dujaković. 2019. »*H. italicum* (Roth.) G. Don: Taxonomy, Biological Activity, Biochemical and Genetic Diversity.« *Industrial Crops and Products* 138:111487.
- Uredba (ES) št. 178/2002 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 28. januarja 2002 o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustano-

- vitvi Evropske agencije za varnost hrane in postopkih, ki zadevajo varnost hrane. 2002. *Uradni list Evropskih skupnosti*, št. L 21: 1–24.
- Uredba (ES) št. 1907/2006 Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 18. decembra 2006 o registraciji, evalvaciji, avtorizaciji in omejevanju kemikalij (REACH), o ustanovitvi Evropske agencije za kemikalije ter spremembi Direktive 1999/45/ES ter razveljavitvi Uredbe Sveta (EGS) št. 793/93 in Uredbe Komisije (ES) št. 1488/94 ter Direktive Sveta 76/769/EGS in direktiv Komisije 91/155/EGS, 93/67/EGS, 93/105/ES in 2000/21/ES. 2006. *Uradni list Evropske unije*, št. L 396: 1–849.
- Uredba (ES) št. 1272/2008 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju snovi ter zmesi, o spremembi in razveljavitvi direktiv 67/548/EGS in 1999/45/ES ter spremembi Uredbe (ES) št. 1907/2006. 2008. *Uradni list Evropske unije*, št. L 353: 1–1355.
- Uredba (ES) št. 1223/2009 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 30. novembra 2009 o kozmetičnih izdelkih (prenovitev). 2009. *Uradni list Evropske unije*, št. L 341: 59–209.
- Zakon o zdravstveni ustreznosti živil in izdelkov ter snovi, ki prihajajo v stik z živili (ZZUZIS). 2000. *Uradni list Republike Slovenije*, št. 52. <https://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?sop=2000-01-2452>.
- Zakon o kemikalijah (ZKem-UPB1). 2003. *Uradni list Republike Slovenije*, št. 110. <https://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?sop=2003-01-4831>.
- Zakon o kozmetičnih proizvodih (ZkozP-UPB). 2003. *Uradni list Republike Slovenije*, št. 110. <https://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?sop=2003-01-4832>.

5

Laški smilj v prehrani

Nina Mohorko

Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem



© 2025 Nina Mohorko

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.5>

Uvod

Hrana in jedi so od nekdaj odsevale identiteto ljudi. Nanje pa močno vpliva tudi lokalno okolje, katerega del so divje rastline. Literatura poroča o povezavah med prehransko tradicijo prebivalcev Sredozemlja in njihovo dolgoživostjo, zato so mnoge raziskave usmerjene v povezavo med sredozemsko prehrano in zdravstvenim stanjem lokalnih skupnosti (Pieroni idr. 2005). V preteklosti se uživanja rastlin v prehranske namene ni razlikovalo od njihovega uživanja v medicinske namene (Guarrera in Savo 2016). Čeprav večina znanstvene literature k rastlinskim virom živil v sredozemski prehrani prišteva zgolj gojene rastline, je uporaba divjih rastlin kot del prehrane pomemben, a zapostavljen sestavni del sredozemske prehrane in odseva tradicionalno lokalno ekološko znanje (Hadjichambis idr. 2008; Biscotti in Pieroni 2015). Sredozemska prehrana namreč ni enoten sistem prehranjevanja v sredozemskem bazenu, temveč jo sestavlja množica lokalnih jedi in običajev in je kot taka deležna Unescove zaščite (Guarrera in Savo 2016). Kulinarična uporaba divjih rastlin je zelo lokalna, tudi etnobotanične raziskave poročajo o zelo nizkih indeksih podobnosti med različnimi kraji (Hadjichambis idr. 2008). Termin divje rastline označuje rastline, ki rastejo v svojem naravnem okolju, ne da bi bile gojene, včasih take, ki so bile v neko okolje prinesene in so bile naturalizirane, včasih, predvsem ko gre za zelišča, ki se uporabljajo za čaje, pa tudi rastline, ki so gojene, vendar ljudje o njih govorijo kot o divjih rastlinah (Łuczaj idr. 2012). Tradicionalno se za pripravo živil zmeša več divjih rastlin in se jih pripravi na različne načine: pogosto se divje rastline prevre (na ta način se uniči toksične sestavine nekaterih od njih), včasih

se prevrete uporabi v omletah, lahko se jih uporabi za kuhanje juh, v solatah, iz njih se dela rižote, pite, lahko se jih uporabi za začinjanje stročnic, testenin, pic in kruha, sirov, rib ter mesa in mesnih izdelkov (Gurrera in Savo 2016). Uporaba divjih rastlin je v tradicionalnih kuhinjah popestrila sicer monotono hrano – z dodajanjem različnih aromatičnih divjih rastlin so hrano diverzificirali (Łuczaj idr. 2012). Najpogosteje se v prehrani uporabljajo divje rastline iz družin *Asteraceae* in *Brassicaceae*, za katere je značilen grenek in oster okus, ki ga starejši domačini povezujejo z zdravo prehrano in mu včasih pripisujejo tudi zdravilne lastnosti (Biscotti in Pieroni 2015).

Dinamika spreminjanja znanja o divjih rastlinah in njihovi uporabi v kulinariki

Tradicionalno znanje o uporabi divjih rastlin v prehrani hitro izginja, tudi v najbolj izoliranih podeželskih okoljih, kjer te rastline poznajo samo še starejši prebivalci, jih nabirajo in uporabljajo (Ghirardini idr. 2007). Informanti srednjih let uživanje divjih rastlin, ki so del lokalne tradicije, razumejo v negativnem smislu, pogosto kot simbol revščine v preteklosti, mlada generacija pa je popolnoma izgubila tradicionalno znanje, potrebno za njihovo identifikacijo, nabiranje in pripravo (Pieroni idr. 2005). Zaradi omenjenega hitrega izginjanja biokulturne biodiverzitete etnobotanične raziskave zbirajo podatke o tradicionalni rabi divjih rastlin, da bi zaščitile kulturno dediščino in biodiverziteto; po drugi strani pa lahko vplivajo tudi na lokalno gospodarstvo s spodbujanjem uporabe divjih rastlin, na katere se pozablja (Łuczaj 2023). Obuditev tradicionalnega znanja o kulinaričnih divjih rastlinah spodbuja tudi Evropska unija v okviru svojih projektov, saj lahko v tradicionalno uporabljenih rastlinah prepoznamo nove nutracevtike, potencialno uporabne pri preprečevanju s starostjo povezanih bolezni (Pieroni idr. 2005).

Uporaba divjih rastlin v prehrani ni statičen proces, vzporedno s pozabljanjem tradicionalnega znanja na podeželju zaradi socioekonomskih in ekoloških sprememb se v urbanem okolju med izobraženimi mladimi ter ljudmi srednjih let povečuje zanimanje za lokalne vire hrane in za pozabljene divje rastline, ki postajajo del novega načina razmišljanja o hrani, ki se bliskovito širi po svetovnem spletu (Ghirardini idr. 2007; Łuczaj idr. 2012). Kot protiutež slabšanju kvalitete hrane v supermarketih se povečuje zanimanje za nabiranje divjih rastlin tudi v medijih, organizirajo se delavnice nabiranja rastlin, kmečki turizmi in lokalne turistične organizacije jih ponujajo kot lokalne atrakcije, prodrle pa so tudi v visoko

kuhinjo (Łuczaj idr. 2012). Zaradi potrjenih pozitivnih učinkov nekaterih od njih na zdravje potrošniki vedno več pozornosti (ponovno) posvečajo samozdravljenju s hrano (Petropoulos idr. 2018). Divje rastline v prehrani tako postajajo pomembne kot t. i. superživila, kot vir novih kulinaričnih doživetij ter v gibanjih, ki želijo zagotoviti dobro, čisto in pravično hrano za vse, kot je gibanje Slow Food – na ta način se uporaba divjih rastlin seli v okolja, ki zanje niso lokalna niti ne tradicionalna (Łuczaj idr. 2012).

Uporaba laškega smilja v kulinariki

Laški smilj se na območjih, kjer raste, tradicionalno uporablja tudi v kulinariki. Njegovi listi imajo okus po kariju in sladkem korenu, zato se v angleščini imenuje tudi rastlina kari (angl. *Curry plant*) in ga uporabljajo za začinjanje različnih jedi in zelenjavnih juh (Cannarella idr. 2022). O tovrstni uporabi zapisi prihajajo predvsem iz Italije, kjer ga v Bazilikati uporabljajo za začinjanje omak (Guarrera idr. 2006), v Liguriji pa tradicionalne uporabnike spominja na rožmarin, zato ga lokalno imenujejo *Rusmarin sarvego*, cenijo pa ga zaradi okusa, ki je nežnejši od rožmarinovega, in uporabljajo liste za začinjanje različnih jedi (Ghirardini idr. 2007). Redna uporaba zelišč in začimb v prehrani izboljša zdravje ter zmanjša tveganje za razvoj bolezni, poleg tega pa imajo uporabniki zelišč in začimb tudi nižje vnose soli, kar dodatno ugodno vpliva na krvni pritisk (Jiang 2019). S Hrvaškega poročajo o uporabi celotnega nadzemnega dela rastline pri pripravi žgane pijače travarice v Dalmatinski zagori



Slika 1

Laški smilj se pogosto uporablja kot začimba

(Ninčević Runjić idr. 2024). V primerjavi z drugimi divjimi rastlinami iz družine *Asteraceae* je etnobotaničnih zapisov o uporabi laškega smilja v kulinariki v znanstveni literaturi malo, več je etnofarmakoloških opisov, v katerih navajajo interno uporabo poparkov cvetov, cvetoče rastline, listov ali nadzemnih delov laškega smilja za prebavne težave, težave z jetri in žolčem, kašelj, prehlad in druga vnetja dihalnih poti, uporabo prevretka cvetov in listov za vnetje ter kašelj in za čiščenje želodca ter uporabo soka mladih listov in vršičkov za bolečine v želodcu (Antunes Viegas idr. 2014). Literatura pa poroča tudi o protidiabetičnem delovanju čaja iz smilja (Pereira idr. 2017).

Skladno s poročanjem literature o renesansi zanimanja za uporabo divjih rastlin v prehrani v urbanem okolju, kjer se jih prej ni uporabljalo, pa se več zapisov o uporabi laškega smilja v kulinariki najde v sodobni poljudni literaturi na spletu, kjer so opisani različni načini in možni vzroki uporabe (Behrič b. l.) ter različni recepti. Tako priporočajo njegovo uporabo za pripravo zeliščnega čaja in likerja (Mascotto in Tassoni 2023), kot zelišča za začinjanje mesa (Colombo 2024b), stročnic (Colombo 2024a; Bartolomei 2023), jajc, jogurta, sirov in rib (Lautanen-Raleigh 2018). Ekstravagantnejši recepti smilj priporočajo za začinjanje sadnih solat ter sladoleda (Mascotto in Tassoni 2023), naveden pa je tudi recept za pesto, kjer je količina uporabljenega smilja večja od prej navedenih (»Pesto Mandorle & Elicriso« 2022; »Spaghetti al pesto di elicriso« b. l.). Omenjeni recepti priporočajo uporabo listov, cvetov ali kombinacije obojega. Vzporedno s povečevanjem znanja o prehranski vrednosti laškega smilja in z znanstvenim potrjevanjem njegovih učinkov na zdravje gre pričakovati nove recepte in njegovo uporabo v funkcionalnih živilih, pijačah, prehranskih dopolnilih, kot prehranski aditiv ali protimikrobno sredstvo, kot predlagajo za druge užitne halofite iz sredozemskega bazena (Petropoulos idr. 2018; Pereira idr. 2017).

Prehranska vrednost laškega smilja

Zaradi povečanega zanimanja potrošnikov in prehranske industrije za zdravo ter funkcionalno hrano se je začelo raziskovati kemično sestavo divjih rastlin (Petropoulos idr. 2019). Cvetovi laškega smilja imajo relativno visok delež vode, približno 40 % (Primitivo idr. 2022). 85 % suhe mase predstavljajo ogljikovi hidrati, 5,5 % beljakovine in 3,6 % lipidi, kar je primerljivo z drugimi užitnimi cvetovi, kot so cvetovi *Helichrysum petiolare*, vrste smilja iz Južne Afrike, cvetovi šipka in vrtnega ognjiča (Primitivo idr. 2022). Cvetovi laškega smilja imajo ugodno maščobno sestavo: približno

54 % maščob je iz nasičenih maščobnih kislin, sledijo večkrat nenasičene (približno 38 % maščob) in enkrat nenasičene maščobne kisline (približno 8 % maščob) (Primitivo idr. 2022). Najbolj zastopana maščobna kislina v cvetovih laškega smilja je linolna kislina (večkrat nenasičena maščobna kislina omega-6), ki predstavlja približno 23 % vseh maščobnih kislin; sledita palmitinska (nasičena maščobna kislina; 16,5 % maščobnih kislin) in alfa-linolenska kislina (večkrat nenasičena maščobna kislina omega-3; 12,4 % maščobnih kislin), od nasičenih pa je v večji meri prisotna še miristinska (10,5 % maščobnih kislin). Od enkrat nenasičenih maščobnih kislin je najbolj prisotna oleinska kislina, ki predstavlja 4,5 % maščobnih kislin v cvetovih smilja (Primitivo idr. 2022). Tako natančna hranilna sestava cvetov laškega smilja je bila določena zgolj za podvrsto *H. italicum Picardii Franco*, ki raste na zahodu Iberskega polotoka (cvetovi so bili nabrani v Leirii na Portugalskem) (Primitivo idr. 2022). V količinah, v katerih se uporaba smilja navaja v etnobotaničnih zapisih in v sodobnih priporočilih na spletu, postanejo morebitne razlike med podvrstami zanemarljive, saj se smilj večinoma uporablja kot začimba ali zelišče za čaj. V luči dinamičnega spreminjanja uporabe divjih rastlin v kulinariki, kjer v sodobnih receptih dobivajo nove vloge, pa bi bilo treba natančno določiti hranilno sestavo tudi v drugih podvrstah ter v celotni nadzemni rastlini.

Mineralna sestava laškega smilja je bila določena v dveh raziskavah in je odvisna od podvrste ter sestave tal na lokaciji rastišča (Bianchini idr. 2009; Primitivo idr. 2022). Laški smilj vsebuje kalcij (4,5–20 mg/g sveže mase), kalij (5,2–28,3 mg/g sveže mase), fosfor (130–4100 µg/g sveže mase), žveplo (okrog 240 µg/g sveže mase), baker (3,8–56 µg/g sveže mase), železo (88,5–950 µg/g sveže mase), mangan (74–750 µg/g sveže mase), cink (28–240 µg/g sveže mase) ter nikelj (okrog 15 µg/g sveže mase), rubidij (okrog 10,5 µg/g sveže mase) in stroncij (okrog 66 µg/g sveže mase) (Bianchini idr. 2009; Primitivo idr. 2022).

Bolj od makro- in mikrohranil pa je v laškem smilju raziskana vsebnost fitokemikalij. Od barvil so v cvetovih laškega smilja, ki jih odlikuje živorumenena barva, prisotni predvsem karotenoidi (68 ± 5 µg/g suhe mase), klorofil a (31 ± 7 µg/g suhe mase) in klorofil b (26 ± 10 µg/g suhe mase) (Primitivo idr. 2022). Karotenoidi, ki jih ljudje nismo sposobni sintetizirati sami in jih moramo zato v telo vnesti s hrano, imajo pri zdravju številne vloge: pomembni so za zdravje oči in vid, vplivajo na kognitivne funkcije, na zdravje srca, v koži delujejo fotoprotektivno (tako funkcijo imajo tudi v rastlinah, ki jih sintetizirajo), vplivajo na plodnost,

imunomodulacijo, učinkujejo na izražanje genov in delujejo preventivno v zvezi z rakom (Eggersdorfer in Wyss 2018). Klorofili se absorbirajo v zelo majhni meri, večina se jih med prebavo kemično spremeni in njihovi presnovni produkti vežejo ksenobiotike, kot so dioksini in aflatoksin, ter povečajo njihovo izločanje (Zhong idr. 2021). Pomemben vpliv klorofilov iz laškega smilja na zdravje pa lahko pričakujemo zgolj, ko bi smilj zaužili v večjih količinah, kot npr. v obliki pesta, kar je predlagano v enem od netradicionalnih receptov s spleta. Vendar uporaba divje rastline v dozah, značilnih za začinjaje, ni premajhna za ugodne učinke na zdravje: klinične raziskave zelišč in začimb ter njihovih mešanic ugotavljajo, da ima lahko njihovo vključevanje v prehrano preventivne in terapevtske učinke ter da lahko vplivajo na ravni glukoze, inzulina in lipidov v krvi po obrokih, predvsem zaradi prisotnih bioaktivnih spojin (Mackonochie idr. 2023).

Laški smilj je najbolj cenjen prav zaradi svojih bioaktivnih spojin, ki so tudi najbolj raziskane. Celokupna vsebnost fenolnih spojin v cvetovih laškega smilja podvrste *picardii* je bila okrog 40 mg ekvivalentov galne kisline (GAE)/g ($41,8 \pm 2,9$ mg GAE/g v 70 % (v/v) acetonskih izvlečkov in $39,5 \pm 1,1$ mg GAE/g v vodnih poparkih), glavne skupine fenolnih spojin, ki so jih identificirali, pa so bile fenolne kisline, kurkuminoidi in karotenoidi (Primitivo idr. 2022). Celokupna vsebnost fenolnih spojin v skodelici čaja laškega smilja podvrste *picardii* (1 g rastline/200 mL vode) je bila odvisna od načina priprave (v prevretku je bila višja kot v poparku) in uporabljenih delov rastline: najnižja je bila pri uporabi korenin (poparek $13,9 \pm 0,5$ mg GAE/200 mL; prevretek $20,5 \pm 1,5$ mg GAE/200 mL), sledila je nadzemna rastlina (poparek $62,0 \pm 1,0$ mg GAE/200 mL; prevretek $70,2 \pm 4,3$ mg GAE/200 mL), najvišja pa je bila pri uporabi cvetov (poparek $69,9 \pm 3,9$ mg GAE/200 mL; prevretek $76,5 \pm 2,6$ mg GAE/200 mL), enako stopnjevanje pa velja tudi za celokupno vsebnost flavonoidov, derivatov hidroksicimetne kisline in flavanolov (Pereira idr. 2017). Celokupna vsebnost fenolnih spojin v izvlečkih celotne nadzemne rastline laškega smilja podvrste *italicum* je bila nižja v vročem vodnem izvlečku (19 ± 5 mg ekvivalentov klorogenske kisline (CAE)/g suhe rastline) kot v hladnem in v etanolno-vodnem izvlečku (v obeh 40 ± 1 mg CAE/g suhe rastline), v navedenih izvlečkih pa smo identificirali sto različnih fenolnih spojin, ki so spadale k hidroksicimetnim in hidroksibenzojskim kislinam, flavonoidom, kumarinom, pironom pa tudi k izobenzofuranonom, neolignanom, acetofenonom in tremetonom (Kramberger idr. 2020).

Vpliv načina priprave hrane na prisotnost bioaktivnih snovi v njej

Pri oceni prehranskih vrednosti divjih rastlin je treba upoštevati način priprave, kot so termična obdelava in njena vrsta ter/ali prisotnost maščobe, saj vplivajo na biorazpoložljivost specifičnih razredov naravnih sestavin in posledično na dobrodejne učinke hrane, kot sta njen antioksidativni potencial ali preprečevanje s starostjo povezanih bolezni (Pieroni idr. 2005). Pri pripravi čaja iz laškega smilja gre tako za vroči vodni izvleček, žgana pijača je primer alkoholnega macerata, medtem ko je priprava smilja v obliki pesta primer macerata v olju. Bioaktivne spojine iz laškega smilja v različnih izvlečkih in v eteričnem olju so natančneje opisane v kasnejših poglavjih, prav tako vplivi na biorazpoložljivost.

Pri uporabi laškega smilja kot začimbe za termično obdelane jedi lahko različni načini kuhanja učinkujejo različno. Podatkov za laški smilj s področja vpliva načina kuhanja na prisotnost bioaktivnih snovi nimamo. Poročila o drugih rastlinah, npr. ingverju, pa za različne načine kuhanja opisujejo spremembe v količini bioaktivnih snovi in njihovi sestavi (Zagórska idr. 2022). Odvisno od načina kuhanja imamo lahko kot topili prisotno vodo in/ali olje v različnih razmerjih. Pri kuhanju v vodi bioaktivne snovi prehajajo v vodo, kar lahko vodi v izgube, posebej če se vodo zavrže (Zagórska idr. 2022). V primeru juh in omak, kjer se vodo od kuhanja zaužije, pa morda lahko pričakujemo višjo vsebnost fenolov, saj so v prevretku laškega smilja opazili višjo celokupno vsebnost fenolov kot v poparku (Pereira idr. 2017). Kratka toplotna obdelava v vodi ali pari, kot sta blanširanje in kuhanje na pari, lahko poveča celokupno vsebnost fenolov; pri praženju vroč suh zrak interagira z živilom, pri tem pride do nastajanja novih spojin in uničenja drugih zaradi termolabilnosti, kar se odraža v spremembah sestave olja (Zagórska idr. 2022).

Grenka hrana kot zdravilo

V tradicionalnih družbah je znano prekrivanje med prehrano in medicino (Pieroni idr. 2005). Ljudje so divje rastline grenkega okusa tradicionalno prepoznali kot take s pozitivnim učinkom na zdravje, pri čemer je korist za zdravje prevladala nad začetno neprijetnostjo grenkega okusa (Pieroni idr. 2023). Že v antiki so stari Rimljani uporabljali grenke aperitive, da bi pripravili črevesni sistem na prebavo hrane in absorpcijo hranil (Trius-Soler in Moreno 2024), in digestive po obroku za izboljšanje prebave ter da bi preprečili letargijo (Harmon idr. 2021), uporaba grenkih alkoholnih pijač iz zelišč kot aperitiv ali digestiv pa se je ohranila v sedanost (Egea idr. 2015), primer take je tudi travarica iz smilja. Mnoge

aromatične divje rastline olajšajo prebavo in se jih zaradi tega kot začimbe dodaja hrani (Guarrera in Savo 2016). Čeprav etnobotanični zapisi o uporabi smilja kot začimbe ne navajajo njegovih učinkov na prebavo, pa o slednjih pričajo etnofarmakološki zapisi o njem (Antunes Viegas idr. 2014). Čaj iz laškega smilja, za katerega literatura poroča o ugodnih učinkih na prebavila in dihalo (Antunes Viegas idr. 2014), ima grenek okus, ki so ga preiskovanci v klinični raziskavi ocenili kot sprejemljivega (Kenig idr. 2021; Kenig idr. 2022).

Grenek okus se zazna s pomočjo z G-proteinom povezanih receptorjev iz družine za okus 2, T2R (iz. angl. *Taste Family 2 Receptors*), ki se izražajo v okušalnih celicah tipa II v okušalnih mešičkih na jeziku in v orofarinksu ter obstajajo v obliki več različnih analogov, v populaciji pa je bilo odkritih več kot 150 eno-nukleotidnih polimorfizmov, ki vplivajo na veliko variabilnost v sposobnosti zaznavanja grenkega okusa v populaciji (Trius-Soler in Moreno 2024). T2R pa niso zgolj gustatorni receptorji, delujejo kot kemosenzorji, ki nadzorujejo okolje v telesu in sprožijo odzive na različne grožnje, kot so deregulacija presnove, toksini in infekcije (Harmon idr. 2021). Tako v ustih sodelujejo pri aktivaciji prirojene imunosti, v rakavih celicah glave in vratu pa njihova signalizacija sproži znižano raven presnove, znižano proliferacijo in apoptozo (Harris idr. 2024). Receptorje za grenko T2R najdemo tudi po celotnih prebavilih, kjer vplivajo na njihovo funkcionalnost, znižajo pridobivanje telesne mase in vplivajo na homeostazo glukoze; T2R so prisotni tudi v pljučih, možganih in srcu (Trius-Soler in Moreno 2024). Dajanje grenkega poparke v želodec je povzročilo akutno znižanje apetita in ravni acil-grelina ter motilina v plazmi (Verbeure idr. 2021), kar potrjuje smiselnost uporabe grenkih aperitivov. Kot aperitiv bi se lahko uporabljalo tudi čaj iz laškega smilja, ki akutno po zaužitju tudi zviša presnovo v mirovanju (Kenig idr. 2021). Kronična (štiritedenska) uporaba čaja iz laškega smilja dve uri po večerji je znižala hrepenenje po sladki hrani in prigrizkih, prav tako pa je ugodno vplivala na telesno maso preiskovancev in njihov lipidni profil (Kenig idr. 2022).

Morda polifenoli in druge fitokemikalije grenkega okusa, za katere so značilne nizka biorazpoložljivost in posledično nizke ravni v tkivu, svoje fiziološke učinke dosegajo tudi preko receptorjev T2R (Trius-Soler in Moreno 2024).

Grenek okus lahko nekatere ljudi odvrne od uživanja zelenjave in divjih rastlin. Vendar lahko na njegovo percepcijo vplivamo s spreminjanjem

pH: kisel pH zniža percepcijo grenkega, tako postanejo z limono zabeljene divje rastline (kot se jih uživa npr. v solatah) manj grenke in zato sprejemljivejše, v prebavilih, kjer je pH drugačen, pa se grenke spojine lahko vežejo na receptorje T2R in preko njih delujejo pozitivno na zdravje (Pieroni idr. 2023). Prav tako lahko kisel pH pomembno vpliva na biorazpoložljivost fenolnih spojin iz rastlin (Hithamani in Srinivasan 2017). Uporabo laškega smilja z limeto priporočajo tudi nekateri recepti na spletu (Colombo 2024b). Podobno bi se dalo z dodatkom limone ali limete izboljšati okus čaja iz smilja, katerega ocena je bila sprejemljiva, vendar je dopuščala prostor za izboljšave (Kenig idr. 2021; Kenig idr. 2022). Navedena kombinacija laškega smilja in limone ali limete pa je primerna tudi za funkcionalne pijače ter funkcionalna živila, katerih razvoj je pričakovati glede na ugotovljene ugodne učinke laškega smilja na zdravje.

Zaključek

Laški smilj se v prehrani uporablja kot začimba in kot zel za pripravo čaja ter travarice. Znanje o njegovi uporabi se seli iz lokalnih tradicionalnih okolij v širšo javnost in se odmika od lokalnega okolja s pomočjo naglega širjenja informacij po spletu. To je lahko priložnost za promocijo njegove širše uporabe, saj uporaba divjih rastlin v prehrani slednjo diverzificira, hkrati pa dolgoročno ugodno deluje na zdravje. Veliko prostora je tudi za izdelavo novih, inovativnih funkcionalnih živil. Laški smilj je namreč cenjen zaradi bogate prisotnosti biološko aktivnih snovi, zaradi katerih ima ugodne učinke na prebavni trakt, dihalo, uravnavanje telesne mase in presnovni sindrom. Na nekatere učinke lahko vpliva tudi njegov grenek okus, saj so receptorji za grenko razporejeni po celotnih prebavilih in tudi v drugih tkivih ter vpleteni v za zdravje ugodno signalizacijo. Za nekatere manj spremenljiv grenek okus se da zamaskirati s kombinacijo s kislim sokom limone ali limete, kar je pogosta strategija uživanja divjih rastlin v Sredozemlju in se najde tudi v sodobnih receptih, ki vključujejo laški smilj.

Viri

- Antunes Viegas, D., A. Palmeira-de-Oliveira, L. Salgueiro, J. Martinez-de-Oliveira in R. Palmeira-de-Oliveira. 2014. »*Helichrysum italicum*: From Traditional Use to Scientific Data.« *Journal of Ethnopharmacology* 151 (1): 54–65.
- Bartolomei, D. 2023. »Zuppa ceci all'elicroso per abc un mondo di ingredienti lettera E.« *L'ingrediente perduto*, 26. april. <https://ingredienteperduto>

- .blogspot.com/2023/04/zuppa-ceci-allelicriso-per-abc-un-mondo.html.
- Behrič, Bene. B. I. »Smilj – balzam za občutljivo kožo in začimba.« Bodi eko. <https://www.bodieko.si/smilj>.
- Bianchini, A., F. Santoni, J. Paolini, A.-F. Bernardini, D. Mouillot in J. Costa. 2009. »Partitioning the Relative Contributions of Inorganic Plant Composition and Soil Characteristics to the Quality of *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* (Roth) G. Don Fil. Essential Oil.« *Chemistry and Biodiversity* 6 (7): 1014–1033.
- Biscotti, N., in A. Pieroni. 2015. »The Hidden Mediterranean Diet: Wild Vegetables Traditionally Gathered and Consumed in the Gargano Area, Apulia, SE Italy.« *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 84 (3): 327–338.
- Cannarella, C., F. Mariani in V. Piccioni. 2022. »A spasso fra i “Semplici” e le Erbe della Tuscia.« *Etrurianatura* 15:126–138.
- Colombo, T. 2024a. »Insalata di ceci ed elicriso, un piatto raffinato e rustico.« Nonnapaperina, 15. junij <https://www.nonnapaperina.it/2024/06/insalata-di-ceci-ed-elicriso-un-piatto-raffinato-e-rustico/>.
- Colombo, T. 2024b. »Pollo al lime e elicriso, un secondo raffinato e leggero.« Nonnapaperina, 3. julij <https://www.nonnapaperina.it/2024/07/pollo-al-lime-e-elicriso-un-secondo-raffinato-e-leggero/>.
- Egea, T., M. A. Signorini, P. Bruschi idr. 2015. »Spirits and Liqueurs in European Traditional Medicine: Their History and Ethnobotany in Tuscany and Bologna (Italy).« *Journal of Ethnopharmacology* 175:241–255.
- Eggersdorfer, M., in A. Wyss. 2018. »Carotenoids in Human Nutrition and Health.« *Archives of Biochemistry and Biophysics* 652:18–26.
- Ghirardini, M. P., M. Carli, N. Del Vecchio idr. 2007. »The Importance of a Taste: A Comparative Study on Wild Food Plant Consumption in Twenty-One Local Communities in Italy.« *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 3 (1): 22.
- Guarrera, P. M., in V. Savo. 2016. »Wild Food Plants Used in Traditional Vegetable Mixtures in Italy.« *Journal of Ethnopharmacology* 185 (5): 202–234.
- Guarrera, P. M., G. Salerno in G. Caneva. 2006. »Food, Flavouring and Feed Plant Traditions in the Tyrrhenian Sector of Basilicata, Italy.« *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2 (1): 37.
- Hadjichambis, A. Ch., D. Paraskeva-Hadjichambi, A. Della idr. 2008. »Wild and Semi-Domesticated Food Plant Consumption in Seven Circum-Mediterranean Areas.« *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 59 (5): 383–414.
- Harmon, C. P., D. Deng in P. A. S. Breslin. 2021. »Bitter Taste Receptors (T2Rs) are Sentinels that Coordinate Metabolic and Immunological Defense Responses.« *Current Opinion in Physiology* 20:70–76.

- Harris, J. C., R. J. Lee in R. M. Carey. 2024. »Extragustatory Bitter Taste Receptors in Head and Neck Health and Disease.« *Journal of Molecular Medicine* 102 (12): 1413–1424.
- Hithamani, G., in K. Srinivasan. 2017. »Bioaccessibility of Polyphenols from Selected Cereal Grains and Legumes as Influenced by Food Acidulants.« *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97 (2): 621–628.
- Jiang, T. A. 2019. »Health Benefits of Culinary Herbs and Spices.« *Journal of AOAC International* 102 (2): 395–411.
- Kenig, S., K. Kramberger, A. Petelin itd. 2021. »*Helichrysum italicum* ssp. *italicum* Infusion Promotes Fat Oxidation in Hepatocytes and Stimulates Energy Expenditure and Fat Oxidation after Acute Ingestion in Humans: A Pilot Study.« *Plants* 10 (8): 1516.
- Kenig, S., K. Kramberger, K. Šik Novak idr. 2022. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench Infusions in Reversing the Traits of Metabolic Syndrome: A Double-Blind Randomized Comparative Trial.« *Food and Function* 13 (14): 7697–7706.
- Kramberger, K., D. Barlič-Maganja, D. Bandelj idr. 2020. »HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS Determination of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity Comparison of the Hydroalcoholic and Water Extracts from Two *Helichrysum italicum* Species.« *Metabolites* 10 (10): 403.
- Lautanen-Raleigh, M. 2018. »Curry Plant - Herb of the Week.« Backyard Patch Herbal Blog, 18. julij. <https://backyardpatch.blogspot.com/2018/07/curry-plant-herb-of-week.html>.
- Łuczaj, Ł. 2023. »Descriptive Ethnobotanical Studies Are Needed for the Rescue Operation of Documenting Traditional Knowledge.« *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 19 (1): 37.
- Łuczaj, Ł., A. Pieroni, J. Tardío idr. 2012. »Wild Food Plant Use in 21st Century Europe: The Disappearance of Old Traditions and the Search for New Cuisines Involving Wild Edibles.« *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 81 (4): 359–370.
- Mackonochie, M., A. Rodriguez-Mateos, S. Mills in V. Rolfe. 2023. »A Scoping Review of the Clinical Evidence for the Health Benefits of Culinary Doses of Herbs and Spices for the Prevention and Treatment of Metabolic Syndrome.« *Nutrients* 15 (23): 4867.
- Mascotto, N., in V. Tassoni. 2023. »Elicriso in cucina: liquore di elicriso.« Vittoria in cucina, 1. avgust. <https://www.vittoriaincucina.it/elicriso-in-cucina-liquore-di-elicriso/>.
- Ninčević Runjić, T., M. Jug-Dujaković, M. Runjić in Ł. Łuczaj. 2024. »Wild Edible Plants Used in Dalmatian Zagora (Croatia).« *Plants* 13 (8): 1079.
- Pereira, C. G., L. Barreira, S. Bijttebier idr. 2017. »Chemical Profiling of Infusions and Decoctions of *H. italicum* subsp. *picardii* by UHPLC-PDA-MS

- and *in vitro* Biological Activities Comparatively with Green Tea (*Camellia sinensis*) and Rooibos Tisane (*Aspalathus linearis*).« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 145:593–603.
- »Pesto Mandorle & Elicriso.« 2022. Fun&Food: Blog di cucina & tempo libero, 3. maj. <https://www.funandfood.it/2022/05/03/pesto-mandorle-elicriso/>.
- Petropoulos, S. A., A. Karkanis, N. Martins in I. C. F. R. Ferreira. 2018. »Edible Halophytes of the Mediterranean Basin: Potential Candidates for Novel Food Products.« *Trends in Food Science and Technology* 74:69–84.
- Petropoulos, S. A., Â. Fernandes, N. Tzortzakidis idr. 2019. »Bioactive Compounds Content and Antimicrobial Activities of Wild Edible Asteraceae Species of the Mediterranean Flora Under Commercial Cultivation Conditions.« *Food Research International* 119:859–868.
- Pieroni, A., G. Morini, M. Piochi idr. 2023. »Bitter Is Better: Wild Greens Used in the Blue Zone of Ikaria, Greece.« *Nutrients* 15 (14): 3242.
- Pieroni, A., S. Nebel, R. F. Santoro in M. Heinrich. 2005. »Food for Two Seasons: Culinary Uses of Non-Cultivated Local Vegetables and Mushrooms in a South Italian Village.« *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56 (4): 245–272.
- Primitivo, M. J., M. Neves, C. L. Pires idr. 2022. »Edible Flowers of *Helichrysum italicum*: Composition, Nutritive Value, and Bioactivities.« *Food Research International* 157 (2): 111399.
- »Spaghetti al pesto di elicriso.« B. I. Fresco Aroma. <https://www.frescoaroma.it/spaghetti-al-pesto-di-elicriso/>.
- Trius-Soler, M., in J. J. Moreno. 2024. »Bitter Taste Receptors: Key Target to Understand the Effects of Polyphenols on Glucose and Body Weight Homeostasis; Pathophysiological and Pharmacological Implications.« *Biochemical Pharmacology* 228:116192.
- Verbeure, W., E. Deloosse, J. Tóth idr. 2021. »The Endocrine Effects of Bitter Tasting Administration in the Gastrointestinal System: Intragastric Versus Intraduodenal Administration.« *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 321 (1): E1–E10.
- Zagórska, J., L. Czernicka-Boś, W. Kukula-Koch, R. Szalak in W. Koch. 2022. »Impact of Thermal Processing on the Composition of Secondary Metabolites of Ginger Rhizome: A Review.« *Foods* 11 (21): 3484.
- Zhong, S., A. Bird in R. E. Kopec. 2021. »The Metabolism and Potential Bioactivity of Chlorophyll and Metallo-Chlorophyll Derivatives in the Gastrointestinal Tract.« *Molecular Nutrition and Food Research* 65 (7): e2000761.

Sklop 2

Tehnološki postopki in bioaktivne spojine laškega smilja

6 Spravilo in predelava laškega smilja • 99

*Dunja Bandelj, Alenka Baruca Arbeiter, Matjaž Hladnik
in Katja Kramberger*

7 Tehnološki postopki pridobivanja pripravkov iz laškega smilja • 111

Katja Kramberger

8 Bioaktivne spojine vodnih in organskih izvlečkov laškega smilja • 127

Katja Kramberger

9 Bioaktivne spojine hidrolata in eteričnega olja laškega smilja • 141

Dunja Bandelj, Katja Kramberger, Matjaž Hladnik

6

Spravilo in predelava laškega smilja

Dunja Bandelj

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Alenka Baruca Arbeiter

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Matjaž Hladnik

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Katja Kramberger

Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem



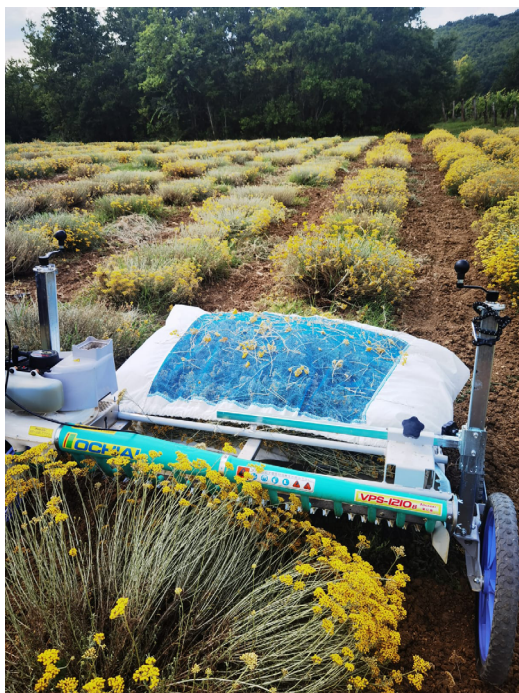
© 2025 Dunja Bandelj, Alenka Baruca Arbeiter, Matjaž Hladnik in Katja Kramberger
<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.6>

Žetev laškega smilja in pridelki

Za načrtovanje žetve laškega smilja je pomembno spremljanje fenofaze cvetenja, saj se na osnovi razvoja pakobulastih socvetij in koškov odločamo



Slika 1 Kapljice eteričnega olja na apikalnem delu žlezni trihomov na generativnih in vegetativnih poganjkih laškega smilja



Slika 2

Žetvena naprava za zelišča
(Foto: J. Bergant)

o času žetve. Po izkušnjah optimalen čas žetve med leti variira in je odvisen od vremenskih pogojev v rastni dobi ter intenzitete pomladne rezi. Močna rez lahko nekoliko zamakne nastop fenofaze cvetenja. Za pridobitev kakovostnega eteričnega olja laški smilj žanjemo, ko je v nasadu odprta tretjina do polovica koškov v pakobulastih socvetjih (Pohajda idr. 2015; Rajić idr. 2015). Žanjemo vegetativne poganjke in generativne poganjke s socvetji, saj oboji vsebujejo žlezne trihome, na vrhu katerih se kopiči eterično olje (slika 1). V manjših nasadih žetev običajno poteka ročno, v večjih pa je strojna. Na manjših površinah si lahko pomagamo tudi s posebnimi žetveniki za zelišča (slika 2). Čas žetve v Sloveniji je običajno v drugi polovici junija, ponekod pa laški smilj žanjejo kasneje, v mesecu juliju.

Po žetvi je treba destilacijo izvesti takoj oz. najkasneje v 24 urah, saj v požetih poganjkih intenzivno potekajo biokemijski procesi (npr. oksidacija), ki povzročajo kemijske spremembe bioloških spojin v eteričnem olju (Matin idr. 2021). Na Hrvaškem poročajo o pomanjkanju kapacitet za destilacijo, zato ponekod požet laški smilj predhodno sušijo v sušilnicah ali naravno, saj sušenje zmanjša encimsko in mikrobnno aktivnost

(Matin idr. 2021). Uporaba sušilnic omogoča kontrolirane pogoje sušenja (temperatura 35–40 °C), vendar pa je ta način energetsko potraten. Večina se poslužuje naravnega sušenja v senci, pri čemer je treba paziti, da rastlinski material ni izpostavljen živalim in pticam (Pohajda idr. 2015). S sušenjem se masa svežega materiala zmanjša za približno 65 % (Matin idr. 2021), kar smo potrdili s poskusi sušenja tudi na UP FAMNIT, kjer se je začetna masa svežega rastlinskega materiala v letih 2023 in 2024 zmanjšala za 64,3 % oz. za 63,3 %.

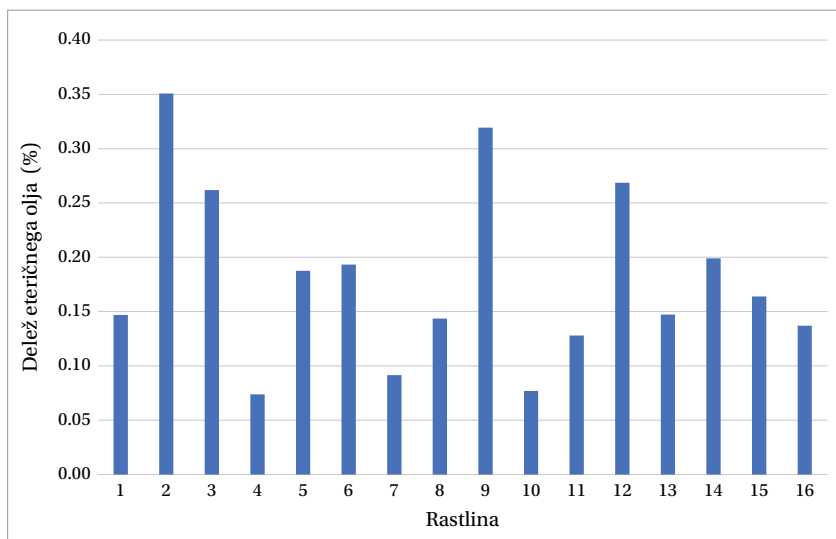
Ponekod se odločajo tudi za drugo žetev jeseni, v mesecu oktobru. V ugodnih poletnih vremenskih razmerah laški smilj ponovno odžene in oblikuje pakobulasta socvetja, v primeru vročega poletja in suše pa je prirast slabša, zato v takih razmerah agronomi ne svetujejo jesenske žetve, saj bi rastline izpostavili dodatnemu stresu.

Zelo pomemben podatek je pridelek sveže mase na enoto površine, ker lahko služi za oceno pridelka eteričnega olja. V kolekcijskem nasadu UP FAMNIT že več let redno spremljamo pridelke laškega smilja s tehtanjem požetih rastlin. Sveža masa požetega materiala je v letih 2023 in 2024 v povprečju znašala 342 g na rastlino, pridelek na enoto površine pa je odvisen od gostote sajenja. Pri sadilni razdalji 0,7 m x 0,5 m (28.000 rastlin/ha) se pričakuje pridelek zelene mase 9,58 t/ha, pri 1,0 m x 0,5 m (20.000 rastlin/ha) 6,84 t/ha in pri 1,6 m x 0,80 m (7.800 rastlin/ha) 2,67 t/ha. Ines Pohajda idr. (2015) ter Aleksandra Gavarić idr. (2017) poročajo, da se lahko iz enega hektara pridobi od sedem do osem ton svežega materiala, medtem ko Tonka Ninčević (2020) poroča o pridelkih od 7 do 12 t/ha sveže rastlinske mase. Dobljeni podatki na UP FAMNIT so primerljivi s podatki v omenjenih raziskvah.

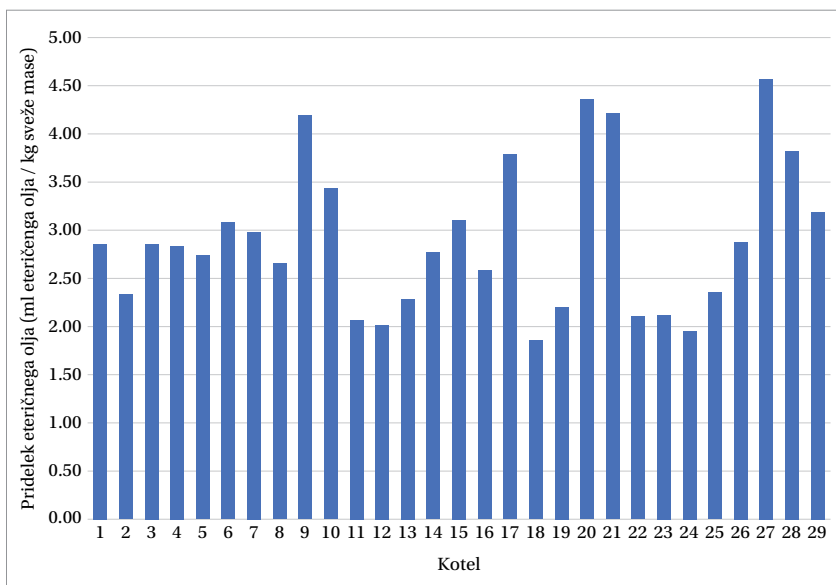
Večletno spremljanje in izkušnje na UP FAMNIT kažejo, da so pridelki zelene mase ter izpleni eteričnega olja zelo odvisni od genotipa rastline. V nadaljevanju so predstavljeni podatki, pridobljeni z laboratorijsko parno destilacijo (slika 3) sveže mase posameznih rastlin v letu 2023, ter deleži eteričnega olja 16 genetsko različnih rastlin, ki uspevajo v kolekcijskem nasadu UP FAMNIT v Ospu v izenačenih okoljskih pogojih. Deleže vsebnosti eteričnega olja smo pridobili iz podatkov o sveži masi rastline in masi eteričnega olja. Najnižje dobljene vrednosti so bile od 0,07 do 0,09 %, najvišji delež eteričnega olja pa je znašal 0,35 % (slika 4). Oljevitost je med leti dokaj stabilna, zato lahko raznolikost v vsebnosti eteričnega olja pri posamezni rastlini pripišemo vplivu genotipa. Iz teh podatkov je razvidno, da izbira genotipa pomembno vpliva na količino



Slika 3
Laboratorijska
parna destilacija iz
ene rastline laškega
smilja



Slika 4 Delež eteričnega olja (masa eteričnega olja/sveža masa rastline, izražena v %) v posameznih genetsko različnih rastlinah (genotipih), pridobljen s parno, laboratorijsko destilacijo na UP FAMNIT v letu 2023



Slika 5 Prikaz volumnov eteričnega olja na kilogram sveže mase laškega smilja, dobljenih pri terenski, parni destilaciji rastlin iz kolekcijskega nasada v Ospu med letoma 2020 in 2024

pridelka na enoto površine, saj obstajajo genotipi laškega smilja, ki imajo v povprečju tri- do štirikrat večjo sposobnost sinteze eteričnega olja. Podobno ugotavljajo tudi drugi avtorji; Milena Tzanova idr. (2018) poročajo o izplenih od 0,19 do 0,26 %, Maksimović idr. (2017) o izplenih od 0,02 do 0,78 %, Silviya Mollova idr. (2020) pa o izplenih od 0,10 do 0,14 %. Na vsebnost eteričnega olja lahko vpliva tudi razvojna faza rastline. Bianchini idr. (2001) so poročali, da se pridelki eteričnega olja glede na razvojno fazo gibljejo od 0,11 do 0,42 % glede na svežo maso.

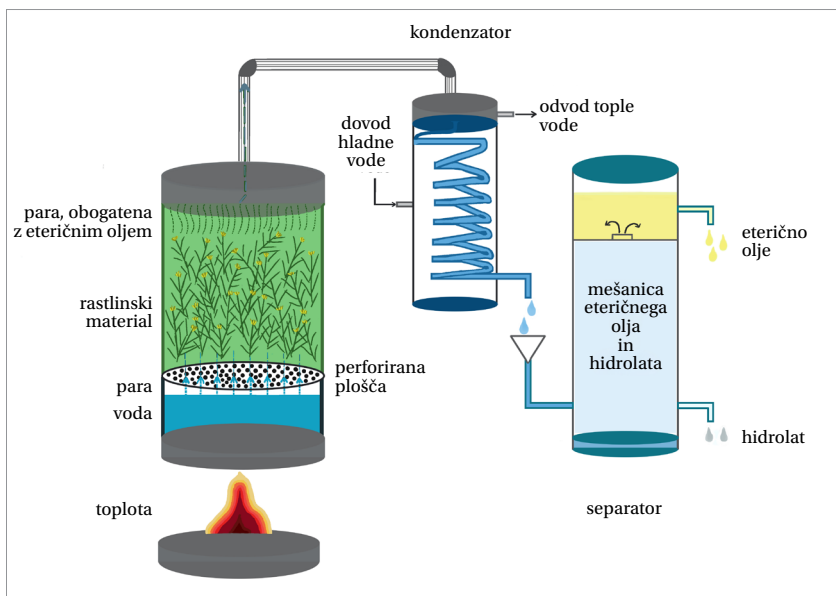
Realne podatke pridelka eteričnega olja s terena smo pridobili še z destilacijo v inoks kotlu s kapaciteto do 13 kg sveže mase. Med letoma 2020 in 2024 smo na UP FAMNIT opravili 29 destilacij svežega rastlinskega materiala iz kolekcijskega nasada v Ospu. V povprečju smo iz 1 kg sveže mase pridobili 2,9 ml eteričnega olja (oz. 2,9 l eteričnega olja, preračunano na tono sveže mase): najmanjši volumen je znašal 1,85 ml/kg sveže mase, največji pa 4,75 ml/kg sveže mase (slika 5). Razlike v pridobljenih volumnih med kotli so posledica odbire rastlin po izenačenosti genetskega materiala za posamezen kotel. Vse rastline pa so bile požete v optimalnem času, ko je bila odprta tretjina koškov v pakobulastih socvetjih. Ob upoštevanju relativne gostote eteričnega olja laškega smilja, ki znaša

0,902 (Ratajc 2016), bi bili pridelki eteričnega olja v povprečju 2,6 g/kg sveže mase oz. 2,6 kg/t. V odvisnosti od oljevitosti genotipa pa bi lahko pričakovali od najmanj 1,7 do največ 4,28 kg/t. Ines Pohajda idr. (2015) poročajo, da se lahko iz 750 kg sveže mase laškega smilja pridobi 1 kg eteričnega olja. Vsebnost eteričnega olja v genotipih UP FAMNIT je skoraj dvakrat večja, saj bi iz 750 kg sveže mase lahko pridobili 1,95 kg eteričnega olja, kar ponovno potrjuje pomen izbire genotipa.

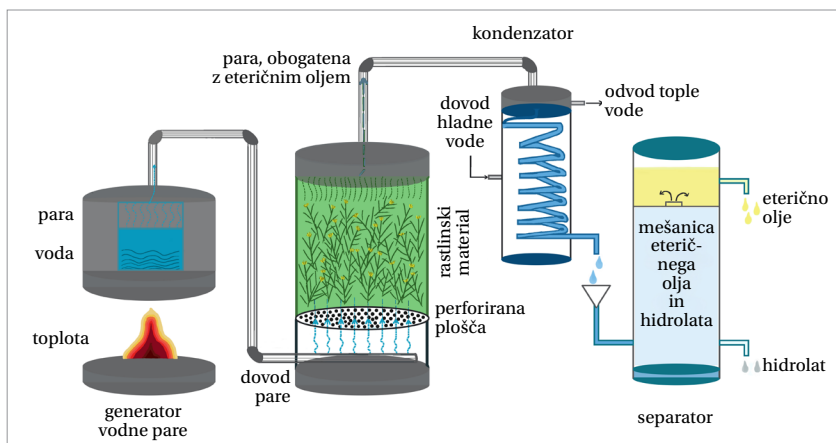
Če podatke terenske destilacije primerjamo s podatki laboratorijske destilacije, pri kateri smo glede na izračun v povprečju pridobili 1,85 kg eteričnega olja/t svežega materiala oz. glede na oljevitost genotipa od najmanj 0,5 do največ 4,3 kg eteričnega olja/t svežega materiala, lahko zaključimo, da so podatki laboratorijske in terenske destilacije primerljivi. Ines Pohajda idr. (2015) poročajo, da se iz 1 ha lahko pridobi od 8 do 12 kg eteričnega olja. Iz podatkov UP FAMNIT pa je razvidno, da se lahko, v odvisnosti od gostote sajenja, z različno oljevitimi genotipi na 1 ha pridobi od 4,9 (7.800 rastlin/ha) do 17,7 kg eteričnega olja (28.000 sadik/ha).

Pridobivanje eteričnega olja in hidrolata

Za pridobivanje eteričnega olja in hidrolata iz večjih količin rastlinskega materiala za potrebe farmacevtske ter kozmetične industrije se najpogosteje uporablja parno destilacijo ali kombinirano destilacijo z vodo in vodno paro. Pri kombinirani destilaciji z vodo in vodno paro se uporablja sistem enega kotla (slika 6), ki vsebuje prostor za vodo, nad njim pa je perforirana plošča, na katero se nalaga rastlinski material. Perforirana plošča preprečuje neposreden stik vode z rastlinskim materialom. Rastlinski material se na ploščo polaga in tlači tako, da bo para čim težje in počasi prehajala čezenj ter na svoji poti ponesla s sabo čim več hlapnih spojin. Para, obogatena s spojinami, nato potuje preko cevi v kondenzator, kjer se ohladi in utekočini. Mešanica eteričnega olja in vode se nato v florentinski posodi, zaradi razlike v gostoti in topnosti, loči na oljno in vodno fazo. Pri destilaciji s paro se uporablja sistem dveh kotlov (slika 7); prvi je namenjen ustvarjanju vodne pare, ki se nato po ceveh dovaja v drugi kotel z rastlinskim materialom. Toplota vodne pare poruši celične strukture rastline, zato se esencialne spojine sproščajo (Tongnuanchan in Benjakul 2014). Produkta obeh načinov destilacije sta hidrolat, ki predstavlja vodno fazo in vsebuje v vodi topne spojine, ter eterično olje – oljna faza, ki vsebuje hlapne snovi, ki niso topne v vodi (Kočevár Glavač



Slika 6 Kombinirana destilacija z vodo in vodno paro



Slika 7 Sistem dveh kotlov za destilacijo z vodno paro

2018). Parno destilacijo se regulira s količino pare in z dolžino destilacije, kar vpliva na sestavo eteričnega olja (El Asbahani idr. 2015).

Shranjevanje eteričnega olja in hidrolata

Pravilno shranjevanje eteričnega olja je pomembno za ohranjanje stabilnosti in farmakoloških lastnosti, saj so hlapne spojine nestabilne, občutljive in podvržene reakcijam razgradnje ter drugim kemijskim spremembam. Najpogostejše reakcije v eteričnem olju so izomerizacija, oksidacija, dehidrogenacija, polimerizacija in toplotna preureditev. Lipofilni terpenoidi oz. terpeni, ki predstavljajo največji delež v eteričnem olju, so termolabilni, tj. občutljivi na toploto. Spojine običajno tudi hitro oksidirajo ali hidrolizirajo. Dejavniki, ki vplivajo na obstojnost bioloških učinkovin, so temperatura, prisotnost kisika, svetlobe in vode. Vidna in ultravijolična svetloba pospešujeta avtooksidacijske procese, pri čemer nastajajo alkilni radikali. Še posebej so na svetlobo občutljivi monoterpeni. Tudi visoka temperatura pospešuje nastanek številnih prostih radikalov zaradi avtooksidacije in razgradnje vodikovih peroksidov. Podobno vlogo ima tudi prisotnost kisika, ki se pri nižjih temperaturah topi v tekočinah. Oksidacija eteričnega olja se pospeši pri povečani koncentraciji kisika. Pri eteričnem olju rožmarina in bora so ugotovili, da sobna temperatura pospešuje nastanek peroksidov, medtem ko so pri eteričnem olju sivke in timijana ugotovili povišano koncentracijo že pri 5 °C, kar nakazuje pomembnost prisotnosti topnega kisika in raznoliko kemijsko modifikacijo eteričnega olja različnih rastlinskih vrst. Za ohranjanje kakovosti se je treba izogibati posodam, ki vsebujejo težke kovine, npr. bakru in železu, ki spodbujata avtooksidacijo, še posebej če so v eteričnem olju prisotni vodikovi peroksidi. Tudi prisotnost vode deluje kvarljivo na eterično olje (Vaishnavi idr. 2021). Raziskav na področju sprememb kemijske sestave, obstojnosti in vpliva pogojev shranjevanja na kakovost eteričnega olja ni veliko oz. raziskovalci menijo, da je treba eterično olje vsake rastlinske vrste preučiti posebej (Turek in Stintzing 2013; Odak idr. 2018; Vaishnavi idr. 2021). Ilijana Odak idr. (2018) so preučevali obstojnost eteričnega olja laškega smilja in navadnega brina v odvisnosti od svetlobe, temperature in prisotnosti kisika. Ugotovili so, da je eterično olje laškega smilja v primerjavi z eteričnim oljem navadnega brina občutljivejše na staranje. Spremembe so bile manj izrazite, če so ga hranili v temi in dušikovi atmosferi. Svetloba je spodbudila številne kemijske spremembe, ki so se pokazale s povečano vsebnostjo cikličnih seskviterpenov italicena in izoitalicena kot tudi povečano količino aromatičnega seskviterpena α -kurkumena. Kisik je spodbujal povečanje α -kurkumena. Te spremembe so pripisali kemičnim transformacijam γ -kurkumena, ki je pomembna in dragocena spojina v eteričnem olju laškega smilja. Avtorji svetujejo,

da se z namenom ohranitve začetnih koncentracij bioloških spojin eterično olje hrani v temi in na sobni temperaturi oz. v čisti dušikovi atmosferi. Življenjska doba eteričnega olja je torej odvisna od številnih dejavnikov shranjevanja, za razjasnitev kemijskih sprememb pa so potrebne dodatne raziskave.

Hidrolati so običajno stranski produkti destilacije, čeprav so aromaterapevti mnenja, da bi jih zaradi bioloških učinkov in njihove uporabnosti morali obravnavati kot pomemben produkt destilacije. Običajno so kompleksna mešanica vodne faze s spojinami, topnimi v vodi, v sledih pa vsebujejo tudi eterično olje (D'Amato idr. 2018; Shafie idr. 2022). Prav zaradi vodne faze pa so, v primerjavi z eteričnim oljem, manj obstojni in bolj podvrženi kemijskim spremembam. Hidrolate je priporočljivo hraniti v mrzlem prostoru, v do vrha napolnjenih aseptičnih vsebnikih, s čim manjšo prisotnostjo zraka, ki bi lahko deloval kvarljivo. Ob pravilnem shranjevanju je lahko njihova življenjska doba do enega leta ali več. Pozornost je treba nameniti tudi mikrobni združbi (bakterije in glive), ki bi bila lahko prisotna ob shranjevanju hidrolata. Labadie idr. (2015) so, denimo, v hidrolatih cvetov pomarančevcev in cvetov vrtnic opazili heterogeno združbo *Pseudomonas* spp., kompleks *Burkholderia cepacia*, *Acetobacteriaceae* in *Rhodospirillaceae*, ki lahko proliferirajo do relativno velikega števila (do 10^6 – 10^7 CFU/mL), kljub prisotnosti eteričnega olja v sledovih (D'Amato idr. 2018). Poleg tega lahko nekateri sevi, ki kontaminirajo hidrolat, vplivajo na njegov profil hlapnih spojin. Baydar idr. (2013) so predlagali odstranitev kontaminantov s fizikalnimi metodami, kot sta pasterizacija ali tretiranje z žarki UV, vendar lahko uporaba tovrstnih metod prav tako spremeni aromatični profil hidrolata. Kemijske spremembe, ki so jim hidrolati podvrženi med obdobjem shranjevanja, so v veliki meri odvisne od časa in temperature shranjevanja (Garneau idr. 2014). Rok uporabnosti hidrolata bo odvisen tudi od njegove kemijske sestave in intrinzične protimikrobne aktivnosti vsebovanih spojin ter morebitne kontaminacije med pakiranjem.

Viri

Baydar, H., H. Kuleaşan, N. Kara, H. Seçilmiş-Canbay in S. Kineci. 2013. »The Effects of Pasteurization, Ultraviolet Radiation and Chemical Preservatives on Microbial Spoilage and Scent Composition of Rose Water.« *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 16 (2): 151–160.

- Bianchini, A., P. Tomi, J. Costa in A. F. Bernardini. 2001. »Composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. subsp. *italicum* Essential Oils from Corsica (France).« *Flavour and Fragrance Journal* 16 (1): 30–34.
- D'Amato, S., Serio, A., Chaves López, C. in Paparella, A. 2018. »Hydrosols: Biological Activity and Potential as Antimicrobials for Food Applications.« *Food Control* 86:126–137.
- El Asbahani, A., K. Miladi, W. Badri idr. 2015. »Essential Oils: From Extraction to Encapsulation.« *International Journal of Pharmaceutics* 483 (1–2): 220–243.
- Garneau, F.-X., G. Collin in H. Gagnon. 2014. »Chemical Composition and Stability of the Hydrosols Obtained During Essential Oil Production. I. The case of *Melissa officinalis* L. and *Asarum canadense* L.« *American Journal of Essential Oils and Natural Products* 2 (1): 54–62.
- Gavarić, A., S. Jokić, M. Molnar, S. Vidović, J. Vladić in M. Aćimović. 2017. »Helichrysum: The Current State of Cultivation, Production and Uses.« *V Medicinal Plants: Production, Cultivation and Uses*, uredila M. Aubert in L. Nicolas. Nova Science.
- Kočevar Glavač, N. 2018. »Pridobivanje in vrednotenje rastlinskih izvlečkov.« *Farmaceutski vestnik* 69 (4): 259–264.
- Labadie, C., C. Ginies, M.-H. Guinebretiere, C. M. G. C. Renard, C. Cerutti in F. Carlin F. 2015. »Hydrosols of Orange Blossom (*Citrus aurantium*), and Rose Flower (*Rosa damascena* and *Rosa centifolia*): Support the Growth of a Heterogeneous Spoilage Microbiota.« *Food Research International* 76 (Del 3): 576–586.
- Maksimovic, S., V. Tadic, D. Skala in I. Zizovic. 2017. »Separation of Phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An Analysis of Different Isolation Techniques and Biological Activity of prepared Extracts.« *Phytochemistry* 138 (22): 9–28.
- Matin, A., I. Pavkov, M. Grubor, V. Jurišić, M. Kontek, F. Jukić in T. Krička. 2021. »Influence of Harvest Time, Method of Preparation and Method of Distillation on the Qualitative Properties of Organically Grown and Wild *H. italicum* Immortelle Essential Oil.« *Separations* 8 (10): 167.
- Mollova, S., H. Fidan, D. Antonova idr. 2020. »Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Subspecies Essential Oils.« *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 44 (4): 371–378.
- Ninčević, T. 2020. »Genetska i biokemijska raznolikost sredozemnog smilja (*Helichrysum italicum* /Roth/ G. Don).« Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

- Odak, I., T. Lukic in S. Talic. 2018. »Impact of Storage Conditions on Alteration of Juniper and Immortelle Essential Oils.« *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 21 (3): 614–622.
- Pohajda, I., G. Dragun, G in L. Puharić Visković. 2015. *Smilje*. Savjetodavna služba.
- Rajić, M., M. Bilić, K. Aladić, D. Šimunović in T. Pavković. 2015. »Od tradicionalne uporabe do znanstvenog značaja: cvijet smilja.« *Glasnik Zaštite Bilja* 38 (6): 16–26.
- Ratajc, P. 2016. »Kaj je več: 5 gramov ali 5 mililitrov eteričnega olja?« <https://petraratajc.com/2016/05/11/kaj-je-vec-5g-ali-5ml/>.
- Shafie, M. H., M. L. Kamal, N. A. A. Razak idr. 2022. »Antioxidant and Antimicrobial Activity of Plant Hydrosol and Its Potential Application in Cosmeceutical Products.« *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 17 (4): e124018.
- Tongnuanchan, P., in S. Benjakul. 2014. »Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation.« *Journal of Food Science* 79 (7): 1231–1249.
- Turek, C., in F. C. Stintzing. 2013. »Stability of Essential Oils: A Review.« *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12 (1): 40–53.
- Tzanova, M., N. Grozeva, M. Gerdzhikova, V. Atanasov, S. Terzieva in R. Prodanova. 2018. »Biochemical Composition of Essential Oil of Corsican *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, Introduced and Cultivated in South Bulgaria.« *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 24 (6): 1071–1077.
- Vaishnavi, B. C., S. J. Ananya, N. Y. Jitendra in B. S. Rajendra. 2021. »Strategies to Improve Stability of Essential Oils.« *Journal of Pharmaceutical and Science Research* 13 (7): 416–425.

7

Tehnološki postopki pridobivanja pripravkov iz laškega smilja

Katja Kramberger

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Katja Kramberger
<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.7>

Uvod

Ekstrakcija in predelava zdravilnih rastlin se izvajata z namenom neposrednega uživanja le-teh kot tradicionalnih zdravil rastlinskega izvora ali priprave za raziskovalne namene. Ustrezna priprava zdravilnih rastlin za raziskovalne namene je ključna za doseganje kakovostnih rezultatov raziskav. Vključuje pravilno in časovno ustrezno nabiranje rastline, morfološko določanje in avtentikacijo rastline s strani ustreznega strokovnjaka, ustrezno sušenje ter mletje suhega materiala. Predpripravi rastlinskega materiala sledi postopek ekstrakcije, pridobljeni izvleček pa lahko nadalje frakcioniramo in iz njega izoliramo posamezne bioaktivne spojine. Pred nadaljnjimi biološkimi testiranjmi je treba določiti tudi kakovost in količino izvlečka oz. bioaktivnih spojin. Za pridobivanje kakovostnega pripravka je ključna izbira ustrezne ekstrakcijske metode, primernega topila, metode frakcioniranja izvlečka in načina identifikacije bioaktivnih spojin. Izbor ustreznih metod pa je odvisen tudi od želene aplikacije izvlečka (Abubakar in Haque 2020).

Ekstrakcija

Ekstrakcija zdravilnih rastlin je postopek ločevanja želenih bioaktivnih spojin ali sekundarnih presnovkov rastlin, kot so flavonoidi, terpeni in glikozidi od surovega neaktivnega materiala. Poznamo več različnih

načinov ekstrakcije; od destilacije, ekstrakcije s topili, ki jo lahko pospešimo s pomočjo ultrazvoka, mikrovalov, pulzirajočega električnega polja, povišanega tlaka ali uporabe encimov, do uporabe metod zelene tehnologije, kot je ekstrakcija s superkritičnimi tekočinami. Pri konvencionalnih postopkih ekstrakcije, kot so maceracija, perkolacija in ekstrakcija pod refluksom, se večinoma uporabljajo organska topila v velikih količinah, postopek ekstrakcije pa je dolgotrajen. Novejši oz. bolj zeleni postopki, kot so ekstrakcija s superkritičnimi tekočinami, tekočinska ekstrakcija pod pritiskom in ekstrakcija z mikrovalovi, nudijo določene prednosti, kot so manjše porabe organskih topil, krajši čas ekstrakcije in večja selektivnost (Zhang idr. 2018). V nadaljevanju bomo opisali le tiste postopke, ki so bili, glede na objavljene vire, uporabljeni za pripravo izvlečkov oz. izolacijo spojin iz laškega smilja.

Ekstrakcija bioaktivnih spojin s topili je najpogostejši način ekstrakcije in poteka po sledečih stopnjah: (1) topilo prodira v trdni rastlinski material; (2) topljenec se raztopi v topilu ali mešanici topil; (3) topljenec difundira iz rastlinskega materiala; (4) topilo z ekstrahiranimi bioaktivnimi spojinami (topljenici) se odstrani od rastlinskega materiala (Zhang idr. 2018).

Faktorji, ki vplivajo na učinkovitost ekstrakcije

Faktorji, ki lahko povečajo difuzivnost in topnost, v posameznih korakih ekstrakcije olajšajo sam proces in povečajo izkoristke ekstrakcije. To so fizikalno-kemijske lastnosti ekstrakcijskega topila, velikost trdnih delcev rastlinskega materiala, razmerje med topilom in rastlinskim materialom, temperatura ekstrakcije in čas trajanja ekstrakcije (Zhang idr. 2018).

Izbira topila

Izbira topila je najpomembnejši parameter učinkovitosti ekstrakcije. Glede na zakon o podobnosti in mešanju snovi oz. po načelu »podobno se topi v podobnem« bodo topila s podobno polarnostjo, kot jo imajo topljenici oz. bioaktivne spojine, ki jih želimo izolirati, učinkovitejša pri ekstrakciji teh spojin (Zhang idr. 2018). Topila, ki se običajno uporabljajo pri ekstrakciji zdravilnih rastlin, so bodisi polarna topila (npr. voda, etanol), srednje polarna topila (npr. aceton, diklorometan) ali nepolarna topila (npr. heksan, eter, kloroform). Alkohola, kot sta etanol in metanol, veljata za najuniverzalnejši topili in se ju posledično tudi najpogosteje uporablja. Pri izbiri topila pa imata poleg topnosti in selektivnosti vlogo tudi cena in toksičnost uporabljenega topila (Zhang idr. 2018; Abubakar

Preglednica 1 Lastnosti nekaterih pogosto uporabljenih topil (prirejeno po Abubakar in Haque 2020)

Topilo	Lastnosti	Prednosti	Slabosti
Voda	Najpolarnejše topilo.	• Raztaplja širok nabor (polarnih) spojin. • Poceni, netoksično, nevnetljivo topilo.	• Spodbuja rast bakterij in plesni. • Lahko povzroči hidrolizo. • Za koncentriranje izvlečka potrebno veliko energije.
Alkohol	Polarno topilo, mešljivo z vodo.	• Deluje kot konzervans pri konc., večjih od 20 %. • Netoksično pri nizkih konc. • Za koncentriranje izvlečka potrebno malo energije.	• Ne raztaplja maščob in voskov. • Vnetljivo in hlapno topilo.
Aceton	Srednje polarno topilo, mešljivo z vodo kot tudi z nepolarnim heksanom.	• Raztaplja tako polarne kot nepolarne snovi. • Hitro se upari.	• Vnetljiv.
Kloroform	Nepolarno topilo, primerno za izolacijo terpenov, maščob in olj.	• Brezbarven, topen v alkoholu.	• Sedativni in karcinogeni učinek.

in Haque 2020). V preglednici 1 so predstavljene prednosti in slabosti nekaterih pogosto uporabljenih topil.

Velikost delcev rastlinskega materiala

V splošnem velja, da manjša kot je velikost delcev, učinkovitejša bo ekstrakcija, saj lahko topilo bolje prodre v rastlinski material in difundira topljence. Če bodo delci predrobni, se bo preveč topila absorbiralo v trdni material, kar lahko oteži nadaljnji postopek filtracije.

Temperatura

Visoka temperatura poveča topnost in difuzijo ter s tem učinkovitost ekstrakcije. Vendar pa lahko previsoka temperatura poveča ekstrakcijo neželenih snovi oz. nečistoč ter povzroči razgradnjo termolabilnih spojin.

Čas ekstrakcije

Učinkovitost ekstrakcije se bo s podaljševanjem trajanja ekstrakcije večala, vendar ko se doseže ravnovesje med topljencem znotraj in zunaj rastlinskega materiala, daljšanje časa ekstrakcije ne bo več vplivalo na večji izkoristek.

Razmerje topilo : rastlinski material

Večje kot bo razmerje med topilom in rastlinskim materialom, večji bo izkoristek ekstrakcije, s tem da večje kot je razmerje, daljši bo proces koncentriranja izvlečka (Zhang idr. 2018).

Ekstrakcijske metode

Destilacija

Parna destilacija in hidrodestilacija sta dva najpogostejša načina za pridobivanje eteričnih olj, saj sta cenovno najugodnejša. Pri parni destilaciji para prodira v rastlinski material, kar omogoči uparitev hlapnih spojin. Hlapne spojine se v kondenzatorju, kamor doteka hladna voda, utekočinijo in zberejo v zbirni posodi, kjer imamo na vrhu plast eteričnega olja, pod njo pa plast vode (Kumar in Tripathi 2011). Ta vodna faza, ki je stranski produkt destilacije, se imenuje hidrolat ali aromatična voda in vsebuje sledove eteričnega olja ter druge vodotopne spojine (Almeida idr. 2024). V primeru hidrodestilacije se material za nekaj časa namoči v vodi, potem se namočen material segreva, hlapne spojine pa se skupaj z vodno paro uparijo in pod refluksom kondenzirajo. Ker destilacija poteka pri visoki temperaturi, je možen razpad nekaterih bioaktivnih spojin. Prisotnost vode lahko privede tudi do hidrolize estrov, polimerizacije aldehydov in razgradnje drugih spojin. S tega vidika je parna destilacija primernejša izbira za izolacijo eteričnih olj iz toplotno občutljivih rastlin. Slabosti omenjenih metod so slabi izkoristki eteričnega olja, izguba nekaterih hlapnih spojin in dolg čas izolacije (Pheko-Ofitlhile in Makhzoum 2024).

Za destilacijo nadzemnih delov laškega smilja se največkrat uporablja hidrodestilacija v Clavengerjevi aparaturi, s katero lahko določimo tudi količino pridobljenega eteričnega olja, nekateri avtorji pa so uporabili tudi parno destilacijo v aparatu tipa spring (Maksimovic idr. 2017).

Maceracija

Maceracija je najpreprostejši način ekstrakcije, katere slabosti sta dolg čas ekstrakcije in slaba učinkovitost, saj poteka pri sobni temperaturi.

Ravno zaradi slednjega pa je tak način primeren za izolacijo termolabilnih spojin. Učinkovitost maceracije lahko povečamo z dodatkom ultrazvoka, mikrovalov ali s segrevanjem (Zhang idr. 2018).

Pri postopku maceracije se grobo mlet material položi v posodo in prelije s topilom, tako da je popolnoma prekrit. Posodo se nato zapre in material pusti namakati vsaj tri dni pri sobni temperaturi, lahko tudi zaščitene pred svetlobo. Vmes vsebino občasno premešamo. Po koncu ekstrakcije se izvleček loči od namočenega rastlinskega materiala s filtracijo ali z odlivanjem. Topilo se lahko odstrani z izparevanjem (Abubakar in Haque 2020).

Najpogosteje uporabljana topila za pripravo izvlečkov in izolacijo učinkovin iz smilja so aceton, metanol ter etanol, v nekaterih raziskavah pa so uporabili tudi kloroform, petrol eter, diklorometan, dietil eter in heksan. Izkoristki ekstrakcije so bili glede na objavljene podatke med 2,2 in 12,5 % (Maksimovic idr. 2017).

Maceracija z lipidi (olji ali mastmi) je eden izmed postopkov pridobivanja aromatičnih macerarov, ki se pogosto uporabljajo za izdelavo domačih mazil in drugih kozmetičnih izdelkov. Na Korziki sveže cvetove smilja poberejo in položijo v steklenico z oljčnim oljem. Nato steklenice zaprejo in jih postavijo na sonce za vsaj tri tedne. Po koncu ekstrakcije rastlinski material dobro odcedijo, da iz njega iztisnejo čim več učinkovin. Takšen macerav je bogat z nepolarnimi spojinami, macerirano olje pa je zaradi solarizacije bolj tekoče in vpojnejše ob nanosu na kožo. Lahko je osnova za pripravo drugih kozmetičnih izdelkov ali se kot takšno uporablja za masažo pri brazgotinah, modricah (Production Farm Est. Palneca b. l.).

Priprava poparkov

Pri pripravi poparkov gre za podobno načelo kot pri maceraciji, s tem da gre tukaj za bistveno krajše namakanje v topilu, ki je v večini primerov vroča voda. Poparke pripravimo tako, da fino mlet rastlinski material prelijemo z vročo ali vrelo vodo in ga pustimo namakati v vodi od pet do 15 minut. Po tem času poparek precedimo, da odstranimo rastlinski material. Ta metoda je primerna za izolacijo dobro (vodo)topnih spojin (Abubakar in Haque 2020). Priprava poparkov je zaradi visoke temperature učinkovitejša od maceracije, lahko pa na tak način izgubimo nekaj toplotno občutljivih biokativnih spojin.

Poparki se največkrat pripravljajo sveži, tik pred uporabo. Na tak način pripravljamo vse čaje, zelo priljubljene osvežilne napitke, ki so lahko pravi

čaji, pripravljeni iz listov čajevca, ali sadni ter zeliščni poparki, kot tudi zdravilne čaje, ki morajo biti ustrezne kakovosti in imeti točno predpisan način priprave (Rocha idr. 2020).

Poparki iz smilja so najpogostejše pripravljene izvlečki v ljudski medicini, njihovo kemijsko sestavo in učinke pa so preučevali tudi Catarina G. Pereira idr. (2017) ter Katja Kramberger idr. (2021). Catarina G. Pereira idr. (2017) so 1 g suhe rastline (ločene na korenine, vegetativne dele in cvetove) prelili z 200 ml vrele vode in poparek po petih minutah precedili (Pereira idr. 2017). V naših raziskavah na Univerzi na Primorskem, Fakulteti za vede o zdravju (UP FVZ) smo za pripravo poparka uporabili samo nadzemne dele rastline (liste, stebila in cvetove), poparek pa smo precedili po desetih minutah (Kramberger idr. 2021).

Priprava prevretkov

Pri tej metodi gre za kontinuirano ekstrakcijo z vročo vodo. Prevretek pripravimo tako, da dobro mlet rastlinski material prelijemo z vrelo vodo in ga še nekaj časa kuhamo na ognju, navadno ne dlje kot 15 minut (Abubakar in Haque 2020). Tovrstna ekstrakcija je sicer učinkovitejša od maceracije in priprave poparka, vendar pa ni primerna izbira za termolabilne in hlapne spojine. V prevretkih so navadno prisotne tudi večje količine vodotopnih nečistoč (Zhang idr. 2018).

Podobno kot poparki so tudi prevretki pogosto pripravljene izvlečki v ljudski medicini. Catarina G. Pereira idr. (2017) so prevretke iz *H. italicum* subsp. *picardii* pripravili s petminutnim vretjem 1 g suhega materiala v vreli vodi. Prevretke so pripravili samo iz korenin ali iz vegetativnih delov ali samo iz cvetov (Pereira idr. 2017).

Ekstrakcija po Soxhletu

Ta vrsta ekstrakcije združuje uporabo ekstrakcije pod refluksom in perkolacije – postopka ekstrakcije, kjer se topilo ves čas menjava s svežim. Soxhletov aparat (steklena aparatura podobna destilatorju) omogoča avtomatizirano in kontinuirano ekstrakcijo z visoko učinkovitostjo (Zhang idr. 2018). Zmlet rastlinski material se napolni v porozno vrečko, skozi katero po kapljicah prehaja kondezirano topilo. Ko se ekstrakcijska posoda napolni s kondenziranim topilom, se le-to skupaj z izvlečkom vrne v bučko, kjer se topilo ponovno upari in preko kondenzorja v tekoči obliki vrne v ekstrakcijsko posodo. Ekstrakcija poteka tako dolgo, dokler rastlinski material ni popolnoma ekstrahiran (Abubakar in Haque 2020).

Čas takšne ekstrakcije je posledično krajši in poraba topil je v primerjavi z maceracijo ali perkolacijo manjša. Ekstraktov tudi ni treba filtrirati, saj rastlinski material ostane v vrečki. Zaradi segrevanja pa lahko pride do razpada nekaterih občutljivih učinkovin (Zhang idr. 2018).

Maja Molnar idr. (2017) so za ekstrakcijo 5 g cvetov laškega smilja uporabili Soxhletov aparat in 150 ml n-heksana kot topila. Ekstrakcija je potekala osem ur, izkoristek pa je bil približno petodstoten (Molnar idr. 2017).

Ekstrakcija z uporabo ultrazvoka

Pri ekstrakciji z uporabo ultrazvoka, imenovani tudi ultrazvočna ekstrakcija ali sonikacija, izkoriščamo energijo ultrazvoka pri frekvencah, večjih od 20 KHz. Ultrazvok povzroči kavitacijo topila in pospeši raztapljanje ter difuzijo topljenca kot tudi prenos toplote, kar izboljša učinkovitost ekstrakcije. Naslednje prednosti te metode so tudi majhna poraba topil in energije, skrajšanje časa ekstrakcije in uporaba nižjih temperatur. Metoda je tako primerna za ekstrakcijo termolabilnih spojin, lahko pa energija ultrazvoka povzroči razpad nekaterih občutljivih spojin zaradi nastanka prostih radikalov (Zhang idr. 2018; Abubakar in Haque 2020).

Brigida D'Ambrosia idr. (2013) so pripravili metanolni izvleček iz listov ali stebel laškega smilja s pomočjo ultrazvoka. Posamezna ekstrakcija je trajala eno uro. Dobljena izvlečka so prečistili, frakcionirali in izolirali posamezne bioaktivne spojine (D'Ambrosia idr. 2013). V naši raziskavi (Kramberger idr. 2020) smo pripravili izvlečke laškega smilja podvrst *italicum* in *tyrrhenicum*. Ekstrakcijo smo izvedli s hladno vodo v dveh korakih – 2,5 g suhega rastlinskega materiala smo prelili s 30 ml hladne vode in ga 60 minut ekstrahirali v ultrazvočni kadički, odlili ekstrakt in preostali rastlinski material ponovno ekstrahirali z 20 ml sveže hladne vode še 30 minut. Oba ekstrakta smo nato združili. Tak izvleček je imel sicer visoko vsebnost fenolnih spojin, njegovo antioksidativno delovanje pa je bilo šibko (Kramberger idr. 2020).

Ekstrakcija s superkritičnim CO₂

Alternativa konvencionalnim postopkom ekstrakcije je ekstrakcija s superkritičnimi tekočinami. Superkritična tekočina ima podobno topnost kot tekočina in podobno difuzivnost kot plin, zato lahko raztaplja širok nabor naravnih spojin. Najpogosteje se za tovrstno ekstrakcijo uporablja superkritični ogljikov dioksid – S-CO₂, ker ima nizko kritično temperaturo (31 °C), je selektiven, inerten, netoksičen in poceni. Zaradi svoje

nepolarnosti je S-CO₂ idealen za izolacijo lipofilnih snovi, kot so lipidi in eterična olja. Z ustreznim spreminjanjem parametrov tlaka in temperature pa lahko izoliramo tudi polarnejše spojine. Pri milejših pogojih ($P = 90\text{--}100$ bar in $T = 40\text{--}50$ °C) tako dobimo eterična olja, pri ostrejših pa nepolarne in srednje polarne fenolne spojine ($P = 600$ bar; $T =$ do 120 °C). Za izolacijo polarnejših polifenolov je treba dodati organski modifikator (npr. etanol, metanol) (Zhang idr. 2018). Ekstrakcija s superkritičnimi tekočinami ima kar nekaj prednosti v primerjavi s tradicionalnimi postopki zaradi možnosti spreminjanja parametrov ekstrakcije, kar omogoča izolacijo različnih razredov spojin, tudi termolabilnih. Je okolju prijaznejša metoda, saj porabimo manj organskih topil, ter energetsko varčnejša, saj ni treba dovajati energije za odstranjevanje topil in koncentriranje končnih izvlečkov (Reverchon in De Marco 2006).

Nekaj raziskav kemijske sestave laškega smilja je bilo narejenih tudi na izvlečkih s S-CO₂. Pogoji ekstrakcije so bili med 80 in 350 bar, med 35,86 in 64,14 °C in so trajali od 1,5 do štiri ure. Izkoristki ekstrakcije so bili v območju 0,35 do 6,31 %. Spojine, ki so jih izolirali, so bile večinoma nepolarni terpeni, predvsem mono- in seskviterpeni, ter drugi ogljikovodiki, kisline, estri in voski (Maksimovic idr. 2017). Stela Jokić idr. (2016) so uporabili tovrstno ekstrakcijo za selektivno izolacijo kumarina skopoletina iz cvetov laškega smilja. Največjo vsebnost skopoletina (1,933 mg/100 g) je imel izvleček, pripravljen pri 20 MPa in 40 °C (Jokić idr. 2016).

Separacijske metode

Surovi izvlečki, pripravljeni po zgoraj opisanih metodah, imajo kompleksno kemijsko sestavo, saj vsebujejo številne bioaktivne spojine in druge izolirane spojine. Surove izvlečke je tako treba še frakcionirati in prečistiti, da dobimo aktivno frakcijo izvlečka oz. čisto bioaktivno spojino. Ločba temelji na fizikalnih in kemijskih razlikah med posameznimi spojinami v izvlečku. Za izolacijo čiste spojine iz kompleksnih rastlinskih vzorcev so najprimernejše razne kromatografske tehnike, predvsem kolonska kromatografija (Zhang idr. 2018).

Frakcionacija

Za frakcionacijo izvlečka je navadno treba navlažiti posušen surovi izvleček oz. ga popolnoma raztopiti v vodi, prenesti v lij ločnik, pretresti in pustiti, da se posede. Nato se k izvlečku dodaja topila po naraščujoči polarnosti; najprej npr. n-heksan, ki je najbolj nepolaren, nato kloroform, sledi srednje polaren aceton in nazadnje n-butanol. Najprej se izvlečku

Preglednica 2 Pregled različnih metod za ekstrakcijo naravnih spojin (prirejeno po Zhang idr. 2018)

Metoda	Topilo	Temperatura	Tlak	Čas	Volumen organskega topila	Polarnost izoliranih spojin
Maceracija	Voda ali nevodna topila	Sobna T	Atm	Dolg	Velik	Odvisno od topila
Priprava poparka	Voda	Voda s T 70–100 °C	Atm	Kratek	Nič	Polarna
Priprava prevretka	Voda	Segrevanje	Atm	Kratek	Nič	Polarna
Ekstrakcija po Soxhletu	Organska topila	Segrevanje	Atm	Dolg	Srednji	Odvisno od topila
Ekstrakcija z ultrazvokom	Voda in nevodna topila	Sobna T ali segrevanje	Atm	Kratek	Srednji	Odvisno od topila
Superkritična ekstrakcija	Superkritični CO ₂	Blizu sobne T	Visok	Kratek	Nič	Nepolarna do srednje polarna
Destilacija	Voda	Segrevanje	Atm	Dolg	Nič	Nepolarna (eterična olja)

doda količino najmanj polarnega topila, n-heksana, in vsebino močno pretrese. Ko se fazi ločita, se odstrani spodnjo vodno fazo, nepolarno fazo, ki predstavlja prvo frakcijo, pa se prelije v čisti vsebnik. Vodni fazi se ponovno doda enako količino n-heksana in po stresanju loči faze. Postopek ponavljamo, dokler po dodatku n-heksana ni več znatnega premika vodnega izvlečka v nepolarno fazo. Potem sledi dodatek polarnejšega topila, kloroforma. Nepolarno fazo po vsaki ločbi zbiramo, da dobimo naslednjo frakcijo izvlečka. Potem se preostalemu vodnemu izvlečku doda naslednje topilo, aceton, da dobimo tretjo frakcijo, in nazadnje n-butanol za četrto frakcijo. Po koncu vseh frakcionacij ostane vodna (peta) frakcija izvlečka (Abubakar in Haque 2020).

Čiščenje in dodatna ločba

Frakcionirane izvlečke nato očistimo oz. dodatno frakcioniramo z uporabo kromatografskih tehnik. Ločba spojin poteka glede na njihovo velikost, obliko in naboj. Sistem vsebuje mobilno fazo, ki je navadno enaka ekstrakcijskemu topilu, in stacionarno fazo. Vezava spojin na stacionarno fazo lahko temelji na mehanizmih adsorpcije, porazdeljevanja, afinitete vezave, ionske izmenjave ali velikostne izključitve (Abubakar in Haque 2020).

V začetnih fazah ločbe se najpogosteje uporablja adsorpcijsko kolonsko kromatografija, saj je preprosta, ima visoko kapaciteto in je stroškovno ugodna. Ločba poteka na osnovi razlik posameznih spojin za tvorbo interakcij s površino adsorbenta. Izbira ustreznega adsorbenta (stacionarne faze) kot tudi mobilne faze je ključnega pomena za doseganje dobre ločbe spojin in maksimalni izkoristek ciljnih spojin. V večini primerov stacionarna faza vsebuje silikagel, ki je polarni adsorbent, na katerega se vežejo molekule z vodikovimi vezmi in interakcijami dipol–dipol. Polarne spojine se bodo torej dalj časa zadržale na koloni v primerjavi z nepolarnimi. Stacionarna faza so lahko tudi poliamidi, ki glede na sestavo mobilne faze tvorijo bodisi hidrofozne bodisi vodikove vezi. Če je mobilna faza voda, bodo poliamidi delovali kot nepolarna stacionarna faza. Poliamidna kromatografija je primerna za izolacijo fenolnih kislin in flavonoidov (Zhang idr. 2018). Pogosto uporabljena stacionarna faza so tudi makroporozne smole brez ionskih funkcionalnih skupin, ki lahko selektivno adsorbirajo skoraj vse naravne spojine. Lahko se uporabljajo samostojno ali samo kot stopnja v predpripravi izvlečka za odstranjevanje nečistoč ali v obogatitvi izvlečka s tarčnimi spojinami. Makroporozne smole imajo visoko kapaciteto adsorpcije, so relativno cenovno ugodne in enostavne za regeneracijo. Ločba temelji na elektrostatskih silah, vodikovih vezeh, tvorbi kompleksov in velikostni izključitvi. Ključni faktorji, ki vplivajo na ločbo, so torej površina, premer por in polarnost (Zhang idr. 2018).

Ločba lahko temelji tudi na osnovi velikosti molekul. Po tem načelu delujeta membranska filtracija in gelska izključitvena kromatografija. Pri membranski filtraciji semipermeabilna membrana omogoča prehod majhnih molekul, večje molekule pa se zadržijo na membrani. Ta metoda je zelo uporabna za koncentriranje izvlečkov in odstranjevanje nečistoč. Pri gelski izključitveni kromatografiji se majhne molekule dlje časa zadržijo na koloni kot velike. Pogosta stacionarna faza je sephadex, ki je sestavljen iz premreženega dekstrana. Sephadex LH20 je hidroksipropiliran derivat dekstrana, ki tvori tako hidrofozne kot hidrofilne interakcije, tako da je primeren za ločevanje širokega nabora spojin, bodisi v vodnih bodisi nevodnih topilih.

Ionsko izmenjevalna kromatografija ločuje molekule glede na razlike v njihovem celokupnem naboju. S to metodo lahko torej ločimo tiste naravne spojine, ki lahko ionizirajo, npr. alkalioide in organske kisline. Stacionarna faza vsebuje ionsko izmenjevalne smole, ki privlačijo enako nabite spojine, odbijajo pa tiste, ki imajo drugačen naboj. Kationsko

izmenjevalne smole tako vežejo alkaloide, anionsko izmenjevalne pa organske kisline in fenole. S spreminjanjem ionske moči mobilne faze (s spremembo pH ali koncentracije soli) pa vplivamo na vezavo oz. sprostitev tarčnih spojin (Zhang idr. 2018).

Kromatografske tehnike, ki so najpogostejše v uporabi za separacijo spojin v rastlinskih izvlečkih, so tankoplastna tekočinska kromatografija (angl. *thin-layer chromatography* – TLC), kolonska kromatografija (angl. *column chromatography* – CC), plinska kromatografija (angl. *gas chromatography* – GC) in tekočinska kromatografija visoke zmogljivosti (angl. *high-performance liquid chromatography* – HPLC). Mehanizem ločbe pri posamezni metodi je lahko samo en ali jih je več.

TLC je metoda, ki temelji samo na mehanizmu adsorpcije in je primerna predvsem za ločbo spojin z majhno molekulsko maso. Stacionarna faza je navadno silikagel, raztopljen v vodi. Raztopino silikagela se nato vlije na stekleno ploščo ustreznih dimenzij, da tvori 1,5 mm debelo plast. Sledi sušenje pri 105 °C, da se silikagel strdi. Na trdno ploščico silikagela se nato nanese vzorec in se jo navpično položi v posodo z mobilno fazo. Spojine bodo na ploščici prepotovale različno dolgo pot glede na svojo topnost. Za vsako liso lahko izračunamo retencijski faktor, ki je razmerje med prepotovano potjo spojine in prepotovano potjo topila. Rezultat lahko primerjamo z znano spojino. Spojine lahko s spatulo postrgamo s ploščice in jih ponovno ekstrahiramo. Prednosti te metode sta predvsem kratek čas ločbe in enostavnost.

Ločba pri kolonski kromatografiji temelji na adsorpciji, velikostni izključitvi in ionski izmenjavi. Kolona je sestavljena iz dolge steklene cevke premera 5–50 mm, ki ima na dnu ventil in filter iz steklene volne. Stacionarna faza je lahko iz silikagela, sephadexa ali smole, mobilna faza pa je tekoča. Stacionarno fazo se napolni v kolono in na vrh slednje nanese izvleček. Sledi dodatek mobilne faze – topila z najmanjšo polarnostjo. Po eni uri se mobilno fazo izpusti iz kolone in zbere frakcije. Nato lahko sledi še spiranje kolone z drugimi topili po naraščajoči polarnosti. Zbrane frakcije se nato lahko karakterizira.

Z metodo plinske kromatografije ločujemo hlapne snovi na osnovi porazdeljevanja med tekočo in plinasto fazo. Mobilna faza je v plinasti obliki, tekoče topilo pa je adsorbirano na površino inertnih trdnih delcev in služi kot stacionarna faza. Spojine, ki so topne v plinasti fazi, bodo zapustile tekočino in se porazdelile v plinasto mobilno fazo ter potovale s hitrostjo pretoka mobilne faze. Spojine, ki so topne samo v tekoči fazi,

bodo ostale v stacionarni fazi. Spojine, ki so topne v obeh fazah, bodo potovale s srednjo hitrostjo. Mobilna faza je navadno inertni helij. Surovi izvleček, ki vsebuje hlapne snovi, se najprej raztopi v metanolu, nato se ga upari in injicira na začetek kromatografske kolone. Sledi potovanje po koloni skupaj s plinasto mobilno fazo (Abubakar in Haque 2020; Ingle idr. 2017). Metoda je predvsem kvantitativna, saj lahko določimo celokupno količino hlapnih spojin (Sahira Banu in Cathrine 2015). Za določanje sestave eteričnih olj in hidrolatov je detektor navadno masni spektrometer (MS) ali plamensko ionizirajoči detektor (angl. *flame ionization detector* – FID) (Almeida idr. 2024).

HPLC je učinkovita metoda za ločbo spojin in temelji na mehanizmu adsorpcije. Ločimo lahko tako organske kot anorganske spojine. Stacionarna faza je sestavljena iz trdnih delcev, tesno stisnjenih v kolono. Stacionarna faza je navadno nepolarni C18, mobilna faza pa je polarna – mešanica vode in še nekega drugega topila, ki dobro raztaplja analite v vzorcu. Za elucijo analitov so potrebni visoki pritiski do 400 bar. Aparatura je sestavljena iz vsebnika za mobilno fazo, injektorja, črpalke in detektorja. Vzorec injiciramo in ga s pomočjo črpalke skupaj z mobilno fazo vodimo čez kolono, kjer poteka ločba spojin (Abubakar in Haque 2020; Ingle idr. 2017). Na koncu detektor zazna spojine in pošlje signal do računalnika. Osnovni detektor je navadno detektor UV-VIS, ki omogoča merjenje absorpcijskega spektra naenkrat samo pri eni valovni dolžini, ali detektor z nizom diod (angl. *diode array detector* – DAD), ki istočasno posname spektre v celotnem območju UV-VIS. Če želimo spojine identificirati natančneje, za detekcijo izberemo masni detektor. Z metodo HPLC lahko ločimo in detektiramo nehlapne spojine oz. spojine, ki so občutljive na toploto. Metoda je lahko tako kvantitativna kot kvalitativna (Abubakar in Haque 2020; Sahira Banu in Cathrine 2015).

Identifikacija bioaktivnih spojin

Identiteto spojin lahko določimo s kromatografskimi metodami, sklopljenimi z masno spektrometrijo (npr. HPLC-MS, GC-MS), medtem ko je za določitev točne kemijske strukture novih spojin potrebna uporaba spektroskopskih metod, kot sta jedrna magnetna resonanca (angl. *nuclear magnetic resonance* – NMR) in infrardeča (angl. *infrared* – IR) spektroskopija. Osnovno načelo spektroskopskih metod je prehod elektromagnetnega sevanja skozi organsko molekulo, ki absorbira del prejetega sevanja. Z merjenjem količine absorbiranega sevanja se lahko ustvari spekter, ki je specifičen za določene vezi v molekuli. Na podlagi posnetega

spektra in primerjavi le-tega s spektrom znane spojine se lahko določi strukturo preučevane molekule (Altemimi idr. 2017).

Pogost in najosnovnejši način detekcije spojin je z UV-spektroskopijo. Metoda omogoča tako kvalitativno kot kvantitativno analizo spojin, prisotnih v rastlinskem izvlečku. Številni sekundarni presnovki absorbirajo svetlobo pri točno določeni valovni dolžini: flavonoidi pri 330 nm, fenolne spojine pri 280 nm, antocianini pri 520 in fenolne kisline pri 360 nm. Metoda UV-VIS sicer ni najselektivnejša, zato je primernejša za kvantifikacijo celokupnih polifenolnih spojin. Njene prednosti so kratek čas analize, enostavnost in cenovna ugodnost v primerjavi z drugimi metodami (Abubakar in Haque 2020; Altemimi idr. 2017).

Masna spektrometrija omogoča identifikacijo spojin na osnovi njihove kemijske strukture in molekulske mase. Gre za zmogljivo analitsko metodo, ki se uporablja za identifikacijo neznanih spojin, kvantifikacijo znanih spojin in določanje kemijske strukture molekul. Organske molekule v vzorcu se najprej pretvori v visoko energijsko nabito ionizirano obliko, navadno z ionizacijo z razprševanjem, nato detektor posname spekter fragmentiranih ionov. Masni spekter je graf relativne pogostosti fragmentiranega iona glede na razmerje med maso in nabojem tega iona. Signal je relativna molekulska masa fragmentiranega iona glede na njegov naboj. Na tak način lahko z veliko natančnostjo določimo relativno molekulsko maso in glede na vzorec fragmentacije tudi molekulsko formulo spojine (Abubakar in Haque 2020; Altemimi idr. 2017).

Z jedrsko magnetno resonanco določamo predvsem magnetne lastnosti določenih atomskih jeder, največkrat vodikovega atoma ali protona, ogljikovega atoma in izotopov ogljika. Določimo lahko tudi postavitev atomov v molekuli. Z NMR lahko določimo razlike med različnimi atomskimi jedri in s tem njihov položaj v molekuli. Določimo lahko, kateri atomi so prisotni v skupinah, vezanih na ta atom, in koliko jih je. S ^{13}C -NMR identificiramo vrste ogljikovih atomov, ki so prisotni v spojini, s ^1H -NMR pa, katere vrste vodika so prisotne in kako so vodikovi ioni med seboj povezani (Abubakar in Haque 2020; Altemimi idr. 2017; Sahira Banu in Cathrine 2015).

Z metodo infrardeče spektroskopije poskušamo določiti prisotnost funkcionalnih skupin v molekuli, določimo pa lahko tudi prisotnost enojnih, dvojnih in trojnih vezi. Organsko spojino obsevamo z IR-svetlobo, ki se absorbira pri določenih valovnih dolžinah. Svetloba IR ima dovolj energije, da vzbudi molekulske vibracije na višje energijske ravni. Rezultat je

spekter, ki predstavlja delež transmitirane svetlobe. Valovna dolžina absorpcijskih pasov je značilna za določeno vrsto kemijskih vezi, zato lahko z IR-spektroskopijo kvalitativno analiziramo organske spojine. Predvsem lahko potrdimo identiteto določene spojine, če posneti spekter primerjamo z referenčnim, v pomoč pa nam je tudi pri določanju strukture novosintetiziranih molekul. Tekoči vzorci so identificirani na ploščah z natrijevim kloridom, trdni vzorci pa s kalijevim bromidom in stisnjeni v tanek pelet (Abubakar in Haque 2020; Sahira Banu in Cathrine 2015).

Viri

- Abubakar, A. R., in M. Haque. 2020. »Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes.« *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 12 (1): 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_175_19.
- Almeida, H. H. S., I. P. Fernandes, J. S. Amaral, A. E. Rodrigues in M.-F. Barreiro. 2024. »Unlocking the Potential of Hydrosols: Transforming Essential Oil Byproducts into Valuable Resources.« *Molecules* 29 (19): 4660.
- Altemimi, A., N. Lakhssassi, A. Baharlouei, D. G. Watson in D. A. Lightfoot. 2017. »Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts.« *Plants* 6 (4): 42.
- D'Ambrosia, B., E. Buommino, G. D'Angelo idr. 2013. »Spectroscopic Identification and Anti-Biofilm Properties of Polar Metabolites from the Medicinal Plant *Helichrysum italicum* Against *Pseudomonas aeruginosa*.« *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 21 (22): 7038–7046.
- Ingle, K. P., A. G. Deshmukh, D. A. Padole, M. S. Dudhare, M. P. Moharil in V. C. Khelurkar. 2017. »Phytochemicals: Extraction Methods, Identification and Detection of Bioactive Compounds from Plant Extracts.« *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6 (1): 32–36.
- Jokić, S., M. Rajić, B. Bilić in M. Molnar. 2016. »Supercritical Extraction of Scopoletin from *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Flowers.« *Phytochemical Analysis: PCA* 27 (5): 290–295.
- Kramberger, K., Z. Jenko Pražnikar, A. Baruca Arbeiter, A. Petelin, D. Bandelj in S. Kenig. 2021. »A Comparative Study of the Antioxidative Effects of *Helichrysum italicum* and *Helichrysum arenarium* Infusions.« *Antioxidants* 10 (3): 380.
- Kramberger, K., D. Barlič-Maganja, D. Bandelj idr. 2020. »HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS Determination of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity Comparison of the Hydroalcoholic and Water Extracts from Two *Helichrysum italicum* Species.« *Metabolites* 10 (10): 403.

- Kumar, R., in Y. C. Tripathi. 2011. »Getting Fragrance from Plants.« *V Training Manual on Extraction Technology of Natural Dyes & Aroma Therapy and Cultivation Value Addition of Medicinal Plant*. Forest Research Institute.
- Maksimovic, S., V. Tadic, D. Skala in I. Zizovic. 2017. »Separation of Phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An Analysis of Different Isolation Techniques and Biological Activity of Prepared Extracts.« *Phytochemistry* 138 (22): 9-28.
- Molnar, M., I. Jerković, D. Suknović idr. 2017. »Screening of Six Medicinal Plant Extracts Obtained by Two Conventional Methods and Supercritical CO₂ Extraction Targeted on Coumarin Content, 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical Scavenging Capacity and Total Phenols Content.« *Molecules* 22 (3): 348.
- Pereira, C. G., L. Barreira, S. Bijttebier itd. 2017. »Chemical Profiling of Infusions and Decoctions of *Helichrysum italicum* subsp. *picardii* by UHPLC-PDA-MS and *in vitro* Biological Activities Comparatively with Green Tea (*Camellia sinensis*) and Rooibos Tisane (*Aspalathus linearis*).« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 145 (11): 593-603.
- Pheko-Ofitlhile, T., in A. Makhzoum. 2024. »Impact of Hydrodistillation and Steam Distillation on the Yield and Chemical Composition of Essential Oils and Their Comparison with Modern Isolation Techniques.« *Journal of Essential Oil Research* 36 (2): 105-115.
- Production Farm Est. Palneca. B. I. »Triple Solar Maceration with the *Helichrysum italicum* Essential Oil.« <https://www.helichrysum-italicum.com/macerate>.
- Reverchon, E., in I. De Marco. 2006. »Supercritical Fluid Extraction and Fractionation of Natural Matter.« *The Journal of Supercritical Fluids* 38 (2): 146-166.
- Rocha, C., A. P. Moura in L. M. Cunha. 2020. »Consumers' Associations with Herbal Infusions and Home Preparation Practices.« *Food Quality and Preference* 86:104006.
- Sahira Banu, K., in L. Cathrine. 2015. »General Techniques Involved in Phytochemical Analysis.« *International Journal of Advanced Research in Chemical Science* 2 (4): 25-32.
- Zhang, Q.-W., L.-G. Lin in W.-C. Ye. 2018. »Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review.« *Chinese Medicine* 13 (1): 20.

8

Bioaktivne spojine vodnih in organskih izvlečkov laškega smilja

Katja Kramberger

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



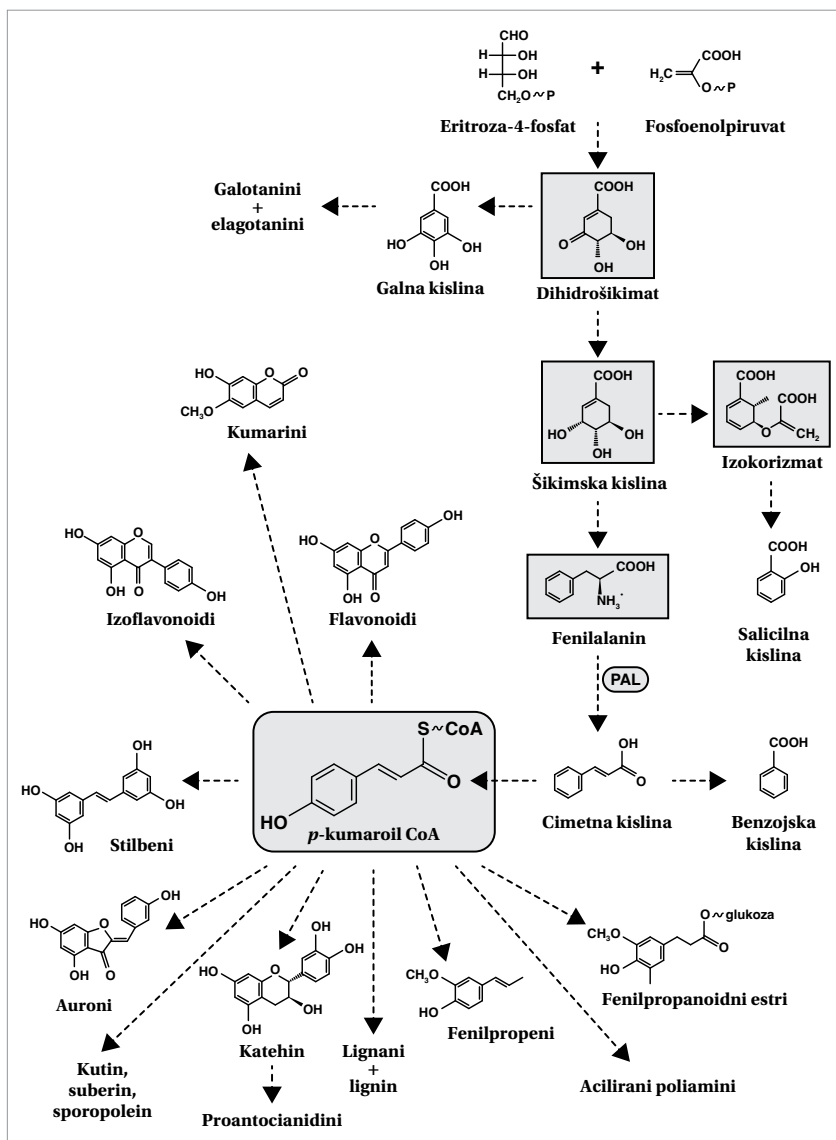
© 2025 Katja Kramberger

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.8>

Uvod

Ekstrakcija s topili je zelo pogost način ekstrakcije bioaktivnih spojin, saj je postopek precej enostaven in daje relativno dobre izkoristke. S to metodo lahko, glede na izbiro ustreznega topila, izoliramo zelo širok nabor spojin. Ekstrakcija z organskimi topili je poleg hidrodestilacije najpogostejši postopek pridobivanja izvlečkov iz laškega smilja.

Glavna skupina spojin, ki je prisotna v izvlečkih smilja, pridobljenih z ekstrakcijo z organskimi topili, so polifenoli. Gre za zelo kompleksno skupino sekundarnih presnovkov rastlin, saj je do danes znanih že prek 8.000 fenolnih spojin (Pandey in Rizvi 2009). Z organskimi topili lahko iz laškega smilja izoliramo: fenolne kisline in estre fenolnih kislin ter njihove derivate, flavonoide, acetofenone, floriglucinoles, lignane, kumarine in kumarate. Drugi razredi spojin so še pironi, tremetoni, terpeni in lipidi. Najpogostejše uporabljana topila so aceton, metanol in etanol, nekateri raziskovalci so uporabili tudi kloroform, petroleter, diklorometan, dietil eter ali vodo (Maksimovic idr. 2017). Sestava izvlečka je tako močno pogojena z izbiro topila – v vodnih izvlečkih smilja so prisotne predvsem polarnejše fenolne spojine (npr. hidroksicimetne kisline in flavonoidi), v etanolnem ali metanolnem izvlečku so lahko prisotne tudi že manj polarne spojine (npr. tremetoni in terpeni),



Slika 1 Biosintezne poti fenolnih spojin (prirejeno po Vogt 2010)

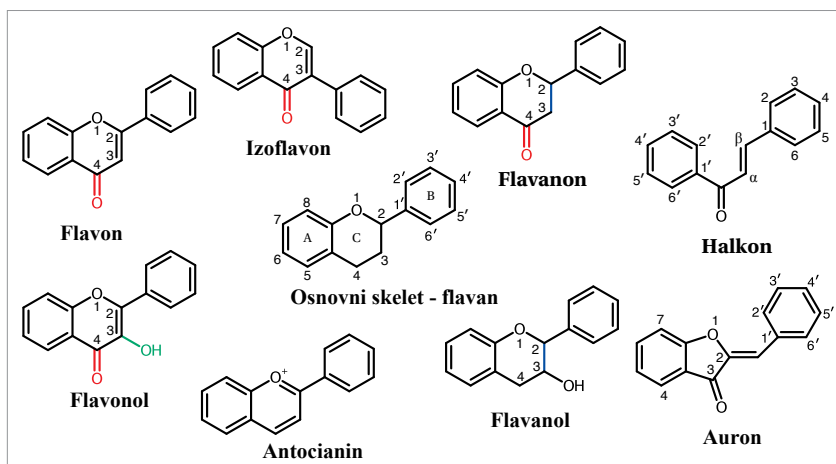
v acetonskem izvlečku pa večinoma bolj nepolarne spojine (npr. pi-
roni, tremetoni, santinoli). V nadaljevanju bomo podrobneje opisali
kemijsko strukturo omenjenih kemijskih razredov in navedli predstavi-
nike, ki so zastopani v vodnih oz. organskih izvlečkih laškega smilja.

Kemijska klasifikacija fenolnih spojin

Osnova vsem fenolnim spojinam je fenol – benzenov obroč, substituiran z eno ali več hidroksilnimi funkcionalnimi skupinami (Lin idr. 2016). Večinoma se nahajajo v konjugirani obliki, torej je na hidroksilno skupino vezana ena ali več enot sladkorja, lahko pa je sladkor vezan tudi neposredno na aromatski obroč. Možne so tudi povezave z drugimi spojinami, npr. karboksilnimi ali organskimi kislinami, amini, lipidi ali drugimi fenoli (Pandey in Rizvi 2009).

Fenolne spojine se v rastlinah sintetizirajo preko skupnega intermedija, šikimske kisline. Šikimatna pot se začne z eritroza-4-fosfatom in fosfoenol-piruvatom (angl. *phosphoenol pyruvate* – PEP), ki sta produkta presnove sladkorjev, in sicer pentoza fosfatne poti in glikolize. Najprej nastane dihidrošikimat, nato šikimska kislina, iz nje pa fenilalanin. Fenilalanin se s fenilalanin-amonijak-liazo (angl. *phenylalanine ammonia lyase* – PAL) pretvori do prvega fenilpropanoida (C_6-C_3), cimetine kisline. Fenilpropanoidna pot se nato nadaljuje do ključnega presnovka para-kumaroil koencima A, ki je izhodiščna molekula za vse ostale fenolne spojine (Vogt 2010). Shema sinteznih poti različnih fenolnih spojin je prikazana na sliki 1.

Fenolne spojine razvrščamo v različne razrede glede na število fenolnih obročev, ki so prisotni v molekuli, in na podlagi strukturnih elementov, ki povezujejo posamezne fenolne obroče med seboj. Glavni razredi so: fenolne kisline, flavonoidi, stilbeni in lignani. Fenolne kisline oz. fenolkarboksilne kisline so aromatske organske spojine, ki v molekuli vsebujejo vsaj eno karboksilno in eno fenolno hidroksilno skupino. Navadno so derivati bodisi benzojske bodisi cimetine kisline, zato jih nadalje delimo na hidroksibenzojske in na hidroksicimetine kisline. Derivati benzojske kisline se lahko pojavljajo v prosti obliki ali v obliki estrov in glikozidov. Pogosti predstavniki so salicilna, galna in vanilna kislina. Derivati cimetine kisline se v rastlinah največkrat pojavljajo v obliki estrov, zelo pogosti so, denimo, estri s kinsko kislino. Najpogostejše proste kisline so kavna, ferulna in p-kumarna kislina (Pandey in Rizvi 2009). Ester med kavno kislino in kinsko kislino je zelo razširjena klorogenska kislina oz. 5-kafeoilkinska kislina. Obstaja več izomerov te spojine, npr. neoklorogenska, kriptoklorogenska kislina, in njihovih derivatov, npr. dikafeoilkinske in trikafeoilkinske kisline (Clifford idr. 2017). Flavonoidi so naslednja velika skupina fenolnih spojin, katerih osnovno strukturo sestavljata dva aromatska obročja, med seboj povezana s tremi ogljikovimi atomi.



Slika 2 Osnovne kemijske strukture flavonoidov

En obroč navadno nastane iz poliketidne verige acetatov (aktivirane malonilne kisline), drugi pa po šikimatni poti. Vsi flavonoidi (znanih je okoli 3.000) imajo enak biosintezni izvor, zato so njihove strukture zelo podobne. Osnova je 2-fenilkromanski skelet (flavan), med seboj pa se razlikujejo po oksidacijski stopnji piranovega obroča. Delimo jih na: flavanone (ketoskupina na 4. mestu piranovega obroča), flavanole (hidroksi skupina na 3. mestu piranovega obroča), flavone (dvojna vez med 2. in 3. mestom), flavonole (dvojna vez med 2. in 3. mestom ter hidroksi skupina na 3. mestu), izoflavone (benzenov obroč na 3. namesto 2. mestu piranovega obroča) in antocianine (dve dvojni vezi v piranovem obroču in pozitivni naboj na kisiku – flavilijev kation) (slika 2). Spojine znotraj posamezne skupine se razlikujejo glede na število in postavitev hidroksilnih skupin in stopnjo alkilacije oz. glikozilacije (Pandey in Rizvi 2009). Sladkorna komponenta je lahko mono-, di- ali trisaharid, najpogostejši sladkorji pa so glukoza, galaktoza, ramnoza in arabinoza. Pri O-glikozidih, ki so najpogostejši, je lahko glikozilirana katera koli hidroksilna skupina, največkrat pa je na 7. ali 3. mestu. Posamezni monosaharidi so lahko acilirani, znanih je tudi nekaj sulfatov. Manj pogosti so C-glikozidi, pri katerih se ogljik sladkorja poveže s 6. ali 8. ogljikom aglikona. Nekateri glikozidi so tudi hkrati O- in C-glikozidi. Poleg omenjenih razredov flavonoidov poznamo še halkone, ki imajo piranski obroč odprt, in aurone, kjer je namesto piranskega furanskega obroč (Beecher 2003). Stilbeni vsebujejo dve fenilni skupini, povezani z metilenskim mostom. Najbolj preučevan stilben je resveratrol. Lignani so difenolne spojine, ki v strukturi

vsebujejo 2,3-dibenzilbutan, ki se tvori z dimerizacijo dveh ostankov cimetnih kislin (Pandey in Rizvi 2009).

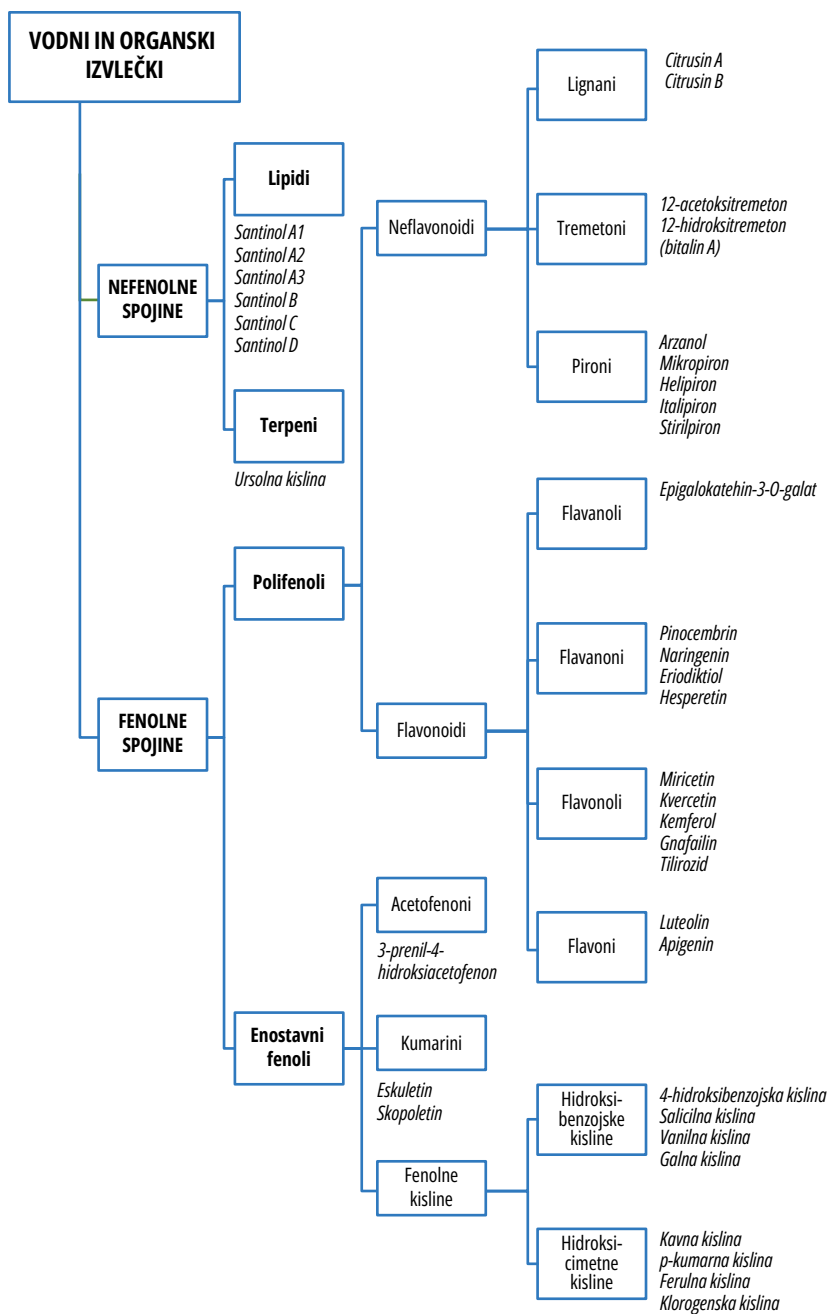
Fenolne in druge spojine v izvlečkih laškega smilja

Vodni izvlečki

Kemijsko analizo vodnih izvlečkov smilja so preučevali Maja Kazazic idr. (2016), Catarina G. Pereira idr. (2017) ter Katja Kramberger idr. (2020). Maja Kazazic idr. (2016) so določili samo količino celokupnih fenolnih spojin v vodnem izvlečku, ki je za laški smilj znašala $1569,00 \pm 17,32$ mg ekvivalentov galne kisline/100 g suhe mase (Kazazic idr. 2016). Catarina G. Pereira idr. (2017) so poleg kvantifikacije celokupnih fenolnih spojin in posameznih kemijskih razredov izvedli še identifikacijo posameznih spojin, prisotnih v poparkih ter prevretkih različnih delov rastline laškega smilja. Prevretki so vsebovali več celokupnih fenolnih spojin, največ jih je bilo v cvetovih. Prevladovala so klorogenska, kinska in dikafeoilkinske kisline ter flavonoida pinocembrin in gnafalin A (Pereira idr. 2017). Podobno sestavo poparkov smo določili tudi v naši raziskavi (Kramberger idr. 2020), kjer so prav tako prevladovali kafeoilkinske kisline in flavonoidi. Naslednji po zastopanosti so bili pironi. Izvlečki, pripravljeni z maceracijo v hladni vodi ob dodatku ultrazvoka, pa so vsebovali predvsem fenolne kisline (Kramberger idr. 2020).

Etanolni izvlečki

Etanol velja za najpogostejše uporabljano topilo za ekstrakcijo spojin iz laškega smilja. Z raziskavami kemijske sestave izvlečkov laškega smilja so se začeli ukvarjati Maffei Facino idr. (1988), Maffei Facino idr. (1990), Pietta idr. (1991) ter Pietta idr. (1992), ki so izolirali predvsem flavonoide (npr. apigenin, luteolin, gnafalin, naringenin) in njihove glikozide (npr. glikozide kvercetina, kemferola, naringenina, luteolina in apigenina) (Maffei Facino idr. 1988; Maffei Facino idr. 1990; Pietta idr. 1991; Pietta idr. 1992). Zapesochnaya idr. (1990) ter Zapesochnaya idr. (1992) so izolirali predvsem hidroksicimetne kisline (kavno, p-kumarno, ferulno kislino) in njihove estre (npr. kafeoilkinske in dikafeoilkinske kisline) (Zapesochnaya idr. 1990; Zapesochnaya idr. 1992). Daniela Rigano idr. (2013) ter Daniela Rigano idr. (2014) so iz etanolnega izvlečka izolirali predvsem derivate acetofenona, tremetone (acilbenzofurane). Med njimi sta po aktivnosti izstopala 12-acetoksitremeton in [2,3-dihidro-2-[1-(hidroksimetil)etenil]-5-benzofuranil]-etanon (Rigano idr. 2013; Rigano idr. 2014).



Slika 3 Kemijski razredi fenolnih in nefenolnih spojin ter njihovi predstavniki, zastopani v izvlečkih laškega smilja

Metanolni izvlečki

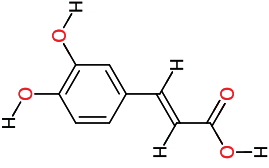
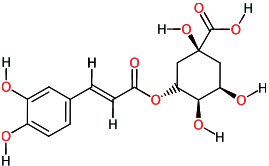
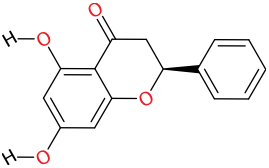
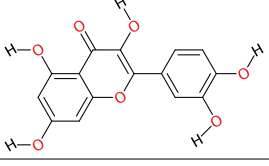
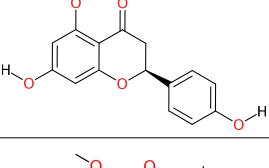
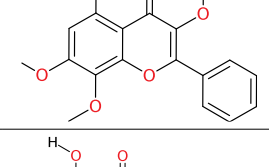
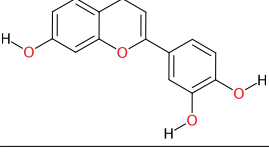
Araceli Sala idr. (2001), Araceli Sala idr. (2002), Ariceli Sala, Maria Carmen Recio, Guillermo R. Schinella, Salvador Máñez, Rosa M. Giner in Jose-Luis Rios (2003) ter Araceli Sala, Maria Carmen Recio, Guillermo R. Schinella, Salvador Máñez, Rosa M. Giner, Miguel Cerdá-Nicolás in José Luis Rosí (2003) so preučevali metanolne izvlečke laškega smilja, iz katerih so izolirali flavonoide (pinocembrin, tilirozid, gnafalin) in acetofenone. Izmed acetofenonov sta bila 4-hidroksi-3-(2-hidroksi-3-izopentenil)acetofenon in 4-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil)acetofenon najbolj biološko aktivna (Sala idr. 2001; Sala idr. 2002; Sala, Recio, Schinella idr. 2003; Sala, Recio, Schinella, Máñez idr. 2003). Ana Laura De La Garza idr. (2013) so iz metanolnih izvlečkov izolirali tudi številne fenolne kisline (galno, kavno, klorogensko kislino) in flavonoide, flavanone (naringenin in njegove glikozide), flavonole (kemferol in njegove glikozide ter miricetin glikozid), flavone (metoksiluteolin) in flavanole (epigalokatehin-3-O-galat) (De La Garza idr. 2013). Podobno sestavo so metanolnemu izvlečku določili tudi Angela Mari idr. (2014). V izvlečku so bile kavna, klorogenska in dikafeoilkinske kisline, od flavonoidov pa glikozidi kvercetina, kemferola in izoramnetina. Določili pa so še drimanski seskviterpen, 12-hidroksitreton in gnafaliol (Mari idr. 2014). Brigida D'Abrosca idr. (2013) so v metanolnem izvlečku določili predvsem stirilpirone, neolignane in oksineolignane, med katerimi sta bila citruzin A in citruzin B (D'Abrosca idr. 2013).

Iz metanolnega izvlečka so Rosa Tundis idr. (2005) po frakcionaciji z n-heksanom izolirali tudi mono- in seskviterpene (α -terpinolen, trans-kariofilen in neril acetat) (Tundis idr. 2005).

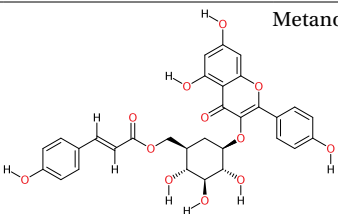
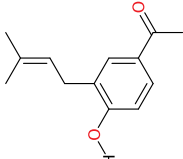
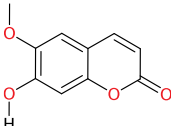
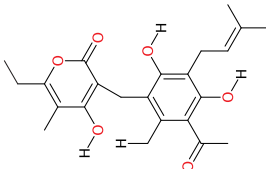
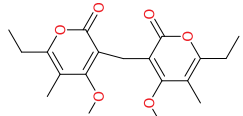
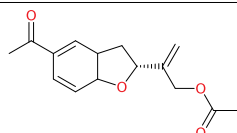
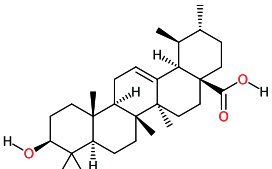
Acetonski izvlečki

Najbolj preučevana spojina, značilna za laški smilj, je arzanol – prenilirani heterodimerni floriglucinol α -piron, ki so ga prvič izolirali Appendino idr. (2007) iz acetonskega izvlečka. Arzanol ima pleiotropno delovanje, aktivni pa so tudi nekateri drugi pironi, npr. helipiron in mikropiron (Rosa idr. 2007). Poleg pironov so bili v acetonskem izvlečku prisotni tudi številni tremetoni (Rosa idr. 2007; Appendino idr. 2007). Tagliatela-Scafati idr. (2013) so poleg pironov in tremetonov izolirali še nekatere druge manj polarne spojine, kot so seskviterpena neril acetat in ω -oleoiloksilinalool, triterpenoid ursolna kislina in neobičajna skupina lipidov, imenovana santinoli. Santinoli so angeolirani gliceridi, za katere je značilna razvejana acilna ali keto-acilna veriga. Gre za nov razred spojin, ki so bile

Preglednica 1 Seznam nekaterih najznačilnejših spojin, izoliranih iz laškega smilja

Ime spojine in razreda	Kemijska struktura*	Ekstrakcijsko topilo**	Izkoristek ekstrakcije***
Kavna kislina (fenolna kislina)		Metanol (De La Garza idr. 2013; Mari idr. 2014), etanol (Zapesochnaya idr. 1990), voda (Pereira idr. 2017)	0,0067 % (NS) (De La Garza idr. 2013), 0,00042 % (cvetovi) (Mari idr. 2014), 0,0057–0,015 % (nadzemni deli ali cvetovi) (Pereira idr. 2017)
Klorogenska kislina (ester fenolne kisliline)		Metanol (De La Garza idr. 2013; Mari idr. 2014), etanol (Zapesochnaya idr. 1990), voda (Pereira idr. 2017)	0,104 % (NS) (De La Garza idr. 2013), 0,045 % (cvetovi) (Mari idr. 2014), 0,52–0,77 % (nadzemni deli ali cvetovi) (Pereira idr. 2017)
Pinocembrin (flavonoid)		Aceton (Wollenweber idr. 2005), metanol (Sala idr. 2002)	NA (NS) (Wollenweber idr. 2005), NA (nadzemni deli) (Sala idr. 2002)
Kvercetin (flavonoid)		Metanol (Mari idr. 2014), voda (Pereira idr. 2017)	0,015 % (cvetovi) (Mari idr. 2014), 0,001–0,0015 % (nadzemni deli ali cvetovi) (Pereira idr. 2017)
Naringenin (flavonoid)		Metanol	0,023 % (NS) (De La Garza idr. 2013)
Gnafalin (flavonoid)		Metanol	0,03 % (nadzemni deli) (Schinella idr. 2007)
Luteolin (flavonoid)		Etanol	NA (cvetovi) (Maffei Facino idr. 1988)

Bioaktivne spojine vodnih in organskih izvlečkov laškega smilja

Ime spojine in razreda	Kemijska struktura*	Ekstrakcijsko topilo**	Izkoristek ekstrakcije***
Tilirozid (glikoziliran flavonoid)		Metanol	0,0063 % (nadzemni deli) (Schinella idr. 2007), 0,0015 % (cvetovi) (Mari idr. 2014)
4-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil)acetofenon (acetofenon)		Metanol	0,5 % (nadzemni deli) (Sala idr. 2001)
Skopoletin (kumarin)		Kloroform (Karasartov idr. 1992), superkritični CO ₂ (Jokić idr. 2016)	NA (cvetovi) (Karasartov idr. 1992), 0,001933 % (cvetovi) (Jokić idr. 2016)
Arzanol (piron)		Aceton	0,078 % (nadzemni deli) (Appendino idr. 2007), 0,064 % (nadzemni deli in cvetovi) (Rosa idr. 2007), 0,32 % (nadzemni deli) (Tagliatela-Scafati idr. 2013)
Helipiron (piron)		Aceton	0,025 % (nadzemni deli) (Appendino idr. 2007)
12-acetoksi tremeton (tremeton)		Etanol (Rigano idr. 2013), aceton (Rosa idr. 2007)	0,0026 % (cvetovi) (Rigano idr. 2014)
Ursolna kislina (triterpen)		Aceton (Tagliatela-Scafati idr. 2013), metanol (Sala idr. 2001)	0,40 % (nadzemni deli) (Tagliatela-Scafati idr. 2013), NA (nadzemni deli) (Sala idr. 2001)

Opombe * Slike 2D-struktur spojin smo pridobili iz prosto dostopne podatkovne baze PubChem. ** Navedeno je samo primarno topilo, ki so ga uporabili v postopku ekstrakcije. *** Izkoristke ekstrakcij smo izračunali iz navedenih mas izoliranih spojin glede na količino izhodnega rastlinskega materiala. Navajamo tudi del rastline, ki je bil uporabljen za ekstrakcijo, če so to avtorji zapisali. NA – podatek ni na voljo, NS – ni specficirano.

izolirane samo iz laškega smilja, zato so jih poimenovali po začetniku raziskav te rastline, Leonardu Santiniju (Taglialatela-Scafati idr. 2013). Nasprotno so Wollenweber idr. (2005) iz acetonskega izvlečka izolirali predvsem flavonoide (galangin, gnafalin, pinocembrin in metilni etri galangina, kemferola, herbacetina, kvercetina in gosipetina) (Wollenweber idr. 2005).

Izvillečki, pripravljene z drugimi topili

Tomás-Barberán idr. (1990) ter Karasartov idr. (1992) so za ekstrakcijo topilo uporabili kloroform. Tomás-Barberán idr. (1990) so za glavno bioaktivno spojino v tem izvlečku določili 4-hidroksi-3(izopoenten-2-il) acetofenon, Karasartov idr. (1992) pa so s kolonsko kromatografijo izolirali predvsem kumarine (eskuletin, skopoletin in izoskopoletin) in flavonoide (kemferol in 3,5,7-tihidroksi-8-metoksiflavon ter 3,5-dihidroksi-6,7,8-trimetoksiflavon) (Tomás-Barberán idr. 1990; Karasartov idr. 1992). Antonia Nostro idr. (2000) so za ekstrakcijo uporabili dietil eter. Izvleček je vseboval predvsem kumarine in flavonoide, prisotni pa so bili tudi steroidi (Nostro idr. 2000).

V preglednici 1 so zbrane nekatere najznačilnejše spojine, izolirane iz laškega smilja. Navedeni so podatki o imenu in kemijski strukturi spojine, uporabljenem ekstrakcijskem topilu in izkoristku ekstrakcije (mase izolirane spojine glede na začetno maso rastlinskega materiala).

Viri

- Appendino, G., M. Ottino, N. Marque idr. 2007. »Arzanol, an Anti-Inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol Alpha-Pyrone from *Helichrysum italicum* Ssp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 70 (4): 608–612.
- Beecher, G. R. 2003. »Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake.« *The Journal of Nutrition* 133 (10): 3248S–3254S.
- Clifford, M. N., I. B. Jaganath, I. A. Ludwig in A. Crozier. 2017. »Chlorogenic Acids and the Acyl-Quinic Acids: Discovery, Biosynthesis, Bioavailability and Bioactivity.« *Natural Product Reports* 34 (12): 1391–1421.
- D'Ambrosia, B., E. Buommino, G. D'Angelo idr. 2013. »Spectroscopic Identification and Anti-Biofilm Properties of Polar Metabolites from the Medicinal Plant *Helichrysum italicum* Against *Pseudomonas aeruginosa*.« *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 21 (22): 7038–7046.
- De La Garza, A. L., U. Etxeberria, M. P. Lostao idr. 2013. »*Helichrysum* and Grapefruit Extracts Inhibit Carbohydrate Digestion and Absorption,

- Improving Postprandial Glucose Levels and Hyperinsulinemia in Rats.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (49): 12012–12019
- Jokić, S., M. Rajić, B. Bilić in M. Molnar. 2016. »Supercritical Extraction of Scopoletin from *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Flowers.« *Phytochemical Analysis* 27 (5): 290–295.
- Karasartov, B. S., V. A. Kurkin in G. G. Zapesochnaya. 1992. »Coumarins and Flavonoids of the Flowers of *Helichrysum Italicum*.« *Chemistry of Natural Compounds* 28 (5): 504–505.
- Kazazic, M., M. Djapo in E. Ademovic. 2016. »Antioxidant Activity of Water Extracts of Some Medicinal Plants from Herzegovina Region.« *International Journal of Pure and Applied Bioscience* 4 (2): 85–90.
- Kramberger, K., D. Barlič-Maganja, D. Bandelj idr. 2020. »HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS Determination of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity Comparison of the Hydroalcoholic and Water Extracts from Two *Helichrysum italicum* Species«. *Metabolites* 10 (10): 403.
- Lin, D., M. Xiao, J. Zhao idr. 2016. »An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes.« *Molecules* 21 (10): 1374.
- Maffei Facino, R., M. Carini, M. Mariani in C. Cipriani. 1988. »Anti Erythematous and Photoprotective Activities in Guinea Pigs and in Man of Topically Applied Flavonoids from *Helichrysum Italicum* g. Don.« *Acta Therapeutica* 14 (4): 323–346.
- Maffei Facino, R., M. Carini, L. Franzoi, O. Pirola in E. Bosio. 1990. »Phytochemical Characterization and Radical Scavenger Activity of Flavonoids from *Helichrysum italicum* G. Don (Compositae).« *Pharmacological Research* 22 (6): 709–721.
- Maksimovic, S., V. Tadic, D. Skala in I. Zizovic. 2017. »Separation of Phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An Analysis of Different Isolation Techniques and Biological Activity of Prepared Extracts.« *Phytochemistry* 138:9–28.
- Mari, A., A. Napolitano, M. Masullo, C. Pizza in S. Piacente. 2014. »Identification and Quantitative Determination of the Polar Constituents in *Helichrysum italicum* Flowers and Derived Food Supplements.« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 96:249–255.
- Nostro, A., M. P. Germanò, V. D'Angelo, A. Marino in M. A. Cannatelli. 2000. »Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity.« *Letters in Applied Microbiology* 30 (5): 379–384.
- Pandey, K. B., in S. I. Rizvi. 2009. »Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease.« *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2 (5): 270–278.

- Pereira, C. G., L. Barreira, S. Bijttebier idr. 2017. »Chemical Profiling of Infusions and Decoctions of *Helichrysum italicum* subsp. *picardii* by UHPLC-PDA-MS and *in vitro* Biological Activities Comparatively with Green Tea (*Camellia sinensis*) and Rooibos Tisane (*Aspalathus linearis*).« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 145:593–603.
- Pietta, P., P. Mauri, R. M. Facino in M. Carini. 1992. »Analysis of Flavonoids by MECC with Ultraviolet Diode Array Detection.« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 10 (10–12): 1041–1045.
- Pietta, P., P. Mauri, C. Gardana, R. M. Facino in M. Carini. 1991. »High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Flavonoid Glucosides from *Helichrysum italicum*.« *Journal of Chromatography A* 537: 449–452.
- Rigano, D., C. Formisano, E. Pagano itd. 2014. »A New Acetophenone Derivative from Flowers of *Helichrysum italicum* (Roth) Don Ssp. *italicum*.« *Fitoterapia* 99:198–203.
- Rigano, D., C. Formisano, F. Senatore idr. 2013. »Intestinal Antispasmodic Effects of *Helichrysum italicum* (Roth) Don ssp. *italicum* and Chemical Identification of the Active Ingredients.« *Journal of Ethnopharmacology* 150 (3): 901–906.
- Rosa, A., M. Deiana, A. Atzeri idr. 2007. »Evaluation of the Antioxidant and Cytotoxic Activity of Arzanol, a Prenylated α -pyrone-phloroglucinol Etherodimer from *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum*.« *Chemico-Biological Interactions* 165 (2): 117–126.
- Sala, A., M. C. Recio, R. M. Giner idr. 2002. »Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of *Helichrysum italicum*.« *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 54 (3): 365–371.
- Sala, A., M. C. Recio, R. M. Giner, S. Máñez in J. L. Ríos. 2001. »New Acetophenone Glucosides Isolated from Extracts of *Helichrysum italicum* with Antiinflammatory Activity.« *Journal of Natural Products* 64 (10): 1360–1362.
- Sala, A., M. C. Recio, G. R. Schinella, S. Máñez, R. M. Giner in J.-L. Ríos. 2003. »A New Dual Inhibitor of Arachidonate Metabolism Isolated from *Helichrysum italicum*.« *European Journal of Pharmacology* 460 (2–3): 219–226.
- Sala, A., M. C. Recio, G. R. Schinella, S. Máñez, R. M. Giner, M. Cerdá-Nicolás in J. L. Rosí. 2003. »Assessment of the Anti-inflammatory Activity and Free Radical Scavenger Activity of Tiliroside.« *European Journal of Pharmacology* 461 (1): 53–61.
- Schinella, G. R., H. A. Tournier, S. Máñez, P. M. de Buschiazzo, M. del Carmen Recio in J.-L. Ríos. 2007. »Tiliroside and Gnaphaliin Inhibit Human Low Density Lipoprotein Oxidation.« *Fitoterapia* 78 (1): 1–6.

- Taglialatela-Scafati, O., F. Pollastro, G. Chianese idr. 2013. »Antimicrobial Phenolics and Unusual Glycerides from *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 76 (3): 346–353.
- Tomás-Barberán, F., E. Iniesta-Sanmartín, F. Tomás-Lorente in A. Rumbero. 1990. »Antimicrobial Phenolic Compounds from Three Spanish *Helichrysum* Species.« *Phytochemistry* 29 (4): 1093–1095.
- Tundis, R., G. A. Statti, F. Conforti idr. 2005. »Influence of Environmental Factors on Composition of Volatile Constituents and Biological Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) Don (Asteraceae).« *Natural Product Research* 19 (4): 379–387.
- Vogt, T. 2010. »Phenylpropanoid Biosynthesis.« *Molecular Plant* 3 (1): 2–20.
- Wollenweber, E., M. Christ, R. H. Dunstan, J. N. Roitman in J. F. Stevens. 2005. »Exudate Flavonoids in Some Gnaphalieae and Inuleae (Asteraceae).« *Zeitschrift Für Naturforschung C* 60 (9–10): 671–678.
- Zapesochnaya, G. G., T. V. Dzyadevich in B. S. Karasartov. 1990. »Phenolic Compounds of *Helichrysum italicum*.« *Chemistry of Natural Compounds* 26 (3): 342–343.
- Zapesochnaya, G. G., V. A. Kurkin, T. V. Kudryavtseva idr. 1992. »Dicaffeoylquinic Acids from *Helichrysum italicum* and *Achillea cartilaginea*.« *Chemistry of Natural Compounds* 28 (1): 40–44.

9

Bioaktivne spojine hidrolata in eteričnega olja laškega smilja

Dunja Bandelj

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Matjaž Hladnik

Fakulteta za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije, Univerza na Primorskem

Katja Kramberger

Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem

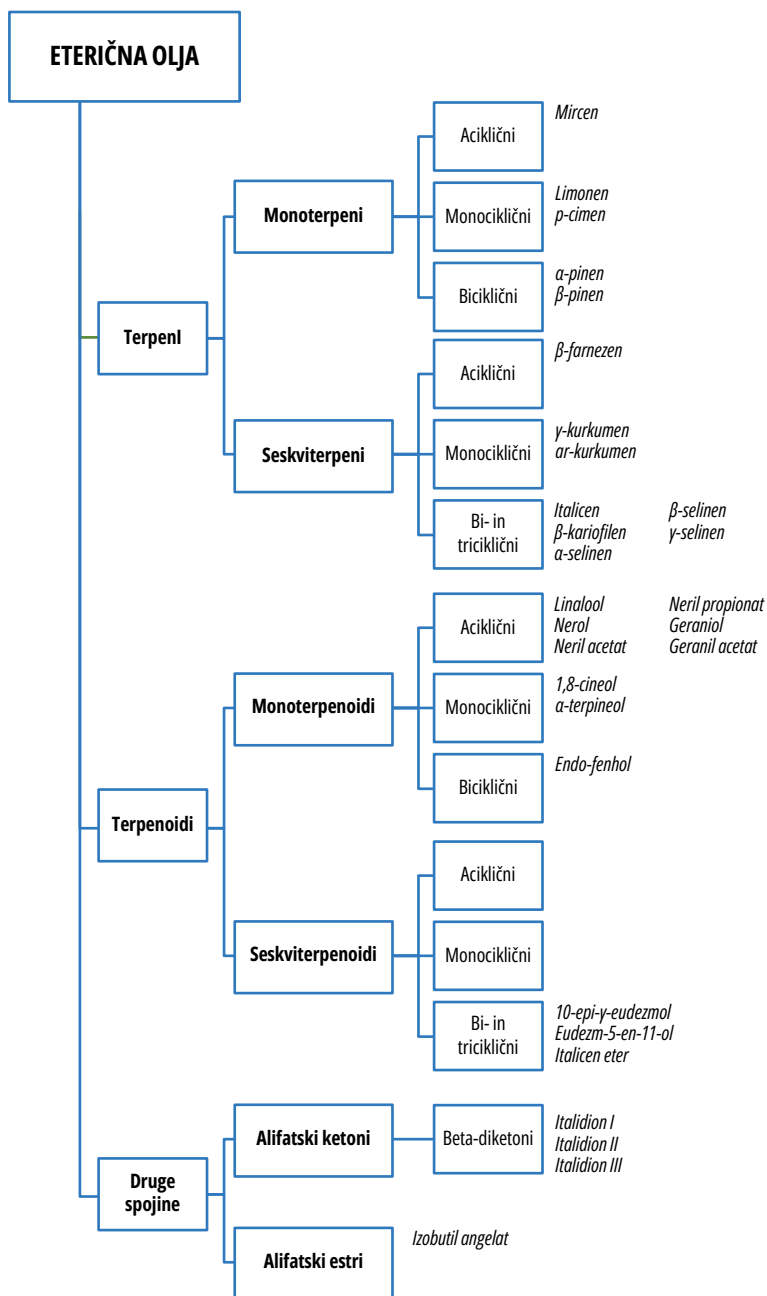


© 2025 Dunja Bandelj, Katja Kramberger in Matjaž Hladnik

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.9>

Bioaktivne spojine v eteričnem olju laškega smilja

Eterična olja so visoko koncentrirane tekočine oljnega videza, ki imajo kompleksno kemijsko sestavo. Gre za zmesi hlapnih, močno dišečih lipofilnih spojin, ki imajo nizko vrelišče, so pri sobnih pogojih v tekočem agregatnem stanju in imajo nižjo gostoto od vode. Topijo se v etanolu in lipofilnih topilih, v vodi so slabo topna, pa vendar dovolj, da dajejo blago aromo aromatičnim vodam (Dhifi idr. 2016). Glavna sestavina eteričnih olj so organske spojine iz razreda terpenov oz. terpenoidov. Gre za spojine, ki imajo v svoji kemijski strukturi eno ali več enot izoprena, 2-metil-1,3-butadiena (C_5H_8). Enote izoprena so navadno oksidirane do alkoholov, aldehydov, kislin, etrov, estrov in ketonov – v tem primeru jih imenujemo terpenoidi, če so v strukturi prisotni samo ogljikovodiki, pa jih imenujemo terpeni. Spojine so lahko ciklične ali aciklične. Najpogostejši terpeni v eteričnih oljih so mono- in seskviterpenoidi – spojine z dvema oz. s tremi enotami izoprena. Te spojine se v rastlini sintetizirajo po različnih biokemijskih poteh, se vključujejo v procese komunikacije



Slika 1 Shematska delitev kemijskih spojin, prisotnih v eteričnem olju laškega smilja

in obrambe v rastlinskih celicah ter tkivih in prispevajo k značilni aromi ter biološkem učinkom eteričnih olj. Novejše raziskave razkrivajo vlogo terpenov pri nastanku celičnih membran in njihovi stabilizaciji pri visokih temperaturah, kontroli celičnega cikla, regulaciji izražanja genov, regulaciji signalne transdukcije, sodelujejo pri transportu elektronov in fotosintezi, modifikaciji proteinov ter ščitijo pred infekcijami (Holstein in Hohl 2004; Jeong idr. 2018). Nekatere monoterpeneske in seskviterpeneske spojine delujejo insekticidno, zato so uporabne pri varstvu pred rastlinojedi in patogeni, vendar so raziskave na tem področju omejene (Cheng idr. 2007). Zaradi lipofilnosti in majhne velikosti molekul spojine zlahka prehajajo v biološke membrane in izkazujejo terapevtske učinke, zato se številne raziskave usmerjajo v raziskovanje njihovega delovanja proti okužbam, raku in vnetnim procesom (Durczyńska in Żukowska 2024; Siddiqui idr. 2024).

Glavna skupina kemijskih spojin v eteričnem olju laškega smilja so terpeni in terpenoidi – predvsem mono- in seskviterpeni oz. mono- in seskviterpenoidi, druga skupina pa so spojine iz razreda β -diketonov, imenovane tudi italidioni, saj se pojavljajo samo v vrsti *H. italicum* (Maksimovic idr. 2017; Morone-Fortunato idr. 2010). Izmed monoterpenov sta v eteričnem olju najbolj zastopana α -pinen in limonen ter od monoterpenoidov nerol, neril acetat in neril propanoat. Med seskviterpeni prevladujejo α -in β -selinen, γ -kurkumen in trans- β -kariofilen, med seskviterpenoidi pa stereoisomer rosifoliola – eudezm-5-en-11-ol (slika 1). Hlapne spojine, prisotne v rastlini oz. eteričnem olju, so odgovorne tudi za rastlinin značilen vonj. V nasprotju z značilnim vonjem sveže rastline, ki spominja na kari, eterično olje laškega smilja navadno nima takšnega vonja (Appendino idr. 2015; Charles in Simon 1991). Povezava med posameznimi spojinami in vonjem je slabo raziskana, najverjetneje pa so za grenko, lesnato noto eteričnega olja odgovorne nehlapne spojine, ki se med destilacijo razgradijo (Charles in Simon 1991). Aromo karija pripisujejo kurkumonom (Tzanova idr. 2018) in diketonu 4,6-dimetiloktan-3,5-dionu (Andreani idr. 2019), ki pa so v eteričnem olju različno zastopani.

Največ raziskav laškega smilja je opravljenih prav v zvezi s kemijsko sestavo eteričnega olja. V preglednici 1 so predstavljene sestava eteričnega olja različnih podvrst laškega smilja in raziskave, ki so jih raziskovalci izvajali v različnih državah.

Čeprav ISO-standard, ki bi reguliral kakovost eteričnega olja laškega smilja, uradno ne obstaja (Aćimović idr. 2024), se kot kriterij pogosto

Preglednica 1 Predstavitev poglavitnih biokemijskih spojin eteričnega olja po raziskavah

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Črna gora	neril acetat (28,2 %) γ-kurkumen (18,8 %) neril propionat (9,1 %) ar-kurkumen (8,3 %)	subsp. <i>italicum</i> /Črna gora	Kladar idr. (2015)
Črna gora	β-eudezmen (21,65 %) β-bisabolen (19,90 %) α-pinen (16,9 %) neril acetat (10,66 %) kopaen (4,45 %) limonen (3,24 %) β-kariofilen (11,5 %)	subsp. <i>italicum</i> /Črna gora	Oliva idr. (2020)
Hrvaška	1. Parna destilacija: α-pinen (0,09–6,6 %) limonen (0,08–2,53 %) neril acetat (6,38–12,26 %) β-selinen (1,85–4,46 %) ar-kurkumen (0–6,92 %) γ-kurkumen (0–9,66 %) α-selinen (3,45–11,23 %) italidion I (5,73–13,30 %) italidion II (3,17–12,07 %) italidion III (2,14–7,21 %) 2. Vodna destilacija: α-pinen (1,75–5,06 %) limonen (0,82–3,31 %) neril acetat (5,45–10,84 %) β-selinen (0,26–3,09 %) ar-kurkumen (0–6,92 %) γ-kurkumen/ α-selinen (0–3,58 %) italidion I (2,03–5,67 %) italidion II (3,16–5,55 %) italidion III (4,48–5,60 %)	subsp. <i>italicum</i> /Hrvaška	Jažo idr. (2022)
Francija (Korzika)	1. Genotip 1 (Bonifaccio): neril acetat (55,7 %) neril propanoat (12,7 %) nerol (4,4 %) ar-kurkumen (3,9 %) γ-kurkumen (2,5 %) 2. Genotip 2 (Porto Vecchio): neril acetat (41,5 %) nerol (13,1 %) γ-kurkumen (8,2 %) neril propanoat (5,6 %) rosifoliol (3,8 %)	subsp. <i>microphyllum</i> */Korzika	Perrini idr. (2009)

Nadaljevanje na naslednji strani

Opomba *Po novejši klasifikaciji podvrsta subsp. *tyrrhenicum*.

Bioaktivne spojine hidrolata in eteričnega olja laškega smilja

Nadaljevanje s prejšnje strani

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Srbija	neril acetat (5,5 %) α-pinen (11,8 %) italicen (4,2 %) β-kariofilen (6,7 %) γ-kurkumen (13,6 %) ar-kurkumen (5 %) β-selinen (12,2 %) α-selinen (4,3 %) limonen (2,6 %)	subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Aćimović idr. (2021)
Srbija	α-pinen (29,77 %) limonen (2,77 %) α-kubeben (2,76 %) himahelen (5,40 %) trans-kariofilen (7,43 %) β-pačulen (3,14 %) α-murolen (21,50 %) neril acetat (3,3 %) α-kurkumen (4 %)	subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Nebriğić idr. (2023)
Srbija	γ-kurkumen (16,3–20,5 %) β-selinen (6,8–9,1 %) trans-kariofilen (6,5–7,1%) neril acetat (5,9–8,1%) ar-kurkumen (5,6–8,4%) α-pinene (4,6–6,8%) italicen (4,6–5,1%) limonen (1,4–2,2 %)	subsp. <i>italicum</i> /ni določen	Aćimović idr. (2024)
Bosna in Hercegovina	α-pinen (15,96–17,98%) limonen (2,23–3,26 %) neril acetat (7,55–10,68 %) italicen (2,71–3,62 %) β-kariofilen (4,96–5,44 %) β-kurkumen (14,39–20,62 %) β-selinen (8,51–10,24 %) α-selinen (4,10–5,73 %)	subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Džananović Jaganjac idr. (2021)
Bosna in Hercegovina	α-pinen (15,7 %) γ-kurkumen (12,8 %) 4,6,9-trimetildec-8-en-3,5-dion (8,7 %) neril acetat (6,9 %) limonen (6,4 %) β-selinen (5,3 %) trans-kariofilen (3,9 %) α-selinen (3,6 %)	subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Talić idr. (2019)

Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Bolgarija	1. Francoski genotip: neril acetat (33,8 %) γ-kurkumen (8,8 %) rosifoliol (5,46 %) geranil propionat (4,98 %) ar-kurkumen (4,31 %) italidion I (3,56 %) α-eudezmol (3,19 %) limonen (3,02 %) α-pinen (1,98 %) 2. Bosanski genotip: α-pinen (20,84 %) γ-kurkumen (16,53 %) β-selinen (5,59 %) ar-kurkumen (4,39 %) trans-kariofilen (4,35 %) β-diketon italidion I (4,32 %) α-selinen (4,28 %) neril acetat (3,81 %) limonen (2,02 %)	subsp. <i>microphyllum</i> */ Francija subsp. <i>italicum</i> /Bosna in Hercegovina	Mollova idr. (2020)
Bolgarija	α-pinen (5,59–19,52 %) limonen (1,72–4,45 %) neril acetat (12,01–20,60 %) α-kopaen (5,42–12,83 %) citronelol izobutanoat (12,99–25,76 %) eudezm-5-en-11-ol (1,92– 8,14 %)	subsp. <i>italicum</i> / Korzika	Tzanova idr. (2018)
Italija (Sardinija)	1. Obalni genotipi: neril acetat (33,1– 83,4 %) limonen (0–15,7 %) eudezm-7-(11)-en-4-ol (0–32,1 %) γ-kurkumen (0–4,4 %) neril propionate (0–14,1 %) 2. Gorski genotipi: neril acetat (1,1–56,9 %) limonen (0–8,6 %) eudezm-7-(11)-en-4-ol 0–(46,1 %) γ-kurkumen (1,4–10,6 %) neril propionat (0–12,5 %)	subsp. <i>microphyllum</i> */ Sardinija	Melito idr. (2016)

Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Italija (Sardinija)	γ -kurkumen (11,08–28,94 %) linalol (11–14 %) eudezm-5-en-11-ol (7–9,8 %) limonen (1,1–7,3 %) 4,6-dimetiloktan-3,5-dion (0,9–1,6 %) neril-acetat (0–33,6 %) α -pinen (0,25–0,42 %) α -cedren (0,14–4,17 %)	subsp. <i>tyrrhenicum</i> / Sardinija	Juliano idr. (2019)
Italija (Elba)	limonen (1,2–7,7 %) nerol (3–12,8 %) neril acetat (6,7–45,9 %) neril propanoat (2,7–7,7 %) γ -kurkumen (1,7–5,9 %) eudezm-5-en-11-ol (1,8–17,2 %) α -pinen (1–32,9 %)	subsp. <i>italicum</i> /Elba	Leonardi idr. (2013)
Italija (Toskana) Francija (Korzika)	1. Toskanski vzorci: α -pinen (4,1–53,5 %) limonen (2,0–10,7 %) neril acetat (0,3–22 %) neril propionat (0,3–5,8 %) β -kariofilen (5,7–11 %) γ -kurkumen (1,4–4,9 %) β -selinen (7,2–12,5 %) eudezm-5-en-11-ol (0–6,6 %) 2. Korziški vzorci: α -pinen (0,8–1,4 %) limonen (2,6–4,7 %) neril acetat (33,7–38,9 %) neril propionat (3,4–5,9 %) γ -kurkumen (3,9–13,6 %) eudezm-5-en-11-ol (2,8–6,1 %)	subsp. <i>italicum</i> / Toskana, Korzika	Bianchini idr. (2003)
Francija (Korzika)	limonen (5,1–7,3 %), neril acetat (34,5–42,5 %) neril propionat (4,8–6,7 %) eudezm-5-en-11-ol (0,8–5,1 %) ar-kurkumen (2,3–4,6 %) γ -kurkumen (5,1–12,9 %) 4,6,9-trimetildec-8-en-3,5 dion (3,7–4,5 %) nerol (2,6–3,4 %) italicen (2,4–3,4 %) α -pinen (0,7–2,9 %)	subsp. <i>italicum</i> / Korzika	Bianchini idr. (2001)

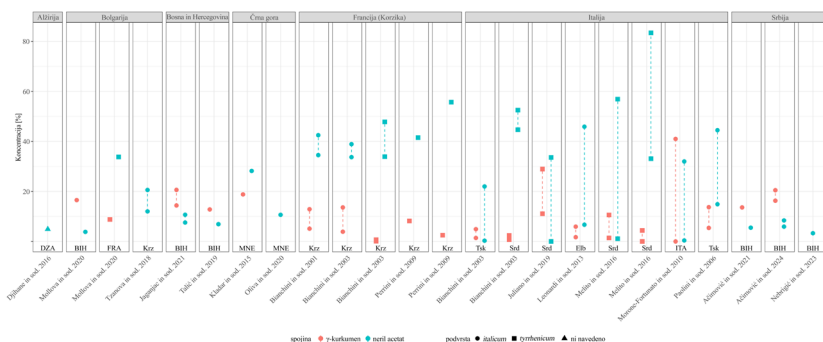
Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Država	Vodilne spojine	Podvrsta/izvor rastlin	Avtorji raziskave
Italija (Toskana, arhipelag)	nerol (1,4–7,6 %), neril acetat (14,9–44,5 %), neril propionat (3–16,4 %), 4,6,9-trimetildec-8-en-3,5-dion (0,3–19,8 %), 2,4,6,9-tetrametildec-8-en-3,5- dion (0,6–6,2 %), 2,4,6,9-tetrametildec-8-en-3,5- dion (0,4–8 %), eudezm-5-en-11-ol (1,1– 7,6 %), γ -kurkumen (5,4–13,7 %), α -pinen (0,1–8,6 %), limonen (0,2–10,4 %),	subsp. <i>italicum</i> / Toskana, arhipelag	Paolini idr. (2006)
Italija	Različni genotipi: neril acetat (0,4–32 %), β -kariofilen (0–18,6 %), γ -kurkumen (0–41 %), β -selinen (2,3–28 %), 4, 6, 9-trimetildec-8-en-3,5- dion (5,5–11,0 %), 5, 7, 10-trimetilundec-9-en-4, 6-dion (2,6–6,9 %), 4, 6-dimetiloktan-3, 5-dion (0,2–2,4 %) α -pinen (0–3,6 %)	subsp. <i>italicum</i> /Italija	Morone-Fortunato idr. (2010)
Alžirija	α -cedren (13,61 %) α -kurkumen (11,41 %) geranil acetat (10,05 %) limonen (6,07 %) nerol (5,04 %) neril acetat (4,91 %) α -pinen (3,78 %)	ni določena/Alžirija	Djihane idr. (2017)

omenja vsebnost monoterpena neril acetata, ki je pomembna sestavina kozmetičnih produktov. Zaželeno je, da je le-ta zastopan z več kot 30 % (Tzanova idr. 2018). Nerol in njegovi estri so značilni za genotipe laškega smilja podvrste *microphyllum* (kasneje klasificirana kot podvrsta *tyrrhenicum*), kjer dosežejo 40–50 % vseh komponent v eteričnem olju (Morone-Fortunato idr. 2010). Visoka vsebnost neril acetata je značilna za eterična olja s Korzike in Sardinije. V Bolgariji, kjer ravno tako gojijo korziški smilj, so detektirali med 12,02 do 20,60 % neril aceteta, zato Milena Tzanova idr. (2018) menijo, da je vsebnost te spojine povezana s talnimi in podnebnimi dejavniki ter fenološko fazo. V Sloveniji je korziški smilj

Bioaktivne spojine hidrolata in eteričnega olja laškega smilja



Slika 2 Vsebnost (%) spojin neril acetata in γ -kurkumena glede na geografsko območje in podvrsto laškega smilja po posameznih raziskavah. Oznake območij vzorčenja laškega smilja: DZA (Alžirija), BIH (Bosna in Hercegovina), FRA (Francija), Krz (Korzika), MNE (Črna gora), Tsk (Toskana), Elb (Elba), Srd (Sardinija), ITA (Italija)

v kolekcijskem nasadu UP FAMNIT dosegel zavidljivo visoko vsebnost nerila acetata (40–70 %), kar nakazuje vpliv genotipa na sintezo te spojine. Pregled vsebnosti neril acetata v eteričnem olju glede na geografsko lokacijo in podvrsto laškega smilja je predstavljen na sliki 2.

Zelo zaželeni spojin so tudi β -diketoni, ker imajo pomembno antioksidativno sposobnost in so odgovorni za protivnetno delovanje. Višjo vsebnost β -diketonov (italidionov) so Irene Morone-Fortunato idr. (2010) odkrili pri podvrsti *italicum* in menijo, da imajo genotipi z višjo koncentracijo seskviterpenov običajno nižjo vsebnost β -diketonov.

Irene Morone-Fortunato idr. (2010) poudarjajo, da raznolikost kemijskih profilov eteričnega olja usmerja nadaljno uporabo. Nerol in njegovi derivati se, denimo, uporabljajo v kozmetiki zaradi sladkega, rožnatega vonja. Med njimi je pomemben neril acetat, ki ga zaznamuje značilen vonj, ki spominja na pomarančo in vrtnico. Pinen ima svež vonj iglavcev, limonen diši po limoni. Kurkumen se zaradi značilnega zeliščnega vonja, ki spominja na kari, uporablja v živilski industriji (Tzanova idr. 2018). Alfa in β -selinen, prav tako seskviterpena, sta uporabna kot feromona zaradi sladko-lesnega in zeliščnega vonja.

Kemijska sestava eteričnih olj se lahko zelo spreminja glede na vrsto rastline, rastlinski organ, geografsko lego, podnebje, čas nabiranja. Ti dejavniki vplivajo na sestavo eteričnega olja, njegovo aromo in druge lastnosti (Siddiqui idr. 2024). V nadaljevanju bomo podrobneje opisali vpliv

omenjenih dejavnikov na biokemijsko sestavo in kakovost eteričnega olja laškega smilja.

Dejavniki, ki vplivajo na biokemijsko sestavo in kakovost eteričnega olja

Na kemijsko sestavo ali kemotip in na vsebnost posameznih biološko aktivnih spojin eteričnega olja vplivajo genetska osnova rastlin, različni okoljski dejavniki (tla, nadmorska višina, podnebne razmere, padavine) ter načini pridelave in predelave rastlinskega materiala (Maksimovic idr. 2017). Na sestavo eteričnega olja laškega smilja pa poleg genetske osnove ter okoljskih dejavnikov vplivajo tudi termin in način žetve, priprava rastlinskega materiala na destilacijo, način destilacije in pogoji med njo. Ti dejavniki vplivajo tudi na aromo in biološke učinke eteričnega olja (Siddiqui idr. 2024).

Genetika

Sara Melito idr. (2013) poročajo o vplivu genetike na raznolikost kemotipov, ki so jo odkrili pri preučevanju 50 populacij na Sardiniji s primerjavo presnovkov v eteričnem olju in z analizo označevalcev AFLP. Pri devetih spojinah (kariofilen, eudezm-5-en-11-ol, neril propionat, nerolidol, neril acetat, cis- β -gvajen, trans- β -gvajen, α -kadinen, γ -terpinen) so odkrili korelacijo z genetsko skupino. Povezavo med genetsko različnimi rastlinami (analiza z označevalci AFLP) ter kemotipom so raziskovali tudi Irene Morone-Fortunato idr. (2010) v Italiji in zaključili, da obstajajo najmanj tri različne skupine:

1. genotipi, bogati z neroli in njihovimi estri,
2. genotipi, kjer prevladujeta β - in α -selinen,
3. genotipi s prevlado γ -kurkumena.

Poudarjajo tudi, da ločevanje in razmejitev podvrst laškega smilja zgolj na osnovi kemijske sestave eteričnega olja ni primerna, saj se določene kemijske spojine pojavljajo v višjih koncentracijah v različnih podvrstah. Npr., nerol in neril acetat se pojavljata v subsp. *italicum* in subsp. *tyrrhenicum*.

Nadmorska višina, podnebne razmere in tla

Raziskava laškega smilja podvrste *microphyllum* (po novejši klasifikaciji *thyrrenicum*) na Sardiniji (Melito idr., 2016) je pokazala statistično značilno razliko v sestavi hlapnih spojin eteričnega olja glede na gorski ali obalni habitat, vendar avtorji poudarjajo, da za kemijsko sestavo

eteričnega olja ni odgovorno zgolj rastišče. Ugotovili so tudi, da je nerolidol pozitivno povezan s povprečno zimsko temperaturo, medtem ko na vsebnost italicena, bergamotena, nerola in kurkumena pozitivno vplivajo spomladanske in poletne padavine. Primerjava biokemijske sestave eteričnega olja glede na nadmorsko višino je pokazala, da gre v primeru italicena, γ -kurkumena, ar-kurkumena, nerola in geraniola za pozitivno korelacijo, medtem ko je bila pri limonenu, kariofilenu, nerolidolu in cis- β -gvajenu opažena negativna korelacija z nadmorsko višino. Sara Melito idr. (2016) menijo, da podnebje vpliva predvsem na seskviterpene in da je njihova koncentracija manj odvisna od temperature. Sanja Čavar Željko idr. (2015) pa so pri preučevanju hrvaškega laškega smilja ugotovile, da imajo več oksigeniranih spojin rastline višjih nadmorskih višin z močnejšim sončnim sevanjem, medtem ko je skupina monoterpenov pokazala ravno obraten trend.

Vpliv podnebja so potrdili tudi Milica Aćimović idr. (2024) v Srbiji. Ugotovili so, da so v eteričnem olju α -pinen, neril acetat in italicen pozitivno povezani s temperaturo ter negativno s padavinami, enako tudi β -diketoni in skupni italidioni. Trans-kariofilen, γ -kurkumen in ar-kurkumen so bili negativno povezani s temperaturo, rahlo pozitivno korelacijo pa so zaznali s padavinami. Po njihovem mnenju korziški tip eteričnega olja, bogat z neril acetatom, prevladuje v območjih s toplimi in deževnimi zimami ter z vročimi in sušnimi poletji (sredozemsko podnebje), medtem ko se balkanski tip, bogat z γ - in ar-kurkumenom, pojavlja v območjih z vročimi poletji, manj deževnimi jesenmi ter mrzlimi zimami (celinsko podnebje). Ange Bianchini idr. (2009) so preučevali povezave med biokemijsko sestavo eteričnega olja in karakteristikami tal (anorganska sestava, tekstura, kislost) ter ugotovili korelacijo s teksturo in kislostjo tal.

Geografski izvor

Povzetek razlikovanja eteričnih olj laškega smilja glede na geografski izvor so nazorno povzeli Tonka Ninčević idr. (2019). V korziškem eteričnem olju prevladujejo oksigenirane spojine (neril acetat, neril propanoat, alifatski ketoni in β -diketoni) in nizke vsebnosti ogljikovodikov (limonen, γ -kurkumen, α -kurkumen). V eteričnih oljih iz držav bivše Jugoslavije prevladujejo α -pinen (22 %), γ -kurkumen (10 %), β -selinen (6 %), neril acetat (6 %), β -kariofilen (5 %), na obali Jadranskega morja pa sta najpogostejši komponenti α -pinen (25-30%) in neril acetat (4-14 %). V grških eteričnih oljih je najpogostejša spojina geraniol (36 %), sledita geranil acetat (15 %) in nerolidol (12 %), toskanska eterična olja pa so

bogata z α -pinenom (33-39 %), neril acetatom (10-22 %), seskviterpenski ogljikovodiki (23-39 %) ter z β -selinenom, α -selinenom in β -kariofilenom. Milica Aćimović idr. (2024) poročajo še o γ -kurkumen kemotipu, v katerem je ta spojina zastopana v več kot 15 % in se kot dominantna pojavlja v eteričnih oljih Hrvaške, Srbije, Bosne in Hercegovine, Črne gore, Bolgarije ter tudi Italije, Francije, Portugalske, ZDA. Pregled vsebnosti γ -kurkumena v eteričnem olju glede na geografsko lokacijo in podvrsto laškega smilja je predstavljen na sliki 2.

Čas in način žetve

Ange Bianchini idr. (2001) so ugotovili, da eterično olje, pridobljeno iz prvih vegetativnih poganjkov v začetku vegetacije, vsebuje višje koncentracije treh neterpenskimi ketonov (pentan-3-on, 2-metilpentan-3-on, 4-metilheksan-3-on) in dveh β -diketonov (3,5-dimetilheptan-2,4-dion, 4,6-dimetiloktan-3,5-dion) ter nižje koncentracije neril acetata, neril propanoata, γ -kurkumena, 4,6,9-trimetildec-8-en-3,5-diona. Sestavo eteričnega olja v odvisnosti od časa žetve so raziskovali tudi v Bosni in Hercegovini, kjer so prvo žetev opravili v februarju, nato v maju, juniju, avgustu in oktobru. Stanislava Talić idr. (2019) so ugotovili, da se po cvetenju značilno zniža koncentracija limonena, α -, β -, in γ -selinena, γ -kurkumena in neril acetata, poveča pa se vsebnost estrov. Vsebnost β -diketonov je bila najvišja februarja, ko je dosegala celo 31,9 %, nato pa se je zniževala do 11 % v mesecu oktobru. Ana Matin idr. (2021) so na Hrvaškem preučevali pridelke in kemijsko sestavo eteričnega olja julijske ter oktobrske žetve. Ugotovili so večji izplen eteričnega olja v poletni žetvi, in sicer $0,19 \% \pm 0,01$, v jesenski pa $0,16 \% \pm 0,04$. Pri primerjavi obdobja žetve so v jeseni pridobljenem eteričnem olju odkrili višjo koncentracijo α -pinena, linalola in nerola ter italidionov, večjo vsebnost neril acetata in γ -kurkumena pa so detektirali pri poletni žetvi. Večina raziskav kaže, da v zgodnjih stadijih razvoja rastline prevladujejo monoterpeni, medtem ko so seskviterpeni prisotni med in po cvetenju. Slednji so tudi manj občutljivi na temperaturne spremembe, zato so v poletnih mesecih prisotni v višjih koncentracijah (Jažo idr. 2022).

Na kemijsko sestavo eteričnega olja vpliva tudi način žetve (ročno ali strojno) (Giannakoula idr. 2024). V eteričnem olju strojno obranega laškega smilja so ugotovili višjo vsebnost γ -kurkumena, pri ročno obranem pa višjo vsebnost α -pinena in neril acetata. Pri strojnem obiranju se najverjetneje zaradi večjih poškodb rastlinskih tkiv tvorijo škodljive reaktivne kisikove spojine, ki povzročajo peroksidacijo lipidnih membran v

rastlinskih celicah. Na splošno imajo boljše kakovostne lastnosti eterična olja laškega smilja, pridobljena z ročnim nabiranjem.

Sušenje

Tudi proces sušenja požetega laškega smilja lahko vpliva na sestavo eteričnega olja ter posledično na antioksidativno in encimsko delovanje. Vladislava Nebrigić idr. (2023) so preučevali sestavine v eteričnem olju, pridobljenem iz sveže rastlinske mase, iz naravno sušenega in liofiliziranega laškega smilja. Raziskava je pokazala, da sušenje zniža koncentracije monoterpenov (npr. α -pinen: 29,77 % svež/2,43 % sušen/10,46 % liofiliziran) in poviša vsebnost seskviterpenov v eteričnem olju, hkrati se s sušenjem zniža tudi antioksidativna aktivnost.

Način in trajanje destilacije

Sestava eteričnega olja je odvisna tudi od trajanja in pogojev destilacije rastlinskega materiala. Petrović idr. (2024) so raziskovali kemijsko sestavo eteričnega olja v odvisnosti od dolžine industrijske parne destilacije hrvaškega laškega smilja v 15-minutnih intervalih. Kemijska analiza je bila osredotočena na določene hlapne spojine – monoterpeni in seskviterpeni. Ugotovili so, da se vsebnost bolj hlapnih, monoterpenskih spojin (α -pinena in limonena) z dolžino destilacije zmanjšuje. Pri α -pinenu se je vsebnost v intervalu 30 minut od začetne destilacije do 120 minut znižala s 25,90 na 6,61 %, limonena pa s prvotnih 4,55 na 1,52 %. Tudi vsebnost neril acetata se je z dolžino destilacije zniževala, s prvotnih 7,33 na 5,69 %. Obraten trend je bil opažen pri seskviterpenih in seskviterpenskih oksidih, ki veljajo za manj hlapne spojine; vsebnost γ -kurkumena se je, denimo, s prvotnih 14,55 zvišala na 18,81 %. Rezultati raziskave kažejo na pomembnost dolžine destilacije. Pričakovati je, da se bo vsebnost monoterpenov in angelata med destilacijo zniževala, vsebnost seskviterpenov in seskviterpenskih oksidov pa proti koncu destilacije zviševala. Raziskovalci menijo, da je s krajšim časom destilacije možno pridobiti eterično olje, ki je bogatejše z monoterpeni in zato primernejše za parfumsko ter kozmetično industrijo.

Jažo idr. (2022) so primerjali tri metode destilacije: vodno, parno in destilacijo, podprto z mikrovalovi. Za slednjo je značilno, da mikrovalovna energija med hidrodestilacijo znatno skrajša čas ekstrakcije in zniža stroške energije. Optimiziranje moči in trajanja izpostavljenosti mikrovalovom naj bi izboljšalo kakovost eteričnega olja ter izkoristek. Raziskovalci poročajo, da je s parno destilacijo moč pridobiti eterična olja,

bogata z necikličnimi spojinami z najvišjimi koncentracijami ketonov. Z destilacijo, podprto z mikrovalovi, pa se pridobi eterična olja s spojinami s kompleksno strukturo. Vodna destilacija daje vmesne rezultate glede funkcionalnih skupin in strukturne kompleksnosti izoliranih spojin, kar je najverjetneje posledica transformiranja spojin. Razlike so bile tudi v izkoristku; z vodno paro je bil izplen najvišji (0,31 %), sledila je destilacija, podprta z mikrovalovi (0,15 %), in nazadnje parna destilacija (0,12 %). Te raziskave dokazujejo, kako pomembno vlogo ima izbira metode ekstrakcije v praksi.

Bioaktivne spojine v hidrolatu laškega smilja

Hidrolati so stranski produkti destilacije in so posledično sestavljeni pretežno iz vode, ki je kondenzirala med procesom destilacije, v kateri pa so tudi raztopljene majhne količine eteričnega olja (navadno manj kot 1 g/L), odtod tudi ime aromatična voda. V nasprotju z eteričnimi olji gre za manj koncentrirane izvlečke z blago aromo, ki ob stiku s kožo ne povzročajo kontaktnega dermatitisa ali glavobola ob vdihovanju, zato se jih kot take lahko uporablja neposredno na koži ali tudi zaužije. Kljub široki uporabi pa njihova kemijska sestava in lastnosti niso dobro raziskane (Jakubczyk idr. 2021). V splošnem je v hidrolatih pričakovati polarne, oksigenirane, hidrofilne, aromatične sestavine eteričnega olja, ki z vodo tvorijo vodikove vezi. Hidrolati, pridobljeni na začetku in v zadnjem delu destilacije, se razlikujejo po vonju in kemični sestavi. To je posledica vsebnosti različnih terpenoidov z nizkim in visokim vreliščem. Aromatski profil hidrolatov se lahko bistveno razlikuje od profila eteričnega olja, ker v njih ni prisotnih veliko hidrofobnih, v vodi netopnih izoprenoidnih spojin (Rao 2013). V znanstveni skupnosti so hidrolati opredeljeni kot odpadni produkti parne destilacije. V zadnjem času so jih številni raziskovalci ponovno preučili in analizirali njihovo biološko delovanje, predvsem protimikrobno in protiglivično sposobnost (D'Amato idr. 2018).

V primerjavi z eteričnim oljem so objavljene kemijske karakterizacije in raziskave hidrolatov laškega smilja izjemno redke. Ferraz idr. (2022) so v hidrolatu laškega smilja s Portugalske identificirali sedem bioaktivnih spojin iz razreda monoterpenov, in sicer: α -terpineol, 1,8-cineol, endo-borneol, terpinen-4-ol, δ -terpineol, α -terpineol in karvakrol. V Sloveniji so bili analizirani vzorci hidrolata eno- in dvoletnih rastlin laškega smilja, ki jih združujejo na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, ter treh hrvaških populacij (Kunc idr. 2022). Prevladujoče kemijske spojine v slovenskih vzorcih so bile pentan-3-on, 3-oktanon,

2,2-dimetilnon-5-en-3-on ter α -terpineol, v hrvaških pa 2,6-oktadien-1-ol, 2,2-dimetilnon-5-en-3-on in α -terpineol. Zastopanost posameznih spojin se je prav tako nekoliko razlikovala med vzorci eno- in dvoletnih rastlin. Pri enoletnih rastlinah so bile najbolj zastopane spojine: 2,2-dimetilnon-5-en-3-on (13,1 %), 3-oktanon (12,3 %), pentan-3-on (10,1 %), α -terpineol (9,1 %) in 3-ciklopenten-1-etanol (8,6 %). V obeh analiziranih vzorcih so se pojavljale štiri prevladujoče bioaktivne spojine, ki so bile pri enoletnih rastlinah v višjih koncentracijah. Najbolj zastopane spojine v dvoletnih rastlinah so bile 2,2-dimetilnon-5-en-3-on (8,9 %), 3-oktanon (8,0 %), α -terpineol (7,7 %), 2,6-oktadien-1-ol (7,4 %) in pentan-3-on (7,43 %). Vseh identificiranih spojin je bilo skupno 19 pri enoletnih in 21 pri dvoletnih rastlinah. V Turčiji so Erbaş idr. (2023) primerjali hidrolate ekotipov laškega smilja iz Bosne in Hercegovine ter s Korzike. V bosanskem hidrolatu je bila najbolj zastopana spojina β -himahalen (20,9 %), sledila sta ji ar-kurkumen (13,6 %) in neril acetat (13,0 %). V korziškem hidrolatu pa prevladuje nerol (23,7 %), sledita mu β -fenhil alkohol (18,4 %) in neril acetat (10,8 %). Milica Aćimović idr. (2024) pa v hidrolatih laškega smilja, pridelanega v Srbiji, poročajo o višji vsebnosti skupnih β -diketonov – italidiona I (vsota vseh izomer od 18,7 do 27,8 %) in 4,6-dimetiloktan-3,5-diona (vsota vseh izomer med 8,6 in 13,9 %). Skupno so v hidrolatu potrdili 20 β -diketonov in njihovih izomerov (med 29,7 in 46,4 %). Med njimi je bilo 15 italidionov (med 19,2 % in 29,1 %). Ugotovili so tudi, da so tako skupni β -diketoni kot tudi skupni italidioni močno negativno povezani s temperaturami ter pozitivno povezani s padavinami, kar je ravno nasprotno ugotovitvam pri eteričnem olju. β -diketoni so dragocene spojine z dobrim antioksidativnim potencialom, delujejo proti raku in mikroorganizmom, zato je njihova uporaba pri zdravljenju precej razširjena. Te spojine so prisotne v številnih rastlinah, npr. v ingverju, kurkumi, šentjanževki. Italidioni, skupina izomerov β -diketonov, pa so bili odkriti samo pri laškemu smilju. Te spojine so dobro topne v vodi, zato je pričakovati njihove višje koncentracije v hidrolatu (Aćimović idr. 2024). Avtorji poudarjajo, da raznolikost v vsebnosti biološko aktivnih molekul italidionov omogoča široko in različno uporabo hidrolatov v kozmetičnih formulacijah ter pri zdravljenju vnetij. Milica Aćimović idr. (2024) so mnenja, da na kemijsko sestavo hidrolata močno vpliva sestava eteričnega olja. Na sestavo hidrolata med drugim vpliva tudi način priprave vzorca za analizo (npr. neposredna analiza ali predhodna ekstrakcija z organskimi topili). Nina Kunc idr. (2022) so na tak način v vzorcih hidrolata slovenskega laškega smilja določili

še prisotnost 1,8-cineola (31,5–55,5 %), α -terpineola (12,9–16,6 %), terpinen-4-ol (13,6–15,1 %), linalool (8,4–11,2 %), eugenol (2,6–4,7 %) in 4,6,9-trimetil-8-decen-3,5-dion (2,7–4,4 %).

Viri

- Ćimović, M., J. Ljujić, J. Vulić idr. 2021. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil from Serbia: Chemical Composition, Classification and Biological Activity-May It Be a Suitable New Crop for Serbia?« *Agronomy* 11 (7): 1282.
- Ćimović, M., J. Stanković Jeremić, M. Todosijević idr. 2024 »The Influence of Weather Conditions on the Immortelle Volatile Constituents from Essential Oil and Hydrosol with a Focus on Italicones and Its Molecular Docking Anti-Inflammatory Potential.« *Natural Product Communications* 19 (9). <https://doi.org/10.1177/1934578X24128473>.
- Andreani, S., A. Uehara, P. Blagojević, N. Radulović, A. Muselli in N. Baldovini. 2019. »Key Odorants of Industrially-Produced *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* Essential Oil.« *Industrial Crops and Products* 132: 275–282.
- Appendino, G., O. Tagliabue-Scafati, A. Minassi, F. Pollastro, M. Ballero in A. Maxia. 2015. »*Helichrysum italicum*: The Sleeping Giant of Mediterranean Herbal Medicine.« *HerbalGram* 105:36–47.
- Bianchini, A., P. Tomi, J. Costa in A.-F. Bernardini. 2001. »Composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. subsp. *italicum* Essential Oils from Corsica (France).« *Flavour and Fragrance Journal* 16 (1): 30–34.
- Bianchini, A., F. Santoni, J. Paolini, A.-F. Bernardini, D. Mouillot in J. Costa. 2009. »Partitioning the Relative Contributions of Inorganic Plant Composition and Soil Characteristics to the Quality of *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* (Roth) G. Don fil. Essential Oil. « *Chemistry and Biodiversity* 6 (7): 1014–1033.
- Bianchini, A., P. Tomi, A.-F. Bernardini idr. 2003. »A Comparative Study of Volatile Constituents of Two *Helichrysum italicum* (Roth) Guss. Don Fil Subspecies Growing in Corsica (France), Tuscany and Sardinia (Italy).« *Flavour and Fragrance Journal* 18 (6): 487–491.
- Charles, D. J., in J. E. Simon. 1991. »Volatile Compounds of the Curry Plant.« *HortScience* 26 (1): 69–70.
- Cheng, A.-X., Y.-G. Lou, Y.-B. Mao, S. Lu, L.-J. Wang in X.-Y. Chen. 2007. »Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions.« *Journal of Integrative Plant Biology* 49 (2): 179–186.
- Čavar Željko, S., Šolić M. E. in M. Maksimović. 2015 »Volatiles of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don from Croatia.« *Natural Product Research* 29 (19): 1874–1877.

- D'Amato, S., A. Serio, C. Chaves López in A Paparella. 2018. »Hydrosols: Biological Activity and Potential as Antimicrobials for Food Applications.« *Food Control* 86:126–137.
- Dhifi, W., S. Bellili, S. Jazi, N. Bahloul in W. Mnif. 2016. »Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review.« *Medicines* 3 (4): 25.
- Djihane, B., N. Wafa, S. Elkhamsa, H. J. Pedro, A. E. Maria in Z. Mohamed Mihoub. 2017. »Chemical Constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil and Their Antimicrobial Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria, Filamentous Fungi and *Candida albicans*.« *Saudi Pharmaceutical Journal* 25 (5): 780–787.
- Durczyńska, Z., in G. Żukowska. 2024. »Properties and Applications of Essential Oils: A Review.« *Journal of Ecological Engineering* 25 (2): 333–340.
- Džananović Jaganjac, J., Z. Ademović, B. Šarić Kundalić in E. Horozić. 2021. »Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. Essential Oil from Bosnia and Herzegovina.« *Technologica Acta* 14 (1): 21–26.
- Erbaş, S., M. Mutlucan in Ü. Erdoğan. 2023. »The Scent Compounds of Immortelle Ecotypes (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don.) Grown in Türkiye and Its New Products (Absolute and Concrete).« *South African Journal of Botany* 158:301–311.
- Ferraz, C. A., A. C. A. Sousa, D. Caramelo, F. Delgado, A. P de Oliveira in M. Ramiro Pastorinho. 2022. »Chemical Profile and Eco-Safety Evaluation of Essential Oils and Hydrolates from *Cistus ladanifer*, *Helichrysum italicum*, *Ocimum basilicum* and *Thymbra capitata*.« *Industrial Crops and Products* 175:114232.
- Giannakoula, A. E., C. Dimitriadis in V. Garitsis. 2024. »The Impact of Harvesting Method and Harvesting Month on the Quality of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. Essential Oils and Oxidative Stress.« *International Journal of Environmental Studies* 81 (5): 2107–2116.
- Holstein, S. A., in R. J. Hohl. 2004. »Isoprenoids: Remarkable Diversity of Form and Function.« *Lipids* 39 (4): 293–309.
- Jakubczyk, K., A. Tuchowska in K. Janda-Milczarek. 2021. »Plant hydrolates –Antioxidant Properties, Chemical Composition and Potential Applications.« *Biomedicine and Pharmacotherapy* 142:112033.
- Jažo, Z., M. Glumac, I. Drventić idr. 2022. »The Essential Oil Composition of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Influence of Steam, Hydro and Microwave-Assisted Distillation.« *Separations* 9 (10): 280.
- Jeong, A., K. F. Suazo, W. G. Wood, M. D. Distefano in L. Li. 2018. »Isoprenoids and Protein Prenylation: Implications in the Pathogenesis and

- Therapeutic Intervention of Alzheimer's disease.« *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 53 (3): 279–310.
- Juliano, C., M. Marchetti, P. Campagna in M. Usai. 2019. »Antimicrobial Activity and Chemical Composition of from *Helichrysum microphyllum* Cambess. subsp. *tyrrhenicum* Bacch., Brullo & Giusso collected in South-West Sardinia.« *Saudi Journal of Biological Sciences* 26 (5): 897–905.
- Kladar, N. V., G. T. Anačkov, M. M. Rat idr. 2015. »Biochemical Characterization of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum* (Asteraceae) from Montenegro: Phytochemical Screening, Chemotaxonomy, and Antioxidant Properties.« *Chemistry and Biodiversity* 12 (3): 419–431.
- Kunc, N., A. Frlan, D. Baričević, N. Kočevar Glavač in M. Kokalj Ladan. 2022. »Essential Oil and Hydrosol Composition of Immortelle (*Helichrysum italicum*).« *Plants* 11 (19): 2573.
- Leonardi, M., K. E. Ambryszewska, B. Melai idr. 2013. »Essential-oil Composition of *Helichrysum italicum* (ROTH) G. Don ssp. *italicum* from Elba Island (Tuscany, Italy).« *Chemistry and Biodiversity* 10 (3): 343–355.
- Maksimovic, S., V. Tadic, D. Skala in I. Zizovic. 2017. »Separation of Phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An Analysis of Different Isolation Techniques and Biological Activity of Prepared Extracts.« *Phytochemistry* 138:9–38.
- Matin, A., I. Pavkov, M. Grubor idr. 2021. »Influence of Harvest Time, Method of Preparation and Method of Distillation on the Qualitative Properties of Organically Grown and Wild *Helichrysum italicum* Immortelle Essential Oil.« *Separations* 8 (10): 167.
- Melito, S., A. Sias, G. L. Petretto, M. Chessa, G. Pintore in A. Porceddu. 2013. »Genetic and Metabolite Diversity of Sardinian Populations of *Helichrysum italicum*.« *PLoS One* 8 (11): e79043.
- Melito, S., G. L. Petretto, J. Podani idr. 2016. »Altitude and Climate Influence *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* Essential Oils Composition.« *Industrial Crops and Products* 80:242–250.
- Mollova, S., H. Fidan, D. Antonova idr. 2020. »Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Subspecies Essential Oils. « *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 44 (4): 371–378.
- Morone-Fortunato, I., C. Montemurro, C. Ruta idr. 2010. »Essential Oils, Genetic Relationships and in vitro Establishment of *Helichrysum Italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* from Wild Mediterranean Germplasm.« *Industrial Crops and Products* 32 (3): 639–649.
- Nebrigić, V., M. Terzić, S. Đurović idr. 2023. »Influence of Drying Process on Chemical Composition, Antioxidant and Enzyme-Inhibitory Activity of

- Helichrysum italicum* Essential Oils.« *Journal of Herbal Medicine* 40 (1): 100680.
- Ninčević, T., M. Grdiša, Z. Šatović in M. Jug-Dujaković. 2019. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Taxonomy, Biological Activity, Biochemical and Genetic Diversity.« *Industrial Crops and Products* 138:111487.
- Oliva, A., S. Garzoli, M. Sabatino idr. 2020. »Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil. (Asteraceae) from Montenegro.« *Natural Product Research* 34 (3): 445–448.
- Paolini, J., J.-M. Desjobert, J. Costa idr. 2006. »Composition of Essential Oils of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil subsp. *italicum* from Tuscan Archipelago Islands.« *Flavour and Fragrance Journal* 21 (5): 805–808.
- Perrini, R., I. Morone-Fortunato, E. Lorusso in P. Avato. 2009. »Glands, Essential Oils and *in vitro* Establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nyman.« *Industrial Crops and Products* 29 (2–3): 395–403.
- Petrović, M., V. Petrović, Z. Mlinar idr. 2024. »Duration of Steam Distillation Affects Essential Oil Fractions in Immortelle (*Helichrysum italicum*).« *Horticulturae* 10 (2): 183.
- Rao, B. R. R. 2013. »Hydrosols and Water-Soluble Essential Oils: Medicinal and Biological Properties.« *V Recent Progress in Medicinal Plants Essential Oils*, uredila J. N. Govil in S. Bhattacharya, zv. 36, *Essential Oils I*. Studium Press.
- Siddiqui, T., M. Umar Khan, V. Sharma in K. Gupta. 2024. »Terpenoids in Essential Oils: Chemistry, Classification, and Potential Impact on Human Health and Industry.« *Phytomedicine Plus* 4 (2): 100549.
- Talić, S., L. Odak, A. Martinović Bevanda, N. Crnjac in M. Paštar. 2019. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum* from Herzegovina: Volatile Composition, Variations During Seasons, Total Polyphenols, Acetylcho-Linesterase Inhibition and Antioxidant Activity.« *Croatica Chemica Acta* 92 (1): 69–77.
- Tzanova, M., N. Grozeva, M. Gerdzhikova, V. Atanasov, S. Terzieva in R. Prodanova. 2018. »Biochemical Composition of Essential Oil of Corsican *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, Introduced and Cultivated in South Bulgaria.« *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 24 (6): 1071–1077.

Sklop 3

Biološki učinki laškega smilja

**10 Biološka dostopnost in uporabnost zaužitih
fenolnih spojin v laškem smilju • 163**

Zala Jenko Pražnikar in Ana Petelin

11 Antioksidativno in protivnetno delovanje laškega smilja • 181

Saša Kenig in Zala Jenko Pražnikar

12 Interakcije laškega smilja z mikroorganizmi • 199

Katja Kranjc in Karin Šik Novak

13 Učinki laškega smilja na presnovo • 215

Zala Jenko Pražnikar in Ana Petelin

14 Uporaba laškega smilja v dermatologiji • 227

Saša Kenig

10

Biološka dostopnost in uporabnost zaužitih fenolnih spojin v laškem smilju

Zala Jenko Pražnikar

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*

Ana Petelin

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Zala Jenko Pražnikar in Ana Petelin

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.10>

Uvod

Izsledki znanstvenih in strokovnih člankov kažejo na pozitivno povezavo med vnosom fenolnih spojin in znižanim tveganjem za razvoj različnih kroničnih nenalezljivih obolenj, kot so sladkorna bolezen tipa 2, različna srčno-žilna obolenja, določena rakava in druga obolenja (Konic Ristic idr. 2015). A treba je poudariti, da je učinkovitost fenolnih spojin povezana z njihovo biološko uporabnostjo in/ali s tvorbo njihovih presnovkov (Del Rio idr. 2013). Da bi lahko ocenili učinkovitost fenolnih spojin pri preprečevanju bolezni in izboljšanju zdravja pri ljudeh, je treba razumeti in poznati presnovno pot posamezne fenolne spojine od zaužitja do sekrecije presnovkov. Ker biološka uporabnost bioaktivnih spojin, izoliranih iz laškega smilja, ni bila pogosto predmet raziskav, bo v pričujočem poglavju obravnavana tudi biološka uporabnost fenolnih spojin, izoliranih iz drugih rastlinskih izvlečkov.

V splošnem je biološka uporabnost fenolov odvisna od količine bioaktivne spojine, ki se sprosti v prebavnem sistemu (od biološke dostopnosti), od same presnove bioaktivne spojine (biotransformacije) in od učinkovitosti absorpcije preko črevesnih celic oz. enterocitov (Lingua idr. 2018). A treba se je zavedati, da preden fenolne spojine dosežejo krvno-žilni

sistem, interagirajo s številnimi makro- in mikromolekulami v lumnu črevesnega trakta, v enterocitih, krvnem obtoku in kasneje tudi jetrnih celicah. Poleg tega so v interakciji še z drugimi sočasno zaužitimi hranili, s prebavnimi encimi in prenašalnimi molekulami. Vse omenjene interakcije imajo pomemben vpliv na funkcijo in na farmakokinetične parametre posamezne bioaktivne molekule.

Znanstvena dognanja nakazujejo, da so v splošnem med fenoli v največji meri biološko razpoložljivi izoflavoni, sledijo jim fenolne kisline, flavanoli, flavanoni in flavonoli, zadnji pa so antociani in proantocianidi. Biološka uporabnost flavonoidov, hidrofilnih spojin, je izjemno nizka zaradi slabše absorpcije iz lumna črevesja v črevesne celice (Shivashankara in Acharya 2010).

Interakcije med fenolnimi spojinami in molekulami v lumnu črevesnega trakta

Interakcije med fenoli in hranili, ki jih sočasno zaužijemo, vplivajo predvsem na biološko dostopnost fenolov v črevesnem traktu in lahko ali povečajo ali zmanjšajo absorpcijo bioaktivne spojine. A ne smemo zanemariti dejstva, da kljub temu, da številne fenolne spojine do tarčnih tkiv ne pridejo v zadostnih količinah, da bi lahko delovale ugodno na zdravje, pozitivne učinke na zdravje lahko sprožijo preko interakcij s sočasno zaužitimi hranili, prebavnimi encimi, z različnimi transporterji in preko črevesne mikrobne združbe.

Znano je, da fenoli v črevesnem traktu interagirajo s prehranskimi vlakninami. Pri sami interakciji gre za tvorbo vodikovih vezi med hidroksilnimi skupinami fenolov in etrskimi vezmi vlaknin ter za tvorbo hidrofobnih interakcij med hidrofobnimi regijami obeh vrst molekul (Pinelo idr. 2006). Ker pa so si fenolne spojine zelo različne po kemijski sestavi in enako velja za prehranske vlaknine, se te interakcije lahko med različnimi molekulami precej razlikujejo. Zaradi vezave fenolnih spojin na prehranske vlaknine pri neprocesiranih rastlinskih živilih večina fenolnih spojin ne doseže krvno-žilnega sistema in se skupaj z vlakninami premakne v debelo črevo. Zmanjšana biološka uporabnost fenolnih spojin zaradi interakcij s prehranskimi vlakninami navadno ne vodi do izostanka ugodnega učinka fenolne spojine na zdravje, a je učinek v bistveno večji meri posreden, in sicer preko črevesne mikrobne združbe (Duda-Chodak idr. 2015).

Fenolne spojine komplekse tvorijo tudi s škrobom, večinoma preko vodikovih vezi (Cohen idr. 2011; Chai idr. 2013). Fenolno-škrobni kompleksi

so pomembni za sam transport in zaščito fenolnih spojin. Npr., pokazano je bilo, da je škrobni kompleks bioaktivno spojino genistein zavaroval v neugodnem okolju želodca in jo prenesel do tankega črevesja, kjer je nato amilaza razgradila škrob in bioaktivna substanca se je v nespremenjeni obliki sprostila (Cohen idr. 2011). Interakcije med škrobom in fenoli pa vplivajo tudi na zmanjšano in upočasnjeno razgradnjo škroba. V klinični raziskavi je bila dokazana negativna povezava med količino fenolnih spojin v obarvanem krompirju in glikemičnim indeksom, kar je potrdilo, da kompleksi med fenolnimi spojinami in škrobom značilno zmanjšajo oz. upočasnijo presnovo škroba (Ramdath idr. 2014).

Vnos prehranskih maščob in micelizacija sta ključna dejavnika, ki povečujeta biološko dostopnost in posledično uporabnost fenolnih spojin. Številne raziskave so bile opravljene v povezavi s kvercetinom, kjer je bilo nedvoumno dokazano, da vnos maščob pozitivno korelira z absorpcijo kvercetina (Lesser idr. 2004). Poleg tega da maščobe povečujejo biološko uporabnost fenolnih spojin, na drugi strani fenolne spojine preko interakcij v micelih izrivajo oz. zmanjšujejo količino akumuliranega holesterola v micelih in posledično vplivajo na manjši privzem holesterola s strani enterocitov (Athayde Moncorvo Collado idr. 2016). Ta mehanizem je bil dokazan *in vitro* za katehine črnega čaja (Ikeda idr. 2010) in fenolne spojine jabolk (Ogino idr. 2007). Zato so fenolne spojine tako uspešne pri zniževanju holesterola.

Poleg interakcij z vlakninami, s škrobom in z maščobami fenolne spojine interagirajo tudi s proteini. Tudi v tem primeru so ključne vodikove vezi in hidrofobne interakcije (Brudzynski in Maldonado-Alvarez 2015). Zelo preučene so interakcije med fenolnimi spojinami in proteini mleka – tako katehini kot kurkumin tvorijo interakcije s kazeini (Bourassa idr. 2013; Ye idr. 2013). Je pa treba razumeti, da interakcija vpliva tako na fenolne spojine kot na proteine. Proteinom se navadno podaljša čas presnove, lahko pa se jim tudi zmanjša ali celo poveča aktivnost (Guri idr. 2014). Pri interakciji med proteini in fenolnimi spojinami je pomembno izpostaviti interakcijo med albuminom in arzanolom, protivnetno fenolno spojino laškega smilja. Dokazano je bilo (*in silico*), da arzanol preko interakcije z albuminom, beljakovino, zaščiti pred denaturacijo in ji poveča stabilnost (Bojilov idr. 2023). Na drugi strani pa je bilo pokazano, da proteini mleka znižajo antioksidativni potencial flavonoidom (Korir idr. 2014), ker fenolne spojine v interakciji s proteini ne morejo več učinkovito sprejeti/oddati elektronov in/ali vodikovih atomov. Je pa v interakciji s proteinom

fenolna spojina zaščitena do same absorpcije in s tem je ohranjen tudi njen antioksidativni potencial.

Poleg vseh makrohranil fenolne spojine v črevesnem traktu interagirajo tudi s kovinskimi ioni, jih vežejo, pri čemer se posledično zniža biološka uporabnost tako fenolnih spojin kot kovinskih ionov, a se hkrati zniža tudi tvorba prostih reaktivnih zvrsti, kar je z zdravstvenega vidika ugodno. Klorogenska kislina in rutin tvorita komplekse z železovimi ioni, kar rezultira v zmanjšani biološki uporabnosti tako fenolnih spojin kot železovih ionov (Miranda idr. 2013). Podobni kompleksi so bili dokazani tudi z drugimi fenolnimi spojinami in tudi z bakrovimi ter s cinkovimi ioni (Escudero idr. 2014). Pri kelaciji železovih ionov so bili učinkoviti tudi izvlečki laškega smilja, v največji meri tisti, pripravljeni z etil-acetatom z visoko vsebnostjo klorogenske kisline, nekoliko manj pa izvlečki, pripravljeni s kloroformom in heksanom (Bojilov idr. 2023).

Interakcije med fenolnimi spojinami, prebavnimi encimi črevesnega trakta in prenašalnimi molekulami

Kot je bilo že predhodno povedano, fenolne spojine interagirajo s proteini, zato je pričakovano, da so fenolne spojine v interakciji tudi s prebavnimi encimi črevesnega trakta, kar lahko vodi do upočasnitve prebave in upočasnitve absorpcije makrohranil. Je pa treba razumeti, da se različne fenolne spojine vežejo na različne predele encima, zato ne vodijo vse interakcije do inhibicije encimske aktivnosti. Poleg omenjenega je za sam učinek vedno pomembno tudi razmerje med fenolnimi spojinami in encimi (Xu idr. 2016).

Številne raziskave so pokazale inhibitorni učinek fenolnih spojin na α -amilazo (Shodehinde idr. 2015) in s tem povezano upočasnitev presnove ogljikovih hidratov ter zmanjšano absorpcijo monosaharidov. Zdravstveni učinki fenolnih spojin v povezavi z inhibicijo α -amilaze v črevesnem traktu so povezani tudi z znižanjem absorpcije glukoze, izboljšanjem razmerja glukoze/inzulina itd. Tu se lahko navežemo tudi na laški smilj, saj so Ana Laura de la Garza idr. (2013) preučevali učinkovanje metanolnega izvlečka laškega smilja na presnovo in absorpcijo ogljikovih hidratov *in vivo*. Izvleček je znižal vrednosti glukoze v krvi na tešče po obroku ter izboljšal hiperinzulinemijo na modelu na inzulin odpornih podgan. Dodatno je izvleček inhibiral aktivnost encimov α -amilaze in α -glukozidaze *in vitro*, znižal pa je tudi presnovo maltoze in zavrl privzem metilglukozida v celicah Caco-2. Podobno so potrdili tudi Sandra Gonçalves idr. (2017) za metanolni izvleček *H. italicum* in Catarina

Guerreiro Pereira idr. (2017) za vodne izvlečke (poparke in prevretke) cvetov *H. italicum* subsp. *picardii* (Gonçalves idr. 2017; Guerreiro Pereira idr. 2017). V obeh primerih so raziskovalci zaznali inhibitorno delovanje izvlečkov laškega smilja na α -glukozidazo.

Podobno kot na α -amilazo številne fenolne spojine inhibitorno delujejo tudi na lipaze in na tak način vplivajo na zakasnelo/zmanjšano absorpcijo maščob ter posledično na ugodnejši lipidni profil v serumu (Garza idr. 2011). Izvedenih je bilo veliko raziskav *in vitro*, kjer so raziskovalci za številne fenolne spojine dokazali inhibitorno delovanje na lipaze. Omeniti velja katehine črnega čaja (Yuda idr. 2012), luteolin (Ramirez idr. 2016) in klorogensko ter kavno kislino (Raghavendra idr. 2007). Tudi v tem primeru so ključne molekularne značilnosti posameznih fenolnih spojin, pri čemer velja izpostaviti število in lego hidroksilnih skupin, stopnjo polimerizacije, glikozilacij itd. (Buchholz in Melzig 2015).

Tudi proteaze so lahko v interakciji s fenolnimi spojinami, pri čemer gre večinoma za nekompetitivno inhibicijo fenolnih spojin na proteaze pepsin, tripsin in kimotripsin (Li idr. 2016). Posledično zaznamo počasnejšo presnovo zaužitih proteinov (Stojadinovic idr. 2013).

Dodatni mehanizem, preko katerega lahko fenolne spojine vplivajo na prebavo in presnovo, je preko interakcije s prenašalnimi molekulami oz. transporterji hranil. V različnih eksperimentalnih modelih je bilo pokazano, da določene fenolne spojine, kot je npr. tilirozid, inhibirajo prenos glukoze preko transporterjev GLUT2 in SGLT1 (Goto idr. 2012). Fenolne spojine interagirajo tudi z intestinalnim transporterjem holesterola (NPC1L1) in posledično neposredno preprečijo privzem holesterola. V modelu *in vitro*, v celicah Caco-2 je bilo pokazano, da številne fenolne spojine – luteolin, kvercetin, daidzein, apigenin, kurkumin in druge – na eni strani inhibirajo izražanja gena *NPC1L1* ter hkrati preko neposredne interakcije s transporterjem zavirajo privzem holesterola (Feng idr. 2010; Kim idr. 2013).

Mehanizmi transporta fenolnih spojin v ali iz enterocitov

Vse prehransko zaužite fenolne spojine morajo preiti črevesni epitelij, da dosežejo krvno-žilni ali limfni sistem. Torej, po zaužitju in po vseh interakcijah z različnimi molekulami, kot smo opisali v predhodnih poglavjih, sledi prehod fenolne spojine preko epitelija črevesa. Biološka dostopnost fenolnih spojin je torej ključna glede nadaljnje biološke uporabnosti v enterocitih in kasneje v celotnem organizmu (Estudante idr. 2013).

Na biološko dostopnost fenolnih spojin vpliva več dejavnikov, od kemijsko-fizikalnih lastnosti fenolne spojine in količine fenolne spojine v zaužitem rastlinskem izvlečku do samega matriksa ter dejavnikov, povezanih z gostiteljem (Velderrain-Rodríguez idr. 2014). Ko je fenolna spojina enkrat sproščena v lumnu tankega črevesa – kar velja za hidrofilne fenolne kisline, glikozilirane fenolne spojine in lipofilne fenolne spojine –, se prenese v enterocite preko različnih transportnih mehanizmov in transporterjev, ki so pomembni tudi za prenos hranil in/ali ksenobiotikov (Li idr. 2015). V splošnem poznamo pasivno difuzijo, olajšano difuzijo, paracelularni transport preko tesnih stikov pa tudi primarni in sekundarni aktivni transport (Anderson 2001).

Majhne fenolne spojine, ki so hidrofobne ali nevtralne, se večinoma prenašajo s pasivno difuzijo (Kobayashi idr. 2013), podobno kot maščobe in vitamini, topni v maščobah (Goncalves idr. 2015). Za arzanol, glavno protivnetno spojino laškega smilja, je bilo dokazano, da lahko učinkovito prehaja preko monosloja celične kulture črevesnih celic Caco-2 s pasivno difuzijo (Rosa idr. 2011). Hidrofobne in nevtralne fenolne spojine lahko v enterocite prosto prehajajo tudi preko tesnih stikov – pri tem govorimo o paracelularnem transportu (McClements in Xiao 2012). Določene fenolne spojine z nabojem, a majhno molekulsko maso, kot sta klorogenska in galna kislina, prav tako izkoriščajo paracelularni transport, a je hitrost prehoda zaradi naboja molekule bistveno manjša kot v primeru nevtralnih ali hidrofobnih fenolnih spojin. Poleg pasivnega transporta in paracelularnega prenosa poznamo še aktivni transport in olajšano difuzijo. Fenolne spojine, ki izkoriščajo ta način transporta, se absorbirajo v obliki glikozidov. V splošnem ločimo tri kategorije glikozidnih polifenolov: (a) glikozilirane fenolne spojine, (b) aglikone s pozitivnim nabojem in (c) nevtralne ali hidrofobne aglikone. Glikozilirane fenolne spojine izkoriščajo klasični model za absorpcijo sladkorjev – večinoma vstopajo preko transporterja GLUT2 (npr. glikoziliran kvercetin) ali transporterja SGLT1 (glikoziliran katehin) (Matsson in Bergström 2015; Martel idr. 2010). Aglikoni pa izkoriščajo druge, najrazličnejše transportne proteine (MATE1 (SLC47A1), MCT1 (SLC16A1), OCT1 itd.). Npr., ferulna in hidroksibenzojska kislina vstopata preko transporterja SLC16A1 (Estudante idr. 2013), ki je izražen tako v tankem kot v debelem črevesju (Iwanaga idr. 2006).

Je pa treba poudariti, da se večina fenolnih spojin le v majhni meri (5–10 %) ali sploh ne absorbira v tankem črevesu in posledično doseže debelo

črevo. Torej, neabsorbirane in kompleksnejše fenolne spojine potujejo dalje do debelega črevesa (Konishi idr. 2004), kjer so podvržene hidrolizaciji s črevesnimi encimi. Nato so bodisi absorbirane preko različnih mehanizmov bodisi presnovljene s strani črevesne mikrobne združbe (Marín idr. 2015). Črevesna mikrobna združba lahko fenolne spojine pretvori v presnovke z nizko molekulsko maso, ki so biološko razpoložljivi za gostitelja in po absorpciji zanj tudi koristni. Kot primer lahko omenimo ferulno kislino (derivat hidroksicimetne kisline), ki se med drugim presnavlja tudi v nevroprotektivno hidroferulno kislino, ki je bila zaznana v možganih podgan (Serrelli in Deiana 2019). Nadalje je bilo ugotovljeno, da sta presnovka kemferola in kvercetina, 3,4-dihidroksifenilacetna kislina in p-hidroksifenilacetna kislina, ki ju proizvaja mikrobna združba debelega črevesa, odgovorna za anksiolitični učinek (Vissiennon idr. 2012), itd.

Pred in med samo absorpcijo se fenolne spojine lahko dodatno konjugirajo, z reakcijami metilacije, sulfatacije in glukuronidacije, kar še enkrat sledi v jetrih (Lippolis idr. 2023). To so procesi razstrupljanja fenolnih spojin, ki povečajo hidrofilnost molekul in tudi olajšajo njihovo izločanje z urinom. Proces konjugacije je izjemno učinkovit, zato so aglikoni skoraj popolnoma odsotni v krvnem obtoku (Crozier idr. 2010). Fenolne spojine celice tankega ali debelega črevesja zapustijo preko različnih transporterjev: (a) preko P-glikoproteina MDR1 (angl. *multidrug resistance protein 1*), ki se izraža v celicah črevesnega epitelija, iz katerih črpa tudi določene toksine in učinkovine nazaj v črevesno svetlino oz. lumen črevesja, s čimer zmanjšuje njihovo absorpcijo (Estudante idr. 2013); (b) preko družine proteinov, povezanih z odpornostjo na več spojin (angl. *multidrug resistance-associated protein*, MRP1 in MRP2), pri čemer MRP2 sodeluje pri izločanju kvercetina in naringenina (Nait Chabane idr. 2009); (c) preko rezistentnega proteina, izoliranega pri raku na dojki (angl. *breast cancer resistance protein* – BCRP). Vsi ti prenašalci sodelujejo tudi pri izločanju aglikonov.

Presnova fenolnih spojin

Po absorpciji fenolne spojine njihovi presnovki potujejo skozi portalno veno v jetra, kjer se podvržejo biotransformaciji. Ta proces pospešuje njihovo izločanje in krajša razpolovno dobo v plazmi. Reakcije biotransformacije delimo v fazo I in fazo II. Faza I je poznana kot modifikacijska faza in vključuje različne strukturne spremembe, vključujoč tiolacijo, hidroksilacijo, aminacijo ali karboksilacijo. Hidroksilacijo katalizira

naddružina encimov citokromov P450, ki se nahajajo v jetrih, tankem črevesju in nekaterih drugih organih. Funkcija naddružine citokromov P450 je kataliza oksidacije organskih snovi, kar vodi v razgradnjo teh snovi, med njimi tudi ksenobiotikov, v različne presnovke. Med najbolj zastopanimi citokromi v jetrih je družina citokrom P3A, in sicer citokrom P3A4, ki sodeluje pri presnovi > 50 % kliničnih zdravil in je najbolj zastopan v jetrih, mikrosomih in črevesnem epiteliju (Shimada idr. 1994). Med pogosto zastopane oblike citokroma v jetrih pa uvrščamo še ostale izoforme citokroma, npr. citokrom P2C9, ki sodeluje pri presnovi spojine varfarin, znanemu zaviralcu vitamina K, ki se uporablja kot peroralni antikoagulant (Ulvestad idr. 2013). Interakcije posameznih polifenolnih spojin z zdravili še niso dobro dokumentirane. V raziskavi Kimure idr. (2010) so sistematično ovrednotili inhibitorne učinke 60 prehranskih polifenolov na aktivnosti CYP3A4 in CYP2C9. Ugotovili so, da imajo nekatere fenolne spojine (med njimi tudi naringenin, kvercetin in miricetin, ki se nahajajo v laškem smilju) potencial inhibicije presnove kliničnih zdravil (Kimura idr. 2010). Sočasno zaužitje kvercetina in valsartana povzroči spremembe farmakokinetičnih lastnosti valsartana, kar je posledica zaviralnega učinka kvercetina na encim CYP3A4 (Challa idr. 2013). Fazi I sledi faza II, ki jo imenujemo tudi konjugacijska faza. Zanja so značilne reakcije glukuronacije, metilacije, sulfatacije ali kombinacije vseh treh (Cardona idr. 2013). Glavni encimi, ki sodelujejo v tej fazi, so UDP-glukuroniltransferaza, sulfattransferaza, glutathion-S-transferaza idr. Vse te reakcije še dodatno zmanjšajo bioaktivnost spojin, potencialno toksičnost, obenem pa povečajo njihovo polarnost in olajšajo izločanje.

Porazdelitev in izločanje fenolnih spojin

Po zaključku obeh presnovnih faz se presnovki, vezani na plazemske beljakovine, npr. albumin, lahko prenesejo v različne organe in tkiva, kjer se izražajo njihovi značilni biološki učinki. Nekateri presnovki se prenesejo v ledvice in se izločijo z urinom, medtem ko se drugi skozi žolč vrnejo v črevesje. Tam lahko presnovke enterociti ponovno absorbirajo in transportirajo nazaj v jetra, po t. i. enterohepatični cirkulaciji (Teng in Chen 2019).

Farmakokinetika fenolnih spojin, zaznanih v vodnih izvlečkih laškega smilja

Pri farmakokinetiki nas v največji meri zanima maksimalna koncentracija fenolne spojine v serumu ali drugi telesni tekočini ($c_{\max}$), čas, ko spojina

doseže maksimalno koncentracijo ($t_{\max}$), in razpolovni čas spojine ($t_{1/2}$), ki nakazuje, koliko časa bo neka spojina aktivna. Farmakokinetični parametri se razlikujejo za vsako spojino in so med drugim odvisni od različnih dejavnikov, kot npr. od same strukture spojine, odmerka, sočasnega zaužitja z drugimi spojinami, interakcije s spojinami itd.

Ker so za oralni vnos najzanimivejši vodni izvlečki laškega smilja, se bomo v tem podpoglavju v največji meri osredotočili na fenolne kisline in flavonoide, ki so najpogostejše zastopani v vodnih izvlečkih. V vodnih izvlečkih laškega smilja namreč prevladujejo hidroksicimetne kisline (kavna kislina, kafeoilkinske kisline – klorogenska kislina in di-kafeoilkinske kisline) in flavonoidi (derivati naringenina, kemferola, miricetina in kvercetina), pri čemer se v manjši meri pojavljajo tudi acetofenoni in tremetoni (Kramberger idr. 2021). Podobno so ugotovili Catarina Guerreiro Pereira idr. (2017), ki so v poparkih in prevretkih iz laškega smilja v največji meri določili mono- in dikafeoilkinske kisline ter flavonoid gna-falin. Podobno navajajo tudi Karača idr. (2018), in sicer da vodni izvlečki cvetov laškega smilja najpogostejše vsebujejo kafeoilkinske kisline (klorogenska kislina in njeni derivati) ter kavno kislino.

Najprej se bomo osredotočili na hidroksicimetne kisline. Adriana Farah idr. (2008) so pokazali, da več kot 30 % zaužitih komponent cimetine kisline detektiramo v plazmi, kar kaže na dobro absorpcijo in presnovo spojin (Farah idr. 2008). Preostali dve tretjini dosežeta debelo črevo, kjer se fenolne kisline nadalje presnovijo s pomočjo črevesne mikrobne združbe in nato absorbirajo (Stalmach idr. 2010). Tudi farmakokinetični podatki *in vivo* so pokazali, da se hidroksicimetne kisline po peroralni uporabi hitro absorbirajo, pri čemer sta bila $t_{1/2}$ in $t_{\max}$ v razponu 0,07–1,7 ure oz. 0,03–1,5 ure (Veras idr. 2022). Klorogenska kislina se po zaužitju v manjšem deležu absorbira že v zgornjih prebavilih, podobno kot cimetna. Preostali del pa encimi (esteraze) hidrolizirajo na klorogensko ter kin-sko kislino, ki se delno absorbirata v tankem črevesju (Ludwig idr. 2013). Velik delež klorogenske kisline pa preide v debelo črevo, kjer se nadalje presnovi in nato absorbira v obtok (Monteiro idr. 2007). Kot ugotavljajo Angélique Stalmach idr. (2010), je bila večina klorogenskih spojin hitro odstranjena iz krvnega obtoka z vrednostmi razpolovnega časa izločanja ($t_{1/2}$) 0,3–1,9 ure (Stalmach idr. 2010). Kar se tiče kavne kisline, velja izpostaviti, da se le-ta v živilih nahaja v esterificirani obliki, zaradi česar jo telo težje absorbira (Manach idr. 2005). Absorbira se lahko v debel-em črevesju po hidrolizi s pomočjo črevesne mikrobne združbe. Njena

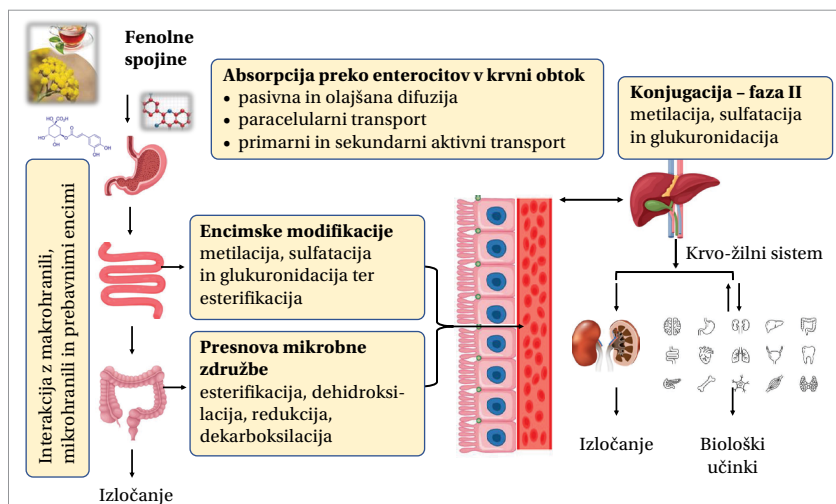
maksimalna plazemska koncentracija je zaznana približno eno uro po zaužitju (Manach idr. 2005; Scalbert in Williamson 2000). Takoj po absorpciji je kavna kislina podvržena trem glavnim procesom encimske konjugacije: metilaciji, sulfataciji in glukuronidaciji. Izločanje poteka predvsem z urinom (Manach idr. 2005). Med presnovke, ki jih najpogosteje zaznamo v krvi po rednem uživanju kave ali zelenega kavnega ekstrakta, uvrščamo ferulno, izoferulno in kavno kislino (Lafay idr. 2006; Monteiro in Azevedo 2010).

Drugače se obnašajo flavanoidi. Zanje sta namreč v splošnem značilni nizki absorpcija in biološka uporabnost, poleg tega se hitro izločijo bodisi z urinom ali žolčem. Z običajno prehrano njihova plazemska koncentracija redko preseže koncentracije več kot $1 \mu\text{M}$ (Scalbert in Williamson 2000). Se pa biološka uporabnost razlikuje med različnimi vrstami flavonoidov. Izmed flavonoidov imajo izoflavoni najboljšo absorpcijo, sledijo jim flavanoli, flavanoni (naringenin), flavonoli (kemferol, kvercetin, miricetin) in antocianidini. Najhitreje se izločajo antocianidini, najpočasneje pa flavonoli. Za kvercetin (flavanol) je značilno, da se izloča zelo počasi ($t_{1/2}$ v plazmi je 11–28 ur, v povprečju 16 ur), enako velja za kemferol ($t_{1/2}$ v plazmi je v povprečju 28 ur) (Manach idr. 2005), najverjetneje zaradi močne vezave na serumski albumin (Dufour in Dangles 2005).

O farmakokinetičnih lastnostih drugih bioaktivnih spojin laškega smilja, sploh arzanola in drugih pironov, je zelo malo znanega.

Zaključek

Tekom poglavja smo spoznali, da je biološka uporabnost fenolnih spojin odvisna od količine bioaktivne spojine, ki se sprostí v prebavnem sistemu (od biološke dostopnosti), od same presnove bioaktivne spojine (biotransformacije) in od učinkovitosti absorpcije preko črevesnih celic oz. enterocitov. Za številne fenolne spojine, ki jih najdemo v poparkih laškega smilja, je bilo dokazano, da preden dosežejo krvno-žilni sistem, interagirajo s številnimi makro- in mikromolekulami v lumnu črevesnega trakta, enterocitih, krvnem obtoku in kasneje tudi jetrnih celicah. Podvrženi so številnim presnovnim potem, vključno z encimskimi modifikacijami, s presnovo preko črevesne mikrobne združbe in kasneje tudi s presnovnimi potmi faze II (slika 1). Izpostaviti velja, da so med fenolnimi spojinami na splošno najrazpoložljivejši izoflavoni, sledijo jim fenolne kisline, flavanoli, flavanoni in flavonoli, zadnji pa so antociani in proantocianidi. Biološka uporabnost flavonoidov je izjemno nizka zaradi slabše absorpcije iz lumna črevesja v črevesne celice. A ne glede na vse,



Slika 1 Presnovne poti zaužitih fenolnih spojin

zdravju koristne učinke zaužitih fenolnih spojin lahko zaznamo ali zaradi interakcije fenolnih spojin z encimi prebavnega trakta, ali zaradi absorbirane fenolne spojine, ki v organizmu deluje protivnetno, ali zaradi njenih antioksidativnih lastnosti, ali zaradi kelacijskih sposobnosti, itd., lahko pa je učinek fenolne spojine tudi posreden, npr. preko presnovkov črevesne mikrobne združbe.

Viri

- Anderson, J. M. 2001. »Molecular Structure of Tight Junctions and Their Role in Epithelial Transport.« *News in Physiological Sciences* 16 (3): 126–130.
- Athayde Moncorvo Collado, A. de, F. G. Dupuy, R. D. Morero in C. Minahk. 2016. »Cholesterol Induces Surface Localization of Polyphenols in Model Membranes thus Enhancing Vesicle Stability Against Lysozyme, but Reduces Protection of Distant Double Bonds from Reactive-Oxygen Species.« *Biochimica et Biophysica Acta* 1858 (7): 1479–1487.
- Bojilov, D., S. Manolov, S. Ahmed idr. 2023. »HPLC Analysis and In Vitro and In Silico Evaluation of the Biological Activity of Polyphenolic Components Separated with Solvents of Various Polarities from *Helichrysum italicum*.« *Molecules* 28 (17): 6198.
- Bourassa, P., J. Bariyanga in H. A. Tajmir-Riahi. 2013. »Binding Sites of Resveratrol, Genistein, and Curcumin with Milk α - and β -Caseins.« *Journal of Physical Chemistry B* 117 (5): 1287–1295.
- Brudzynski, K., in L. Maldonado-Alvarez. 2015. »Polyphenol-Protein Complexes and Their Consequences for the Redox Activity, Structure and

- Function of Honey: A Current View and New Hypothesis; A Review.« *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 65 (2): 71–80.
- Buchholz, T., in M. F. Melzig. 2015. »Polyphenolic Compounds as Pancreatic Lipase Inhibitors.« *Planta Medica* 81 (10): 771–783.
- Cardona, F., C. Andrés-Lacueva, S. Tulipani, F. J. Tinahones in M. I. Queipo-Ortuño. 2013. »Benefits of Polyphenols on Gut Microbiota and Implications in Human Health.« *Journal of Nutritional Biochemistry* 24 (8): 1415–1422.
- Chai, Y., M. Wang in G. Zhang. 2013. »Interaction Between Amylose and Tea Polyphenols Modulates the Postprandial Glycemic Response to High-Amylose Maize Starch.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (36): 8608–8615.
- Challa, V. R., P. R. Babu, S. R. Challa, B. Johnson in C. Maheswari. 2013. »Pharmacokinetic Interaction Study Between Quercetin and Valsartan in Rats and *in vitro* Models.« *Drug Development and Industrial Pharmacy* 39 (6): 865–872.
- Cohen, R., B. Schwartz, I. Peri in E. Shimoni. 2011. »Improving Bioavailability and Stability of Genistein by Complexation with High-Amylose Corn Starch.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (14): 7932–7938.
- Crozier, A., D. Del Rio in M. N. Clifford. 2010. »Bioavailability of Dietary Flavonoids and Phenolic Compounds.« *Molecular Aspects of Medicine* 31 (6): 446–467.
- Del Rio, D., A. Rodriguez-Mateos, J. P. Spencer, M. Tognolini, G. Borges in A. Crozier. 2013. »Dietary (Poly)Phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases.« *Antioxid Redox Signal* 18 (14): 1818–1892.
- Duda-Chodak, A., T. Tarko, P. Satora in P. Sroka. 2015. »Interaction of Dietary Compounds, Especially Polyphenols, with the Intestinal Microbiota: A Review.« *European Journal of Nutrition* 54 (3): 325–341.
- Dufour, C., in O. Dangles. 2005. »Flavonoid-Serum Albumin Complexation: Determination of Binding Constants and Binding Sites by Fluorescence Spectroscopy.« *Biochimica et Biophysica Acta* 1721 (1–3): 164–173.
- Escudero, L. B., C. M. Fusari, J. C. Altamirano, A. B. Camargo in R. G. Wu-illoud. 2014. »Stability of Iron-Quercetin Complexes in Synthetic Wine Under In Vitro Digestion Conditions.« *Journal of Food Science* 79 (10): C1933–C1938.
- Estudante, M., J. G. Morais, G. Soveral in L. Z. Benet. 2013. »Intestinal Drug Transporters: An Overview.« *Advanced Drug Delivery Reviews* 65 (10): 1340–1356.

- Farah, A., M. Monteiro, C. M. Donangelo in S. Lafay. 2008. »Chlorogenic Acids from Green Coffee Extract Are Highly Bioavailable in Humans.« *Journal of Nutrition* 138 (12): 2309–2315.
- Feng, D., L. Ohlsson in R. D. Duan. 2010. »Curcumin Inhibits Cholesterol Uptake in Caco-2 Cells by Down-Regulation of NPC1L1 Expression.« *Lipids in Health and Disease* 9:40.
- Garza, A. L. de la, F. I. Milagro, N. Boque, J. Campión in J. A. Martínez. 2011. »Natural Inhibitors of Pancreatic Lipase as New Players in Obesity Treatment.« *Planta Medica* 77 (8): 773–85.
- Garza, A. L. de la, U. Etxeberria, M. P. Lostao idr. 2013. »Helichrysum and Grapefruit Extracts Inhibit Carbohydrate Digestion and Absorption, Improving Postprandial Glucose Levels and Hyperinsulinemia in Rats.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (49): 12012–12019.
- Goncalves, A., S. Roi, M. Nowicki idr. 2015. »Fat-Soluble Vitamin Intestinal Absorption: Absorption Sites in the Intestine and Interactions for Absorption.« *Food Chemistry* 172:155–160.
- Gonçalves, S., E. Moreira, C. Grosso, P. B. Andrade, P. Valentão in A. Romano. 2017. »Phenolic Profile, Antioxidant Activity and Enzyme Inhibitory Activities of Extracts from Aromatic Plants Used in Mediterranean Diet.« *Journal of Food Science and Technology* 54 (1): 219–227.
- Goto, T., M. Horita, H. Nagai idr. 2012. »Tiliroside, a Glycosidic Flavonoid, Inhibits Carbohydrate Digestion and Glucose Absorption in the Gastro-intestinal Tract.« *Molecular Nutrition Food Research* 56 (3): 435–445.
- Guerreiro Pereira, C., L. Barreira, S. Bitttebier idr. 2017. »Chemical Profiling of Infusions and Decoctions of *Helichrysum italicum* subsp. *picardii* by UHPLC-PDA-MS and *in vitro* Biological Activities Comparatively with Green Tea (*Camellia sinensis*) and Rooibos Tisane (*Aspalathus linearis*).« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 145 (11): 593–603.
- Guri, A., S. Haratifar in M. Corredig. 2014. »Bioefficacy of Tea Catechins Associated with Milk Caseins Tested Using Different *in vitro* Digestion Models.« *Food Digestion* 5 (1–3): 8–18.
- Ikeda, I., T. Yamahira, M. Kato in A. Ishikawa. 2010. »Black-Tea Polyphenols Decrease Micellar Solubility of Cholesterol *in vitro* and Intestinal Absorption of Cholesterol in Rats.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (15): 8591–8595.
- Iwanaga, T., K. Takebe, I. Kato, S. Karaki in A. Kuwahara. 2006. »Cellular Expression of Monocarboxylate Transporters (MCT) in the Digestive Tract of the Mouse, Rat, and Humans, with Special Reference to slc5a8.« *Biomedical Research* 27 (5): 243–254.

- Karača, S., K. Trifkovic A. Bušić idr. 2018. »The Functional Potential of Immortelle (*Helichrysum italicum*) Based Edible Films Reinforced with Proteins and Hydrogel Particles.« *LWT* 99:387–395.
- Kim, B., Y. Park, C. J. Wegner, B. W. Bolling in J. Lee. 2013. »Polyphenol-Rich Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Extract Regulates the Expression of Genes Critical for Intestinal Cholesterol Flux in Caco-2 Cells.« *Journal of Nutritional Biochemistry* 24 (9): 1564–1570.
- Kimura, Y., H. Ito, R. Ohnishi in T. Hatano. 2010. »Inhibitory Effects of Polyphenols on Human Cytochrome P450 3A4 and 2C9 Activity.« *Food and Chemical Toxicology* 48 (1): 429–435.
- Kobayashi, S., M. Shinohara, T. Nagai in Y. Konishi. 2013. »Transport Mechanisms for Soy Isoflavones and Microbial Metabolites Dihydrogenistein and Dihydrodaidzein Across Monolayers and Membranes.« *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 77 (11): 2210–2217.
- Konic Ristic, A., P. Kroon in M. Glibetic. 2015. »Modulation of Platelet Function with Dietary Polyphenols: A Promising Strategy in the Prevention of Cardiovascular Disease.« *Agro Food Industry Hi-Tech* 26:15–18.
- Konishi, Y., Y. Hitomi in E. Yoshioka. 2004. »Intestinal Absorption of P-Coumaric and Gallic Acids in Rats After Oral Administration.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (9): 2527–2532.
- Korir, M. W., F. N. Wachira, J. K. Wanyoko, R. M. Ngure in R. Khalid. 2014. »The Fortification of Tea with Sweeteners and Milk and Its Effect on *in vitro* Antioxidant Potential of Tea Product and Glutathione Levels in an Animal Model.« *Food Chemistry* 145:145–153.
- Kramberger, K., S. Kenig, Z. Jenko Pražnikar, N. Kočevar Glavač in D. Barlič-Maganja. 2021. »A Review and Evaluation of the Data Supporting Internal Use of *Helichrysum italicum*.« *Plants* 10 (8): 1738.
- Lafay, S., A. Gil-Izquierdo, C. Manach, C. Morand, C. Besson in A. Scalbert. 2006. »Chlorogenic Acid Is Absorbed in Its Intact Form in the Stomach of Rats.« *Journal of Nutrition* 136 (5): 1192–1197.
- Lesser, S., R. Cermak in S. Wolfram. 2004. »Bioavailability of Quercetin in Pigs Is Influenced by the Dietary Fat Content.« *Journal of Nutrition* 134 (6): 1508–11.
- Li, Y., F. Q. Lu, Y. Feng, Z. D. He in X. L. Wu. 2016. »Binding Interaction Between (–)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) of Green Tea and Pepsin.« *Acta Alimentaria* 45:129–140.
- Li, Z., H. Jiang, C. Xu in L. Gu. 2015. »A Review: Using Nanoparticles to Enhance Absorption and Bioavailability of Phenolic Phytochemicals.« *Food Hydrocolloids* 43:153–164.

- Lingua, M. S., D. A. Wunderlin in M. V. Baroni. 2018. »Effect of Simulated Digestion on the Phenolic Components of Red Grapes and Their Corresponding Wines.« *Journal of Functional Foods* 44:86–94.
- Lippolis, T., M. Cofano, G. R. Caponio, V. De Nunzio in M. Notarnicola. 2023. »Bioaccessibility and Bioavailability of Diet Polyphenols and Their Modulation of Gut Microbiota.« *International Journal of Molecule Sciences* 24 (4): 3813.
- Ludwig, I. A., M. Paz de Peña, C. Concepción in C. Alan. 2013. »Catabolism of Coffee Chlorogenic Acids by Human Colonic Microbiota.« *Biofactors* 39 (6): 623–632.
- Manach, C., G. Williamson, C. Morand, A. Scalbert in C. Rémésy. 2005. »Bioavailability and Bioefficacy of Polyphenols in Humans: I. Review of 97 Bioavailability Studies.« *American Journal of Clinical Nutrition* 81 (1): 230S–242S.
- Marín, L., E. M. Miguélez, C. J. Villar in F. Lombó. 2015. »Bioavailability of Dietary Polyphenols and Gut Microbiota Metabolism: Antimicrobial Properties.« *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2015/905215>.
- Martel, F., R. Monteiro in C. Calhau. 2010. »Effect of Polyphenols on the Intestinal and Placental Transport of Some Bioactive Compounds.« *Nutrition Research Reviews* 23 (1): 47–64.
- Matsson, P., in C. A. Bergström. 2015. »Computational Modeling to Predict the Functions and Impact of Drug Transporters.« *In Silico Pharmacology* 3 (1): 8.
- McClements, D. J., in H. Xiao. 2012. »Potential Biological Fate of Ingested Nanoemulsions: Influence of Particle Characteristics.« *Food Function* 3 (3): 202–220.
- Miranda, L., H. Deußer in D. Evers. 2013. »The Impact of *in vitro* Digestion on Bioaccessibility of Polyphenols from Potatoes and Sweet Potatoes and Their Influence on Iron Absorption by Human Intestinal Cells.« *Food Function* 4 (11): 1595–1601.
- Monteiro, M., A. Farah, D. Perrone, L. C. Trugo in C. Donangelo. 2007. »Chlorogenic Acid Compounds from Coffee are Differentially Absorbed and Metabolized in Humans.« *Journal of Nutrition* 137 (10): 2196–2201.
- Monteiro, R., in I. Azevedo. 2010. »Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome.« *Mediators of Inflammation*. <https://doi.org/10.1155/2010/289645>.
- Nait Chabane, M., A. Al Ahmad, J. Peluso, C. D. Muller in G. Ubeaud. 2009. »Quercetin and Naringenin Transport Across Human Intestinal Caco-2 Cells.« *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61 (11): 1473–1483.

- Ogino, Y., K. Osada, S. Nakamura, Y. Ohta, T. Kanda in M. Sugano. 2007. »Absorption of Dietary Cholesterol Oxidation Products and Their Downstream Metabolic Effects Are Reduced by Dietary Apple Polyphenols.« *Lipids* 42 (2): 151–161.
- Pinelo, M., A. Arnous in A. S. Meyer. 2006. »Upgrading of Grape Skins: Significance of Plant Cell-Wall Structural Components and Extraction Techniques for Phenol Release.« *Trends in Food Science and Technology* 17 (11): 579–590.
- Raghavendra, M. P., P. R. Kumar in V. Prakash. 2007. »Mechanism of Inhibition of Rice Bran Lipase by Polyphenols: A Case Study with Chlorogenic Acid and Caffeic Acid.« *Journal of Food Science* 72 (8): E412–9.
- Ramdath, D. D., E. Padhi, A. Hawke, T. Sivaramalingam in R. Tsao. 2014. »The Glycemic Index of Pigmented Potatoes is Related to Their Polyphenol Content.« *Food and Function* 5 (5): 909–915.
- Ramirez, G., A. Zamilpa, M. Zavala, J. Perez, D. Morales in J. Tortoriello. 2016. »Chrysoeriol and Other Polyphenols from Tecoma Stans with Lipase Inhibitory Activity.« *Journal of Ethnopharmacology* 185. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.014>.
- Rosa, A., F. Pollastro, A. Atzeri idr. 2011. »Protective Role of Arzanol Against Lipid Peroxidation in Biological Systems.« *Chemistry and Physics of Lipids* 164 (1): 24–32.
- Scalbert, A., in G. Williamson. 2000. »Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols.« *Journal of Nutrition* 130 (8): 2073S–85S.
- Serrelli, G., in M. Deiana. 2019. »In vivo Formed Metabolites of Polyphenols and Their Biological Efficacy.« *Food and Function* 10 (11): 6999–7021.
- Shimada, T., H. Yamazaki, M. Mimura, Y. Inui in F. P. Guengerich. 1994. »Interindividual Variations in Human Liver Cytochrome P-450 Enzymes Involved in the Oxidation of Drugs, Carcinogens and Toxic Chemicals: Studies with Liver Microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians.« *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 270 (1): 414–423.
- Shivashankara, K., in S. Acharya. 2010. »Bioavailability of Dietary Polyphenols and the Cardiovascular Diseases.« *Open Nutraceuticals Journal* 3:227–241.
- Shodehinde, S. A., A. O. Ademiluyi, G. Oboh in A. A. Akindahunsi. 2015. »Contribution of Musa Paradisiaca in the Inhibition of α -Amylase, α -Glucosidase and Angiotensin-I Converting Enzyme in Streptozotocin Induced Rats.« *Life Sciences* 133 (2): 8–14.
- Stalmach, A., H. Steiling, G. Williamson in A. Crozier. 2010. »Bioavailability of Chlorogenic Acids Following Acute Ingestion of Coffee by Humans with an Ileostomy.« *Archives of Biochemistry and Biophysics* 501 (1): 98–105.

- Stojadinovic, M., J. Radosavljevic, J. Ognjenovic idr. 2013. »Binding Affinity Between Dietary Polyphenols and β -Lactoglobulin Negatively Correlates with the Protein Susceptibility to Digestion and Total Antioxidant Activity of Complexes Formed.« *Food Chemistry* 136 (3–4): 1263–1671.
- Teng, H., in L. Chen. 2019. »Polyphenols and Bioavailability: An Update.« *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59 (13): 2040–2051.
- Ulvestad, M., I. B. Skottheim, G. S. Jakobsen idr. 2013. »Impact of OATP1B1, MDR1, and CYP3A4 Expression in Liver and Intestine on Interpatient Pharmacokinetic Variability of Atorvastatin in Obese Subjects.« *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 93 (3): 275–282.
- Velderrain-Rodríguez, G. R., H. Palafox-Carlos, A. Wall-Medrano idr. 2014. »Phenolic Compounds: Their Journey After Intake.« *Food and Function* 5 (2): 189–197.
- Veras, K. S., F. N. S. Fachel, B. V. de Araújo, H. F. Teixeira in L. S. Koester. 2022. »Oral Pharmacokinetics of Hydroxycinnamic Acids: An Updated Review.« *Pharmaceutics* 14 (12): 2663.
- Vissiennon, C., K. Nieber, O. Kelber in V. Butterweck. 2012. »Route of Administration Determines the Anxiolytic Activity of the Flavonols Kaempferol, Quercetin and Myricetin: Are They Prodrugs?« *Journal of Nutritional Biochemistry* 23 (7): 733–740.
- Xu, W., R. Shao in J. Xiao. 2016. »Is There Consistency Between the Binding Affinity and Inhibitory Potential of Natural Polyphenols as α -Amylase Inhibitors?« *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56 (10): 1630–1639.
- Ye, Jianhui, F. Fan, X.-Q. Xu in Y.-R. Liang. 2013. »Interactions of Black and Green Tea Polyphenols with Whole Milk.« *Food Research International* 53 (1): 449–455.
- Yuda, N., M. Tanaka, M. Suzuki, Y. Asano, H. Ochi in K. Iwatsuki. 2012. »Polyphenols Extracted from Black Tea (*Camellia sinensis*) Residue by Hot-Compressed Water and Their Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase *in vitro*.« *Journal of Food Science* 77 (12): H254– H261.

Antioksidativno in protivnetno delovanje laškega smilja

Saša Kenig

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*

Zala Jenko Pražnikar

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Saša Kenig in Zala Jenko Pražnikar

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.11>

Uvod

Povišane ravni kisikovih reaktivnih zvrsti (angl. *reactive oxygen species* – ROS) in kazalnikov vnetja zaznamo pri številnih kroničnih nenalezljivih obolenjih, mednje sodijo debelost, presnovni sindrom, sladkorna bolezen tipa 2, srčno-žilna obolenja idr. Ker so tako ROS kot vnetni biooznakevalci vključeni v samo patogenezo navedenih obolenj, so intervencije, ki regulirajo vnetje in vplivajo na antioksidativni potencial, izjemno zanimive (Sies 2015; Dlugda idr. 2017). Vedno več je dokazov, da lahko specifični rastlinski izvlečki in tudi eterična olja dopolnjujejo terapevtsko delovanje nesteroidnih in tudi steroidnih protivnetnih zdravil (Bacchi idr. 2012), pri čemer vključujejo tako neposredne protivnetne učinke, vplivajo pa tudi na signalne kaskade, ravni citokinov, regulatorne transkripcijske faktorje pa tudi posredno učinkujejo preko nevtralizacije ROS in reaktivnih dušikovih zvrsti. Omenjene reaktivne zvrsti imajo namreč ključno vlogo pri razvoju in ojačanju vnetnih odzivov (Ramsey idr. 2020). Laški smilj ima zaradi številnih fenolnih spojin z izraženimi antioksidativnimi lastnostmi in protivnetnim delovanjem izjemen potencial tako za nevtralizacijo reaktivnih dušikovih in kisikovih zvrsti kot za zniževanje vnetja. V pričujočem poglavju bodo predstavljene raziskave, ki so preučevale antioksidativni in protivnetni potencial izvlečkov laškega smilja,

eteričnega olja laškega smilja ali specifičnih bioaktivnih spojin, izoliranih iz laškega smilja.

Določanje antioksidativnega potenciala

Antioksidativni potencial rastlinskih izvlečkov je mogoče meriti na številne različne načine. Antioksidante namreč delimo na eksogene – prisotne v izvlečkih ali hrani nasploh – ter endogene – tiste, ki jih tvori organizem sam. Zato je lahko antioksidativni potencial izvlečka odvisen od samega antioksidativnega delovanja bioaktivnih spojin, ki so v izvlečku prisotne, lahko pa določene bioaktivne spojine povzročijo odziv organizma, s katerimi telo poviša lastno, endogeno sposobnost borbe proti oksidativnemu stresu (Osredkar 2012). Zdrav organizem ima številne možnosti tvorbe endogenih antioksidantov, ki so lahko encimski, npr. katalaza (CAT), glutation peroksidaza (GPx), glutation reduktaza (GR) in superoksid dismutaza (SOD), ter neencimske beljakovine, predvsem tiste, ki vežejo železo in težke kovine. Možna je tudi tvorba številnih drugih spojin, kot so glutation, sečna kislina, bilirubin, melatonin in poliamini (Mirończuk-Chodakowska idr. 2018); ti so pomembnejši v vodnih okoljih, v celičnih membranah pa imajo pomembno vlogo koencim Q in α -lipoična kislina (Rizzo idr. 2010). Med mehanizme, s katerimi se organizem bori proti oksidativnemu stresu, uvrščamo tudi beljakovine, s katerimi telo odstranjuje oksidativne poškodbe, predvsem so to različni encimi, ki odpravljajo poškodbe na molekuli DNA.

Antioksidativni potencial lahko torej določamo *in vitro* z merjenjem antioksidativnega delovanja samega izvlečka. Tu sta primerni in najpogosteje uporabljeni metodi test DPPH, ki temelji na zmanjšanju absorbance radikala 2,2'-difetil-1-pikrilhidrazila ob prisotnosti antioksidantov (Molyneux 2004), ali test ABTS, pri katerem sprožimo nastajanje obarvanega radikala 2,2'-azobis (3-etilenbenzotiazolin-6-sulfonske kisline), prisotnost antioksidantov pa to reakcijo zavira (Re idr. 1999). Po drugi strani pa lahko odziv celic merimo tako, da celice za določen čas izpostavimo izvlečkom, nato pa merimo količine endogenih antioksidantov. Količine neencimskih antioksidantov določamo s kromatografskimi ali z imunokemijskimi metodami. Pogosto merimo tudi izražanje ali aktivnost encimskih antioksidantov, pri čemer izražanje določamo na ravni mRNA z uporabo kvantitativne verižne reakcije s polimerazo (qPCR) ali na proteinski ravni s testom ELISA. Če želimo določiti encimsko aktivnost, uporabimo ustrezen kolorimetrični test, pri katerem lahko nastaja obarvan produkt ali izginja obarvan substrat.

Kadar nas zanima, ali rastlinski izvleček poveča zmožnost celic za spopadanje z oksidativnim stresom, lahko celice najprej izpostavimo izbranemu izvlečku, nato pa oksidativni stres umetno sprožimo z znanim povzročiteljem nastanja ROS, npr. s terc-butil hidroperoksidom (tBOOH) ali z vodikovim peroksidom. Za tak namen je najpogosteje uporabljena metoda uporaba reagenta DCFH-DA (2',7'-diklorodihidrofluorescein diacetat). Z uporabo reagenta znotraj celic, ob oksidaciji, povzročeni z znotrajceličnimi ROS, nastane produkt, ki močno fluorescira (Rastogi idr. 2010), ob večji prisotnosti endogenih antioksidantov pa je izmerjena fluorescenca nižja. Če pričakujemo, da bo izvleček preprečeval oksidativne poškodbe celičnih membran ali lipoproteinskih delcev, lahko spremljamo obseg lipidne peroksidacije. Za merjenje uporabljamo metodo TBARS, pri kateri produkti lipidne peroksidacije reagirajo s tiobutično kislino (TBA) in tvorijo obarvan produkt (Schimke in Papies 1986). V raziskavah *in vivo* se za določanje odziva telesa na uživanje izvlečkov uporablja iste metode, le da se celokupen antioksidativni potencial ali pa prisotnost posameznega encimskega ali neencimskega endogenega antioksidanta določa v krvnem serumu preiskovancev ali živalskih modelov.

Antioksidativno delovanje laškega smilja – dokazi raziskav *in vitro*

V znanstveni literaturi je mogoče najti številne raziskave, v katerih so primerjali *in vitro* antioksidativni potencial na različne načine pripravljenih izvlečkov laškega smilja. Tako so Kladar idr. (2015) ugotovili, da ima etanolni izvleček višji antioksidativni potencial od eteričnega olja (Kladar idr. 2015), dobro delovanje pa je imel tudi izvleček, pripravljen s superkritičnim ogljikovim dioksidom (Poli idr. 2003). Metanolni izvleček je bil učinkovit pri preprečevanju encimske in neencimske lipidne peroksidacije (Schinella idr. 2002). Izvleček, pripravljen z namakanjem sušene rastline v vroči vodi, je imel nižji antioksidativni potencial kot etanolni izvleček, vendar primerljiv z metanolnim izvlečkom. Če smo rastlino namakali v hladni vodi, se vanjo niso izlužile take spojine, ki bi delovale izrazito antioksidativno (Kramberger idr. 2020). Večinoma se rezultati ujemajo z vsebnostjo fenolnih spojin – za dve ključni antioksidativni spojini v izvlečkih laškega smilja, arzanol in klorogensko kislino, smo pokazali, da se v vodnih izvlečkih klorogenska kislina nahaja v primerljivih koncentracijah kot v izvlečkih, pripravljenih z organskimi topili, medtem ko so z arzanolom bogatejši slednji. Nasprotno imajo eterična olja šibkejšo

antioksidativno delovanje zaradi pomanjkanja spojin z elektron-donor-sko funkcionalno skupino.

Nadalje so izvlečke laškega smilja primerjali tako z drugimi vrstami iz rodu *Helichrysum* kot z različnimi rastlinami, ki jim je že priznan status medicinske rastline. Etanolni izvleček laškega smilja je imel višji antioksidativni potencial kot druge sorodne rastline (Kladar idr. 2015), vodni izvleček pa višji od enako pripravljenega izvlečka peščenega smilja (Kramberger idr. 2021). Pri primerjavi laškega in peščenega smilja smo ugotovili, da laški smilj vsebuje skoraj 50-krat več derivatov arzanola in ostalih pironov, mnogo več hidroksicimetnih kislin ter nekaterih flavonoidov, npr. kemferola ter kvercetina in njegovih derivatov (Kramberger idr. 2021). Laški smilj je imel višji antioksidativni potencial od izvlečkov islandskega lišaja, navadnega lovorja in travniške ivanjščice, primerljiv z navadnim trpotcem, vendar nižji od krvavega mlečnika, regrata in poljskega maka (Kazazic in Djapo 2016).

Za pripravo izvlečkov lahko uporabimo različne dele rastlin. Za laški smilj se je pokazalo, da bo antioksidativni potencial višji, če uporabimo zelene dele rastline in ne samo socvetij (Kramberger idr. 2021). Rezultat je skladen s kemijsko analizo – socvetja namreč vsebujejo manj flavonoidov in fenolnih kislin ter več taninov kot zeleni deli rastline (Węglarz idr. 2022). Višji antioksidativni potencial od eteričnega olja sta imela tudi etanolni in vodni izvleček, pripravljena iz odpadne vode po destilaciji eteričnega olja (Chiocchio idr. 2023; Dzamic idr. 2019). To je izrednega pomena, saj nam nakazuje, da je mogoče s pridom izkoristiti celotno rastlino. Kljub temu da je večina nasadov v prvi vrsti namenjena pridobivanju eteričnega olja za kozmetično industrijo, z izkoriščanjem odpadnih delov lahko zmanjšamo odpad in povečamo hektarski donos. S spremljanjem antioksidativnega potenciala rastlin laškega smilja, ki so bile požete med majem in koncem junija, smo pokazali, da so imeli vodni izvlečki najvišji antioksidativni potencial v sredini junija (Kramberger idr. 2021). Pri tem je treba poudariti, da je bilo to izmerjeno le v eni sezoni in bi bili rezultati ob različnih okoljskih pogojih lahko drugačni, kljub temu pa rezultat nakazuje pomembnost izbire časa žetja.

Antioksidativno delovanje laškega smilja – dokazi raziskav na celičnih in živalskih modelih

Pri zaužitju izvlečka je pomembno predvideti, ali bo po absorpciji v črevesju ohranil svoje lastnosti, saj vemo, da se le določene spojine absorbirajo v krvni obtok in lahko pred oksidativnim stresom ščitijo notranje

organe. Na modelu, pripravljenem iz črevesnih celic, je bilo pokazano, da izvleček laškega smilja ohrani antioksidativno delovanje tudi po prehodu čez celični monosloj (Furger idr. 2022).

Z uporabo celičnih modelov smo ugotovili, da izvleček laškega smilja deluje zaščitno pred oksidativnim stresom, sproženim s tBOOH (Kramberger idr. 2021). Tako kožne kot črevesne in limfocitne celice, ki so bile izpostavljene izvlečku smilja, so namreč po dodatku tBOOH vsebovale manj ROS. Delno je to mogoče pripisati povišanemu izražanju antioksidativnih encimov, saj je laški smilj v kožnih celicah povzročil povišano izražanje SOD, GR in CAT, pri črevesnih celicah izražanje SOD, pri limfocitih pa izražanje GR in SOD (Kramberger idr. 2021). Za arzanol, ki je bil ena ključnih antioksidativnih spojin, izoliranih iz laškega smilja, so Rosa idr. (2011) pokazali, da deluje zaščitno pred z bakrovimi ioni sproženo lipidno peroksidacijo lipoproteinskih delcev nizke gostote (angl. *low density lipoprotein* – LDL), kar je pomembno, saj ravno oksidirani delci LDL močno pospešujejo proces ateroskleroze (Rosa idr. 2011). Ista spojina je preprečila tudi oksidacijo maščobnih kislin ter holesterola v membranah fibroblastov in črevesnih celic (Rosa idr. 2011) ter lipidno peroksidacijo, določano z metodo TBARS v kožnih celicah (Piras idr. 2024). Po izpostavitvi oligodendrocitov klorogenski kislini (La Rosa idr. 2023) so izmerili znižane količine ROS, v jetrnih celicah pa povišano tvorbo glutaciona (Granado-Serrano idr. 2007). Pri primerjavi eteričnega olja laškega smilja z nekaterimi drugimi eteričnimi olji, in sicer iz klinčkov, kopaibe in zimzelene gaulterije (Cebollada idr. 2024), se je izvleček iz laškega smilja izkazal za najučinkovitejšega pri lovljenju radikala dušikovega oksida (NO), merjenega z Griesovim reagentom. Prav tako je bila po izpostavitvi laškemu smilju najnižja vrednost NO-radikala izmerjena v celicah, pri katerih je bila proizvodnja NO sprožena z IFN- γ (Cebollada idr. 2024).

Raziskav na živalskih modelih, ki bi preučevale antioksidativne učinke izvlečkov iz laškega smilja, ni, a nekaj uporabnih informacij lahko vseeno dobimo iz preučevanja posameznih bioaktivnih spojin, ki so značilne za laški smilj. Izražanje SOD se je npr. povišalo v nevronih pri podganah, ki jim je bila pet dni intraperitonealno dodajana klorogenska kislina, hkrati pa je bilo opaženo tako zmanjšanje koncentracije ROS kot lipidne peroksidacije (Lee idr. 2020). Povišanje koncentracij glutaciona so izmerili pri podganah, ki so klorogensko kislino uživale teden dni (Liu idr. 2020). Izražanje antioksidativnih encimov CAT in SOD se je izrazito povišalo

tudi v možganskem tkivu pri podganah, ki so štiri dni prejemale tilirozid (Alkoholifi idr. 2023). Pri miših s stimulirano mikoplazemsko pljučnico je dodajanje pinocembrina z nosnimi kapljicami zmanjšalo oksidativni stres – v pljučih sta se znižali količina NO ter aktivnost mieloperoksidaže in dveh označevalcev oksidativnega stresa, reduciranega glutationa in malondialdehida, povišalo pa se je izražanje SOD. S tem so se izboljšali tudi simptomi pljučnice (Qian in Xue 2022). Ista spojina je skoraj enake učinke povzročila tudi v srčnem tkivu in krvnem obtoku pri podganah po sprožitvi motenj srčnega ritma z izoproterenolom (Chen idr. 2022).

Antioksidativno delovanje – klinične raziskave

Antioksidativno delovanje laškega smilja pri ljudeh smo preučevali na UP. Ko so preiskovanci, stari 40–65 let, z vsaj dvema komponentama pre-snovnega sindroma, uživali skodelico vodnega izvlečka laškega smilja (1 g suhe rastline/2 dL vroče vode) zaporednih 28 dni, se je nekoliko povišala sposobnost lovljenja prostih radikalov, izmerjena v njihovih krvnih serumih. Ta je še narasla v 14 dneh po koncu intervencije, torej po zaključnem vsakodnevnem uživanju. Ob tem se je v njihovih limfocitih izrazilo povišalo izražanje GR, nekoliko pa tudi izražanje SOD (Kenig idr. 2022).

Antioksidativno delovanje rastlinskih bioaktivnih spojin v telesu ima različne funkcionalne posledice, delujejo npr. hepatoprotektivno, nevroprotektivno, predvsem pa lahko znižujejo vnetje. V raziskavah *in vivo* so zato večinoma spremljane te funkcionalne spremembe, ne pa samo antioksidativno delovanje; v nadaljevanju je zato podrobneje predstavljeno protivnetno delovanje laškega smilja.

Protivnetno delovanje

Vnetje je v splošnem odziv (navadno lokalni) na poškodbo v tkivu, pri čemer je fiziološki pomen vnetne reakcije odstranitev povzročitelja vnetja ter popravilo prizadetega tkivnega območja. Najprej se v odzivu na okužbo ali poškodbo aktivira prirojena ali naravna imunost, in sicer z akutnim vnetjem. Na mestu vnetja so prvi nevtrofilci, njim sledijo monociti, ki hitro dozoriijo v makrofage. Vnetne procese sprožijo različni mediatorji vnetja, citokini in kemokini ter tudi ROS, ki jih proizvajajo nevtrofilci in makrofagi.

Razlikujemo akutno vnetje, ki je povsem naraven mehanizem obrambe našega organizma, in kronično vnetje, ki se pojavi, ko so njegovi povzročitelji prisotni daljši čas. Povzročitelji so lahko virusi, bakterije, alergeni ali vztrajajoča aktivacija proinflammatoryh molekul. Kronično vnetje vzdržujejo

predvsem dolgoživi tkivni makrofagi in monociti, ki iz krvnih žil vstopajo v vnetišče, kjer dozori v makrofage. Znano je, da kronično vnetje izčrpa imunski sistem in povzroča poškodbe tkiv ter je značilno za vrsto različnih bolezenskih stanj z avtoimunsko etiologijo, a je tudi sestavni del patologij različnih kroničnih nenalezljivih bolezni (Libby 2007).

Celično in molekularno gledano je vnetje izredno kompleksen biološki proces, ki vključuje odziv številnih encimov; izpostaviti velja fosfolipazo A₂ (PLA₂), ki je ključen encim za sproščanje arahidonske maščobne kisline iz fosfolipidnega dvosloja, ter ciklooksigenazo-1 in -2 (COX-1 in COX-2), 5-lipoksigenazo (5-LO) in mikrosomalno PGE₂-sintazo (mPGES), ki sodelujejo pri sintezi prostaglandinov, tromboksanov in levkotrienov, pomembnih mediatorjev vnetja (Kothavade idr. 2013). Dodatno pri vnetnem odzivu zaznamo izraženi tudi tirozin-kinazo (TK) in protein-kinazo C (PKC) (Dias 2021). Povečano sproščanje arahidonske maščobne kisline in tvorjenje vnetnih mediatorjev v končni fazi vodita do tvorbe ter sproščanja citokinov in kemokinov iz aktiviranih celic (monocitov, makrofagov in tudi limfocitov). Pri celotnem procesu ne moremo mimo jedrnega faktorja kapa B (NFκB), ki se v celicah hitro odzove v primeru imunskih in vnetnih reakcij ter doseže svoj učinek z izražanjem provnetnih molekul (Lee in Burckart 1998). Med citokini so izrazito provnetni IL-1, TNF-α, IL-2, IFN-γ in IL-12. Citokina IL-1 (α in β) in TNF-α nastajata v vnetišču in sinergistično spodbujata vnetne procese. Prvi, bodisi sam ali pa v kombinaciji z drugim, stimulira tudi nastajanje prostaglandina PGE₂, s čimer znižuje prag bolečine. Učinki citokinov so pogosto pleiotropni, kar pomeni, da imajo posamezni med njimi različne, lahko celo nasprotujoče si učinke. Pogosto delujejo tako, da sprožijo točno določeno zaporedje nastajanja in izločanja ostalih citokinov, pri čemer lahko nato učinkujejo antagonistično, aditivno ali sinergistično (Dinarello 2000).

Na podlagi epidemioloških raziskav je bilo pokazano, da lahko s prehrano – tako preventivno kot tudi terapevtsko – učinkovito vplivamo na kronično vnetje nizke stopnje. Preko številnih modelov *ex vivo* in *in vivo* je bilo pokazano, da so prav številne fenolne spojine ene izmed glavnih komponent prehrane s protivnetnimi lastnostmi. Določeni flavonoidi lahko delujejo neposredno na specifične encime, ki se odzovejo na vnetne procese in tako znižajo vnetno stanje, ali pa delujejo posredno preko vezave na NFκB in posledično vplivajo na spremenjeno izražanje specifičnih genov. Za kvercetin je bilo npr. pokazano, da inhibira delovanje tako COX kot 5-LO in na tak način vpliva na zmanjšano produkcijo

prostaglandinov, tromboksanov in levkotrienov; na drugi strani pa inhibira tudi delovanje NF κ B, kar rezultira v znižanem izražanju genov, ki so prav tako povezani z vnetim stanjem (Krauth idr. 2023).

Ker je laški smilj bogat rezervoar bioaktivnih spojin s protivnetnim delovanjem, je bilo njegovo protivnetno učinkovanje pogosto predmet številnih raziskav – tako izvlečkov laškega smilja kot poparkov in tudi eteričnega olja.

Določanje provnetnih in protivnetnih biooznačevalcev

Pri raziskovanju protivnetnih lastnosti rastlinskih izvlečkov in eteričnih olj se lahko poslužujemo različnih modelov *in vitro* in *in vivo* ali pa izvedemo klinične raziskave na ljudeh. Pri modelih *in vitro* se v raziskavah največkrat uporabljajo stimulirani oz. aktivirani monociti ali nevtrofilci (predhodno izolirani iz človeške ali živalske krvi), ki jih nato izpostavimo fenolnim spojinam ali rastlinskim izvlečkom ter merimo aktivnost posameznih encimov in/ali tvorbo levkotrienov, prostaglandinov ali tromboksanov. Poleg tega se v raziskavah poslužujemo tudi specifičnih celičnih linij; kot model za primarne monocite in/ali makrofage se pogosto uporablja celična linija THP-1 (Nile in Park 2013). Večkrat uporabljena je tudi celična linija makrofagov RAW 264.7 (Ni idr. 2020). Z razvojem »omik« lahko protivnetno delovanje na celičnih linijah raziskujemo tudi preko analize celičnega transkriptoma, proteoma ali metaboloma. Pri tem lahko uporabimo različne celične linije, pogosto se odločamo ali za celične linije imunskega sistema ali črevesne ali kožne celične linije – celice, ki so v največji meri v stiku z bioaktivnimi spojinami rastlinskih izvlečkov tudi v realnem okolju.

Pri preučevanju protivnetnega delovanja specifičnih bioaktivnih spojin ali izvlečkov se lahko raziskovalci osredotočijo le na posamezno komponento vnetja. Kot primer izpostavljamo denaturacijo beljakovin – proces, ki pogosto spremlja vnetje. Preučevanje protektivne oz. zaščitne vloge rastlinskih izvlečkov v primeru toplotno povzročene denaturacije albumina je le eden izmed modelov, ki je bil uporabljen pri preučevanju izvlečkov laškega smilja v povezavi s protivnetnim delovanjem (Bojilov idr. 2023).

Najpogosteje uporabljen model *in vivo* za preučevanje organskih izvlečkov laškega smilja in eteričnega olja je živalski model, odziven na akutno sprožitev vnetnega procesa (Nile in Park 2013). V splošnem se za sprožitev vnetnega odgovora pri modelnih organizmih (miših, podganah)

uporabljajo provnetni dejavniki, npr. lipopolisaharid ali formalin, uporabljajo se tudi očetna kislina in drugi sprožilci vnetja. Najbolj preučeni modeli *in vivo* tako vključujejo s karagenanom povzročen plevritis pri podganah, s histaminom induciran edem na podganjih/mišjih šapah in s formalinom induciran edem v mišjih ušesih (Morris 2003; Sala idr. 2002; Sala, Recio, Schinella idr. 2003; Sala, Recio, Schinella, Máñez idr. 2003). Pri preučevanju učinkovanja izvlečkov laškega smilja ali eteričnega olja pa nato spremljamo protivnetno delovanje ali posamezne bioaktivne spojine ali celotnega izvlečka oz. eteričnega olja po zaužitju ali intraperitonealnem vnosu. Lahko merimo velikost edema, otekline, rdečine ali pa določamo aktivnost specifičnih encimov ali tvorbo vnetnih mediatorjev, pri čemer vedno primerjamo netretiran živalski model s tretiranim.

Klinične raziskave, ki so preučevale protivnetno delovanje laškega smilja, so se osredotočale na posameznike s presnovnim sindromom, pri katerih je prisotno kronično vnetje nizke stopnje (Petelin idr. 2022), ali pa na preiskovance z bakterijskim ali nebakterijskim vnetjem prostate (Di Vico idr. 2020; Galeone idr. 2012). V kolikor preučujemo protivnetno delovanje posameznih rastlinskih izvlečkov ali njihovih bioaktivnih spojin, vedno iščemo posameznike s povišano ravno vnetnih biooznačevalcev.

Protivnetno delovanje laškega smilja – dokazi raziskav *in vitro*

V raziskavah *in vitro* so raziskovalci večinoma preučevali zgolj posamezne bioaktivne spojine, izolirane iz laškega smilja, in ne celotnega izvlečka. Ko govorimo o izoliranih posameznih spojinah laškega smilja, lahko z gotovostjo trdimo, da je v organskih izvlečkih laškega smilja arzanol glavna protivnetna spojina. Učinkuje tako, da zavira številne encime, ki se odzivajo na vnetje, najmočnejše mPGES-1 (Bauer idr. 2011). Zavira pa tudi jedrni transkripcijski faktor NFκB, kar so raziskovalci dokazali na stimuliranih monocitih, izoliranih iz človeške krvi (Kothavade idr. 2013; Appendino idr. 2007). Arzanol se je poleg tega najmočnejše vezal na albumin in zaščitil beljakovine pred samo denaturacijo, kar je tudi pomemben protivnetni mehanizem (Bojilov idr. 2023). Nima pa protivnetnih lastnosti le arzanol; aktivacijo NFκB je zaviral tudi helipiron (Appendino idr. 2007). Druge spojine s protivnetnim delovanjem laškega smilja so še acetofenoni in flavonoidi (pinocembrin, gnafralin). Araceli Sala, Carmen M. Recio, Guillermo R. Schinella, Salvador Máñez idr. (2003) so pokazali, da sta tako 4-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil)acetofenon kot 4-hidroksi-3-(2-hidroksi-3-izopentenil)acetofenon sposobna zavreti tvorbo levkotriena B₄, medtem ko je samo prvi zaviral delovanje encima COX-1.

Flavonoida gnafalin in pinocembrin, izolirana iz metanolnega izvlečka *H. italicum*, sta tudi zavrta tvorbo levkotriena B₄, medtem ko je flavonoid tilirozid spodbujal presnovo arahidonske kisline. Ne smemo pa mimo fenolnih kislin, ki imajo tudi dokazano protivnetne lastnosti – gre za klorogenske in kavne kisline, katerih učinke so raziskovali številni raziskovalci iz najrazličnejših rastlinskih izvlečkov. Luyen idr. (2015) so poročali o protivnetnem delovanju klorogenske kisline na mišjih makrofagih RAW264.7, stimuliranih z lipopolisaharidom (Luyen idr. 2015). Izkazalo se je, da je klorogenska kislina inhibitorno delovala na COX-2, pri čemer je bila opažena tudi zmanjšana tvorba TNF- α (Huss idr. 2002). Dodatno so Yu idr. (2010) poročali o značilni inhibiciji krompirjeve 5-LO s kavno kislino, kar kaže, da tudi kavna kislina deluje protivnetno (Yu idr. 2010). Protivnetno delovanje vodnega izvlečka laškega smilja je bilo na podlagi celostne transkriptomске analize raziskano le v eni raziskavi *in vitro*, in sicer Katje Kramberger idr. (2022), ki smo jo izvedli na UP FVZ v sodelovanju z Medicinsko fakulteto Univerze v Ljubljani. Analiza transkriptoma primarnih črevesnih celic CCD112CoN po tretiranju celic s poparkom *H. italicum* subsp. *italicum* je poleg drugih bioloških poti pokazala tudi na spremenjeno signaliziranje z interlevkini (Kramberger idr. 2022). Poparek laškega smilja je v največji meri vplival na povečano izražanje gena *IL33*, ki kodira z jedrom povezan citokin iz družine IL-1. Raziskave na genetsko spremenjenih miših z debelostjo in diabetesom (ob/ob) so pokazale, da rekombinantni IL-33 zmanjša adipoznost, zniža glukozo na tešče in izboljša toleranco za glukozo ter inzulin, kar nakazuje, da ima IL-33 zaščitno vlogo pri razvoju vnetja maščobnega tkiva pri debelosti (Miller idr. 2010). Molofsky idr. (2015) predvidevajo, da IL-33 ohranja arhitekturo in funkcijo celic z izraženimi receptorji za IL-33, kar zmanjšuje infiltracijo adipoznega tkiva z vnetnimi limfociti in mieloidnimi celicami, ki povzročajo rezistenco na inzulin in presnovni sindrom. Izpostaviti pa velja, da je bilo protivnetno delovanje dokazano tudi za eterično olje laškega smilja. In sicer je bilo na mišjih celicah mikroglije (BV-2) pokazano zmerno inhibitorno delovanje eteričnega olja laškega smilja na 5-LO in presnovo arahidonske kisline (Cebollada idr. 2024). Protivnetno delovanje eteričnega olja laškega smilja lahko pripišemo α -pinenu (Rufino idr. 2014) in limonenu (Souza idr. 2003), monoterpenoma z dokazanim protivnetnim delovanjem, ki sta v precejšnjem deležu prisotna v eteričnem olju laškega smilja.

Protivnetno delovanje laškega smilja – dokazi raziskav *in vivo*

Na živalskih modelih *in vivo* so raziskovalci v največji meri preučevali protivnetno delovanje spojin, ki so bile učinkovite v testih *in vitro*. Julia Bauer idr. (2011) so potrdili protivnetno delovanje arzanola *in vivo*, saj je le-ta močno zavrl vnetni odgovor na s karagenanom povzročen plevritis pri podganah (Bauer idr. 2011). V veliki meri in statistično značilno je znižal tvorbo eksudata, infiltracijo celic ter vrednosti prostaglandina E₂, F_{1α} in levkotriena B₄. Protivnetno delovanje *in vivo* so Araceli Sala idr. (2002) potrdili tudi za metanolne izvlečke *H. italicum* oz. posamezne frakcije izvlečka, ki so zavrli z 12-O-tetradekanoilforbol-13-acetatom (TPA) povzročen edem v mišjih ušesih oz. s PLA₂ ali s serotoninom povzročen edem v mišjih šapah. Preučevali so tudi vpliv izvlečkov na kronično vnetje tako, da so večkrat nanесли 2 μg TPA na uho miši. Metanolni izvleček je statistično značilno zmanjšal edem in infiltracijo levkocitov. Izmed flavonoidov je bil tilirozid najučinkovitejši na modelu kroničnega vnetja (Sala, Recio, Schinella idr. 2003). Na modelu kroničnega vnetja tako 4-hidroksi-3-(2-hidroksi-3-izopentenil)acetofenon kot 12-hidroksitreton nista preprečila nastanka edema, sta pa oba znižala aktivnost mieloperoksidaze (Sala, Recio, Schinella idr. 2003). Vzporedno so raziskovalci testirali tudi protibolečinsko delovanje 4-hidroksi-3-(2-hidroksi-3-izopentenil)acetofenona ob aplikaciji očetne kisline mišim. Omenjeni acetofenon je zmanjšal število zvijanj miši v primerjavi s kontrolo tako po peroralnem kot intraperitonealnem vnosu, pri čemer je bil učinek podoben aspirinu. Aplikacija očetne kisline namreč povzroči sproščanje prostaciklina, ki ga sintetizira COX-1, analgetični učinek pa je posledica zaviranja delovanja tega encima (Sala, Recio, Schinella idr. 2003).

Protivnetno delovanje laškega smilja – klinične raziskave

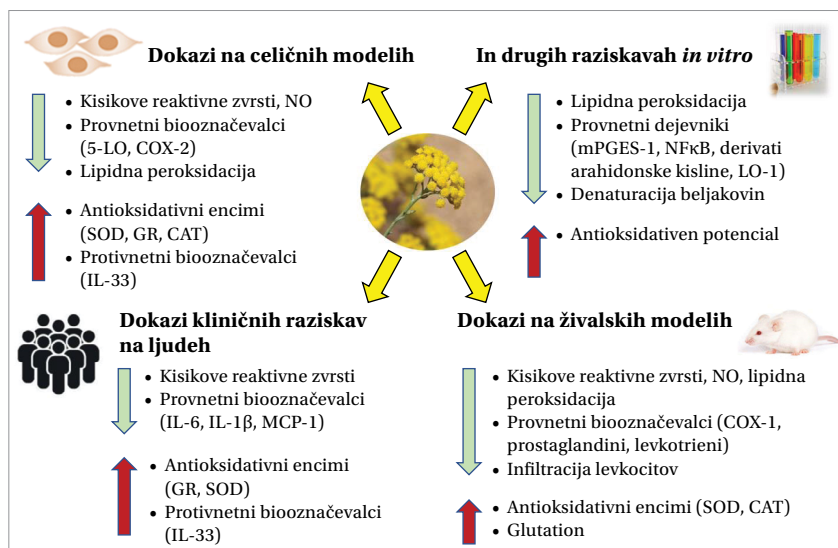
Protivnetno delovanje laškega smilja je bilo preučevano v nekaj kliničnih raziskavah. Graziana Galeone idr. (2012) so preučevali protivnetno delovanje Proxelan®-a (Sala Bolognese, Italija) v obliki svečk pri preiskovancih z vnetjem prostate v primerjavi z zdravljenjem z antibiotiki (Galeone idr. 2012). V medicinskem izdelku Proxelan® sicer ni bil le laški smilj, temveč tudi bosvelija (*Boswellia serrata*), azijska penica (*Centella asiatica*) in semena buče (*Cucurbita pepo*). Učinkovitost zdravljenja z izdelkom Proxelan® in antibiotiki je bilo primerljivo, a je pri preiskovancih, ki so bili deležni Proxelan®-a, prišlo do dvakratnega izboljšanja simptomov, povezanih s kroničnim vnetjem prostate, in urinarnih simptomov glede na skupino, ki je prejemale antibiotik (p = 0,028). Proxelan® so preučevali

tudi Di Vico idr. (2020), in sicer pri bolnikih z diagnosticiranim ne bakterijskim vnetjem prostate ali s sindromom kronične bolečine v medenici. Po enomesečni intervenciji so raziskovalci opazili značilno zmanjšanje urinskih simptomov in bolečine ter boljšo kakovost življenja preiskovancev (v vseh primerih je $p < 0,05$). Dodatno je bilo ugotovljeno, da se je po končani raziskavi levkocitospermija značilno znižala, koncentracije IL-6 so se znižale za približno 12 %, medtem ko se vrednosti IL-8 niso statistično značilno spremenile. Proxelan® se je v raziskavi izkazal za učinkovitega pri lajšanju bolečine, najverjetneje preko zniževanja vnetja.

V raziskavi, ki smo jo izvedli na UP (Petelin idr. 2022), je bila preučevana učinkovitost poparka laškega smilja (v primerjavi s peščenim smiljem) na integriteto črevesne stene in s tem povezanim vnetjem (Petelin idr. 2022). Dokazano je bilo, da enomesečna intervencija z vsakodnevnim uživanjem poparka laškega smilja značilno zmanjša propustnost črevesja in vnetje na podlagi merjenih serumskih biooznačevalcev. Značilno so se znižale serumska koncentracija zonulina kot tudi vrednosti pro-vnetnih citokinov IL-6, IL-1 β in MCP-1; na drugi strani pa so se značilno povišale serumske vrednosti IL-33 (Petelin idr. 2022). Učinki IL-33 so pleiotropni, IL-33 lahko deluje tako pro- kot protivnetno (Molofsky idr. 2015). Njegovo delovanje v povezavi s presnovnimi boleznimi je zaščitno, saj najverjetneje vpliva na preprečevanje vnetja v maščobnem tkivu (Miller idr. 2010). Poleg neposrednega vpliva poparka laškega smilja na vnetne procese smo Ana Petelin idr. (2022) dokazali tudi učinkovitost poparka laškega smilja na integriteto črevesne stene in na sestavo črevesne mikrobne združbe, kar posredno pripomore z znižanjem vnetja oz. vnetnih biooznačevalcev (Petelin idr. 2022). V celotni raziskavi so bili poparki laškega smilja primerjani s poparki peščenega smilja, pri čemer je imel poparek slednjega bistveno manjši učinek na vnetne biooznačevalce kroničnega vnetja in na biooznačevalec črevesne integritete (Petelin idr. 2022). Večjo učinkovitost laškega smilja gre najverjetneje pripisati prisotnosti arzanola, izjemno močni protivnetni molekuli, ki je ne zaznamo v peščenem smilju. Je pa učinek poparka smilja na vnetje kompleksen proces, pri čemer ne smemo zanemariti učinkovanja bioaktivnih spojin laškega smilja preko črevesne mikrobne združbe.

Zaključek

Z različnimi metodami je bilo torej pokazano, da izvlečki iz laškega smilja izkazujejo odlično antioksidativno delovanje, kar je glede na njihovo kemijsko sestavo tudi pričakovano (slika 1). Pomembna je ugotovitev, da



Slika 1 Antioksidativno in protivnetno delovanje laškega smilja na celičnih in živalskih modelih ter v okviru kliničnih raziskav.

Legenda CAT – katalaza; COX – ciklooksigenaza; GR – glutation reduktaza; IL – interlevkin; LO – lipooksigenaza; MCP – monocitni kemoatraktivni protein; mPGES-1 – mikrosomalna sintaza prostaglandinov; NFκB – jedrni faktor kapa B; NO – radikal dušikovega oksida; SOD – superoksid dizmutaza

se antioksidativno delovanje odrazi tudi pri raziskavah *in vivo*. Prav tako lahko zaključimo, da izvlečki laškega smilja delujejo protivnetno, tako na celičnih modelih kot na živalskih modelih in tekom kliničnih raziskav (slika 1). Delno je lahko tako delovanje neposredna posledica lovljenja prostih radikalov, možni pa so tudi drugi mehanizmi. Zaviranje kroničnega vnetja je pomembno, saj je to povezano z razvojem številnih kroničnih nenalezljivih bolezni, značilnih za današnjo družbo. Nadaljevanje raziskovanja učinkov laškega smilja, predvsem v kliničnih raziskavah, je torej priporočljivo.

Viri

- Alkoholifi, F., S.Devi, M. Aldawsari idr. 2023. »Effects of Tiliroside and Lisuride Co-Treatment on the PI3K/Akt Signal Pathway: Modulating Neuroinflammation and Apoptosis in Parkinson's Disease.« *Biomedicines* 11 (10): 2735.
- Appendino, G., M. Ottino, N. Marquez idr. 2007. »Arzanol, an Anti-Inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol Alpha-Pyrone from Helich-

- rysum italicum ssp. microphyllum.« *Journal of Natural Products* 70 (4): 608–612.
- Bacchi, S., P. Palumbo, A. Sponta in M. F. Coppolino. 2012. »Clinical Pharmacology of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Review.« *Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medical Chemistry* 11 (1): 52–64.
- Bauer, J., A. Koeberle, F. Dehm idr. 2011. »Arzanol, a Prenylated Heterodimeric Phloroglucinyl Pyrone, Inhibits Eicosanoid Biosynthesis and Exhibits Anti-Inflammatory Efficacy In Vivo.« *Biochemical Pharmacology* 81 (2): 259–268.
- Bojilov, D., S. Manolov, S. Ahmed idr. 2023. »HPLC Analysis and In Vitro and In Silico Evaluation of the Biological Activity of Polyphenolic Components Separated with Solvents of Various Polarities from *Helichrysum italicum*.« *Molecules* 28 (17): 6198.
- Cebollada, P., N. G. M. Gomes, P. B. Andrade and V. López. 2024. »An Integrated *in vitro* Approach on the Enzymatic and Antioxidant Mechanisms of Four Commercially Available Essential Oils (*Copaifera officinalis*, *Gaultheria fragrantissima*, *Helichrysum italicum*, and *Syzygium aromaticum*) Traditionally Used Topically for Their Anti-Inflammatory Effects.« *Frontiers in Pharmacology* 14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1310439>.
- Chen, X., W. Wan, Q. Ran idr. 2022. »Pinocembrin Mediates Antiarrhythmic Effects in Rats with Isoproterenol-Induced Cardiac Remodeling.« *European Journal of Pharmacology* 920:174799.
- Chiocchio, I., M. Mandrone, M. Tacchini, A. Guerrini in F. Poli. 2023. »Phytochemical Profile and In Vitro Bioactivities of Plant-Based By-Products in View of a Potential Reuse and Valorization.« *Plants* 12 (4): 795.
- Di Vico, T., J. Durante, C. Polito idr. 2020. »Pumpkin Seeds, Centella Asiatica, Boswellia, Helichrysum, Acetate Vitamin E, Melaleuca Alternifolia and Hyaluronic Acid Phytocomplex Monotherapy Effects in Patients with Chronic Pelvic Pain Syndrome.« *Minerva Urologica e Nefrologica* 72 (2): 236–242.
- Dias, M. C., D. C. G.A Pinto in A. M. S. Silva. 2021. »Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity.« *Molecules* 26 (17): 5377.
- Dinarello, C. A. 2000. »Proinflammatory Cytokines.« *Chest Journal* 118 (2): 503–508.
- Dludla, P. V., E. Joubert, C. J. F. Muller, J. Louw in R. Johnson. 2017. »Hyperglycemia-Induced Oxidative Stress and Heart Disease-Cardioprotective Effects of Rooibos Flavonoids and Phenylpyruvic Acid-2- O- β -D-Glucoside.« *Nutrition and Metabolism* 14 (1): 45.
- Dzamic, A., K. Mileski, A. Ciric, M. Ristic, M. Soković in P. Marin. 2019. »Essential Oil Composition, Antioxidant and Antimicrobial Properties of

- Essential Oil and Deodorized Extracts of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don.« *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 22 (2): 493–503.
- Furger, C., C. Gironde, M. Rigal, C. Dufour in D. Guillemet. 2022. »Cell-Based Antioxidant Properties and Synergistic Effects of Natural Plant and Algal Extracts Pre and Post Intestinal Barrier Transport.« *Antioxidants* 11 (3): 565.
- Galeone, G., R. Spadavecchia, M. T. Balducci in V. Pagliarulo. 2012. »[The role of Proxelan in the treatment of chronic prostatitis. Results of a randomized trial].« *Minerva Urologica e Nefrologica* 64 (2): 135–141.
- Granado-Serrano, A. B., M. A. Martín, M. Izquierdo-Pulido, L. Goya, L. Bravo in S. Ramos. 2007. »Molecular Mechanisms of (-)-Epicatechin and Chlorogenic Acid on the Regulation of the Apoptotic and Survival/Proliferation Pathways in a Human Hepatoma Cell Line.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (5): 2020–2027.
- Huss, U., T. Ringbom, P. Perera, L. Bohlin in M. Vasänge. 2002. »Screening of Ubiquitous Plant Constituents for COX-2 Inhibition with a Scintillation Proximity Based Assay.« *Journal of Natural Products* 65 (11): 1517–1521.
- Kazazic, M., in M. Djapo. 2016. »Antioxidant Activity of Water Extracts of Some Medicinal Plants from Herzegovina Region.« *International Journal of Pure and Applied Bioscience* 4 (2): 85–90.
- Kenig, S., K. Kramberger, K. Šik Novak idr. 2022. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench Infusions in Reversing the Traits of Metabolic Syndrome: A Double-Blind Randomized Comparative Trial.« *Food and Function* 13 (14): 7697–7706.
- Kladar, N. V., G. T. Anačkov, M. M. Rat idr. 2015. »Biochemical Characterization of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum* (Asteraceae) from Montenegro: Phytochemical Screening, Chemotaxonomy, and Antioxidant Properties.« *Chemistry and Biodiversity* 12 (3): 419–431.
- Kothavade, P. S., D. M. Nagmoti, V. D. Bulani in A. R. Juvekar. 2013. »Arzanol, a Potent mPGES-1 Inhibitor: Novel Anti-Inflammatory Agent.« *Scientific World Journal*: 986429.
- Kramberger, K., Z. Jenko Pražnikar, A. Baruca Arbeiter, A. Petelin, D. Bandelj in S. Kenig. 2021. »A Comparative Study of the Antioxidative Effects of *Helichrysum italicum* and *Helichrysum arenarium* Infusions.« *Antioxidants* 10 (3): 380.
- Kramberger, K., D. Barlič-Maganja, D. Bandelj idr. 2020. »HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS Determination of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity Comparison of the Hydroalcoholic and Water Extracts from Two.« *Metabolites* 10 (10): 403.
- Kramberger, K., D. Barlič-Maganja, Z. J. Pražnikar idr. 2022. »Whole Transcriptome Expression Array Analysis of Human Colon Fibroblasts Cul-

- ture Treated with *Helichrysum italicum* Supports Its Use in Traditional Medicine.« *Journal of Ethnopharmacology* 296 (1): 115505.
- Krauth, V., F. Bruno, S. Pace idr. 2023. »Highly Potent and Selective 5-Lipoxygenase Inhibition by New, Simple Heteroaryl-Substituted Catechols for Treatment of Inflammation.« *Biochemical Pharmacology* 208 (9): 115385.
- La Rosa, G., C. Sozio, L. Pipicelli idr. 2023. »Antioxidant, Anti-Inflammatory and Pro-Differentiative Effects of Chlorogenic Acid on M03-13 Human Oligodendrocyte-Like Cells.« *International Journal of Molecular Sciences* 24 (23): 16731.
- Lee, J. I., in G. J. Burckart. 1998. »Nuclear Factor Kappa B: Important Transcription Factor and Therapeutic Target.« *Journal of Clinical Pharmacology* 38 (11): 981–993.
- Lee, T. K., I. J. Kang, B. Kim idr. 2020. »Experimental Pretreatment with Chlorogenic Acid Prevents Transient Ischemia-Induced Cognitive Decline and Neuronal Damage in the Hippocampus through Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Effects.« *Molecules* 25 (16): 3578.
- Libby, P. 2007. »Inflammatory Mechanisms: The Molecular Basis of Inflammation and Disease.« *Nutrition Reviews* 65 (3): S140–S146.
- Liu, D., H. Wang, Y. Zhang in Z. Zhang. 2020. »Protective Effects of Chlorogenic Acid on Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury Rats by Regulating Oxidative Stress-Related Nrf2 Pathway.« *Drug, Design, Development and Therapy* 14:51–60.
- Luyen, B. T., B. H. Tai, N. P. Thao idr. 2015. »Anti-Inflammatory Components of Chrysanthemum Indicum Flowers.« *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 25 (2): 266–269.
- Miller, A. M., D. L. Asquith, A. J. Hueber idr. 2010. »Interleukin-33 Induces Protective Effects in Adipose Tissue Inflammation During Obesity in Mice.« *Circulation Research* 107 (5): 650–658.
- Mirończuk-Chodakowska, I., A. M. Witkowska in M. E. Zujko. 2018. »Endogenous Non-Enzymatic Antioxidants in the Human Body.« *Advances in Medical Sciences* 63 (1): 68–78.
- Molofsky, A. B., A. Savage in R. M. Locksley. 2015. »Interleukin-33 in Tissue Homeostasis, Injury and Inflammation.« *Immunity* 42 (6): 1005–1019.
- Molyneux, P. 2004. »The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant.« *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26 (2): 211–219.
- Morris, C. J. 2003. »Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse.« *Methods in Molecular Biology* 225:115–121.

- Ni, L., L. Wang, X. Fu idr. 2020. »In Vitro and In Vivo Anti-Inflammatory Activities of a Fucose-Rich Fucoidan Isolated from *Saccharina Japonica*.« *International Journal of Biological Macromolecules* 156:717–729.
- Nile, S. H., in S. W. Park. 2013. »Optimized Methods for In Vitro and In Vivo Anti-Inflammatory Assays and Its Applications in Herbal and Synthetic Drug Analysis.« *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 13 (1): 95–100.
- Osredkar, J. 2012. »Oksidativni stres.« *Zdravniški vestnik* 81 (5): 393–406.
- Petelin, A., K. Šik Novak, M. Hladnik idr. 2022. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench Infusion Consumption Affects the Inflammatory Status and the Composition of Human Gut Microbiota in Patients with Traits of Metabolic Syndrome: A Randomized Comparative Study.« *Foods* 11 (20): 3277.
- Piras, F., V. Sogos, F. Pollastro, G. Appendino in A. Rosa. 2024. »Arzanol, a Natural Phloroglucinol α -Pyrone, Protects HaCaT Keratinocytes Against H.« *Journal of Applied Toxicology* 44 (5): 720–732.
- Poli, F., M. Muzzoli, G. Sacchetti, G. Tassinato, R. Lazzarin in A. Bruni. 2003. »Antioxidant Activity of Supercritical CO₂ Extracts of *Helichrysum italicum*.« *Pharmaceutical Biology* 41 (5): 379–383.
- Qian, J., in M. Xue. 2022. »Pinocembrin Relieves Mycoplasma Pneumoniae Infection-Induced Pneumonia in Mice Through the Inhibition of Oxidative Stress and Inflammatory Response.« *Applied Biochemistry and Biotechnology* 194 (12): 6335–48.
- Ramsey, J. T., B. C. Shropshire, T. R. Nagy, K. D. Chambers, Y. Li in K. S. Korach. 2020. »Essential Oils and Health.« *Yale Journal of Biology and Medicine* 93 (2): 291–305.
- Rastogi, R. P., S. P. Singh, D. P. Häder in R. P. Sinha. 2010. »Detection of Reactive Oxygen Species (ROS) by the Oxidant-Sensing Probe 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein Diacetate in the Cyanobacterium *Anabaena Variabilis* PCC 7937.« *Biochemical and Biophysical Research Communications* 397 (3): 603–707.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang in C. Rice-Evans. 1999. »Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay.« *Free Radical Biology and Medicine* 26 (9–10): 1231–1237.
- Rizzo, A. M., P. Berselli, S. Zava idr. 2010. »Endogenous Antioxidants and Radical Scavengers.« *Advances in Experimental Medicine and Biology* 698:52–67.
- Rosa, A., F. Pollastro, A. Atzeri idr. 2011. »Protective Role of Arzanol Against Lipid Peroxidation in Biological Systems.« *Chemistry and Physics of Lipids* 164 (1): 24–32.

- Rufino, A. T., M. Ribeiro, F. Judas idr. 2014. »Anti-Inflammatory and Chondroprotective Activity of (+)- α -Pinene: Structural and Enantiomeric Selectivity.« *Journal of Natural Products* 77 (2): 264–2639.
- Sala, A., M. C. Recio, G. R. Schinella, S. Máñez, R. M. Giner in J. L. Ríos. 2003. »A New Dual Inhibitor of Arachidonate Metabolism Isolated from *Helichrysum italicum*.« *European Journal of Pharmacology* 460 (2–3): 219–26.
- Sala, A., M. Recio, R. M. Giner idr. 2002. »Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of *Helichrysum Italicum*.« *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 54 (3): 365–71.
- Sala, A., M. C. Recio, G. R. Schinella idr. 2003. »Assessment of the Anti-Inflammatory Activity and free Radical Scavenger Activity of Tiliroside.« *European Journal of Pharmacology* 461 (1): 53–61.
- Schimke, I., in B. Papiés. 1986. »Methodological Aspects of the Determination of Thiobarbituric Acid-Reactive Substances in Plasma.« *Zeitschrift für medizinische Laboratoriumsdiagnostik* 27 (2): 71–75.
- Schinella, G. R., H. A. Tournier, J. M. Prieto, P. Mordujovich de Buschiazzo in J. L. Ríos. 2002. »Antioxidant Activity of Anti-Inflammatory Plant Extracts.« *Life Sciences* 70 (9): 1023–2033.
- Sies, H. 2015. »Oxidative Stress: A Concept in Redox Biology and Medicine.« *Redox Biology* 4:180–283.
- Souza, M. C., A. C. Siani, M. F. Ramos, O. J. Menezes-de-Lima in M. G. Henriques. 2003. »Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of Essential Oils from Two Asteraceae Species.« *Pharmazie* 58 (8): 582–586.
- Węglarz, Z., O. Kosakowska, E. Pióro-Jabrucka idr. 2022. »Antioxidant and Antibacterial Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. from Central Europe.« *Pharmaceuticals* 15 (6): 735.
- Yu, G., P. N. Praveen Rao, M. A. Chowdhury idr. 2010. »Synthesis and Biological Evaluation of N-Difluoromethyl-1,2-Dihydropyrid-2-One Acetic Acid Regioisomers: Dual Inhibitors of Cyclooxygenases and 5-Lipoxygenase.« *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 20 (7): 2168–2173.

12

Interakcije laškega smilja z mikroorganizmi

Katja Kranjc

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*

Karin Šik Novak

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Katja Kranjc in Karin Šik Novak

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.12>

Uvod

Odpornost mikroorganizmov na protimikrobna sredstva je globalni problem, ki lahko pomembno vpliva na zdravje ljudi, živali in okolja. Pojav in širjenje protimikrobne odpornosti ogrožata učinkovitost zdravil, ki se uporabljajo za zdravljenje nalezljivih bolezni. Poleg tega lahko odpornost na antibiotike v živinoreji prispeva k prenosu odpornih patogenov z živali na človeka preko prehranske verige in okolja. V luči teh izzivov se raziskovalci vse bolj osredotočajo na iskanje novih protimikrobnih učinkovin naravnega izvora, ki bi lahko zmanjšale to tveganje in proti katerim še ni dokazane odpornosti. Rastline iz družine nebinovk predstavljajo obsežno skupino rastlin, ki so znane po svoji uporabi v tradicionalni medicini za zdravljenje različnih bolezni in zdravstvenih težav. Med njimi je tudi laški smilj, katerega uporaba ni tuja pri pospeševanju celjenja ran ter lažšanju simptomov ob vnetju respiratornega in prebavnega trakta. Učinkovitost pripisujejo predvsem vsebnosti bioaktivnih učinkovin, kot so flavonoidi, terpeni in polifenoli. V tem poglavju bomo povzeli rezultate raziskav o protimikrobnem delovanju pripravkov iz laškega smilja in njihovih potencialnih pozitivnih vplivih na sestavo črevesne mikrobne združbe.

Protimikrobni učinek pripravkov iz laškega smilja

Za določanje protimikrobnega učinka laškega smilja *in vitro* se najpogosteje uporabljata (a) metoda redčenja v tekočem mediju in (b) metoda difuzije v agarju (Balouiri idr. 2016). Protimikrobni učinek se določa glede na minimalno inhibitorno koncentracijo (angl. *minimum inhibitory concentration* – MIK) ali minimalno baktericidno koncentracijo (angl. *minimum bactericidal concentration* – MBK). MIK predstavlja najnižjo koncentracijo testirane spojine, ki vidno zavira rast mikroorganizma, MBK pa najnižjo koncentracijo, ki povzroči smrt mikroorganizma (Andrews 2001). Na splošno pri testiranju fitokemikalij velja, da so učinkovita protimikrobna sredstva, če je določena vrednost MIK v razponu od 0,1 do 1,0 mg/mL (Simões idr. 2009). Pri metodi difuzije v agarju, kjer se protimikrobna učinkovitost ocenjuje glede na premer cone inhibicije, pa je opredelitev naslednja: < 10 mm – brez protimikrobnega učinka; 10–15 mm – šibek protimikrobni učinek; 16–20 mm – zmeren protimikrobni učinek; > 20 mm – močan protimikrobni učinek (Pirvu idr. 2014).

Pregled literature kaže, da je primerljivost rezultatov omejena zaradi različnih pristopov k metodologiji testiranja protimikrobne učinkovitosti ter zaradi razlik v izbiri testnih mikroorganizmov. Takšna variabilnost rezultatov poudarja pomen določitve kemijske sestave testiranega pripravka, saj lahko le na ta način zagotovimo njegovo ponovljivo in učinkovito delovanje. Eden ključnih dejavnikov, ki vpliva na kemijsko sestavo in s tem na protimikrobni potencial, je poreklo rastlinskega materiala. Npr., eterična olja laškega smilja s Korzike, ki so bogata z neril acetatom, imajo drugačen protimikrobni profil kot eterična olja iz Bosne, kjer prevladujeta α -pinen in γ -kurkumen (Genčić idr. 2021). Sestava eteričnega olja je odvisna tudi od dela rastline, iz katerega je pripravljeno; v eteričnem olju iz zelenih delov rastline sta bili dominantni spojini neril acetat in α -pinen, v socvetju pa neril acetat in nerol. Eterični olji sta se razlikovali tudi po bioloških aktivnostih; olje iz zelenih delov rastline je imelo višji antioksidativni potencial, medtem ko je eterično olje iz socvetja pokazalo izrazitejšo protimikrobno učinkovitost (Węglarz idr. 2022). Na izkoristek in delež bioaktivnih spojin pomembno vplivajo tudi dejavniki, kot sta sam postopek in pa pogoji priprave končnega izdelka.

Kljub številnim pripravkom iz laškega smilja se največ raziskav protimikrobnega delovanja osredotoča na eterična olja, alkoholne izvlečke in posamezne bioaktivne učinkovine. V preglednici 1 so povzete najnovejše raziskave o testiranju eteričnega olja laškega smilja, vključno

z uporabljenimi metodami in glavnimi ugotovitvami. Raziskave kažejo, da so ključne učinkovine eteričnega olja, ki prispevajo k protimikrobnemu delovanju, neril acetat, α -pinen in γ -kurkumen (Šovljanski idr. 2024). Nekatere raziskave poročajo o večji učinkovitosti eteričnega olja proti po Gramu pozitivnim bakterijam v primerjavi s po Gramu negativnimi. Slednje pripisujejo razlikam v sestavi celične stene bakterij ter prisotnosti oksigeniranih monoterpenov v eteričnem olju, kot sta nerol in geraniol (Djihane idr. 2017; Mollova idr. 2020; Węglarz idr. 2022; Zheljazkov idr. 2022). Tudi Mastelic idr. (2005) navajajo, da ima terpenoidna frakcija eteričnega olja, ki vsebuje geraniol, geranil in neril acetat, močnejši protimikrobni učinek kot frakcija neoksigeniranih terpenov. Protimikrobni učinek eteričnega olja se je pokazal v zvezi s številnimi medicinsko pomembnimi mikroorganizmi, vključno z bakterijami *Staphylococcus aureus* in na meticilin odpornim *S. aureus* (angl. *methicillin-resistant S. aureus* – MRSA), *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Haemophilus influenzae* idr. (preglednica 1). To nakazuje potencial laškega smilja kot učinkovite alternative ali dopolnitve terapijam pri okužbah, ki jih povzročajo tudi proti antibiotikom odporni bakterijski sevi. Eterično olje laškega smilja iz Francije, ki je vsebovalo visok delež neril acetata (32,7–33,8 %) in γ -kurkumena (11,6–14,2 %), se je pokazalo za učinkovito pri zaviranju tvorbe biofilma *S. aureus* na različnih površinah, ki prihajajo v stik s hrano. To je ključnega pomena, saj z zunajceličnimi polisaharidi obdani mikroorganizmi izkazujejo večjo odpornost proti dejavnikom okolja in protimikrobnim sredstvom. Aplikacija eteričnega olja je poleg tega uspešno zavirala rast bakterij *E. coli* in *S. aureus* na zelenjavi, kar nakazuje njegov potencial za izboljšanje varnosti živil in preprečevanje okužb, povezanih s hrano (Cui idr. 2016). Med predstavniki kraljestva gliv je bil protimikrobni učinek eteričnega olja največkrat testiran na kvasovki *Candida albicans*, vendar se rezultati raziskav precej razlikujejo. Razlike v rezultatih pripisujejo različni kemijski sestavi eteričnih olj, različnim eksperimentalnim pogojem in testiranim sevom (Šovljanski idr. 2024).

Poleg eteričnega olja se je protimikrobna učinkovitost pokazala tudi za hidrolat laškega smilja. Njegov učinek ni bil omejen zgolj na neposredno zaviranje rasti, temveč tudi na preprečevanje adhezije s hrano prenosljivih patogenih bakterij (Bezek idr. 2022). V kmetijsko-živilskem sektorju se cvetovi laškega smilja lahko uporabljajo za začinjavanje in aromatiziranje živil, kot so pekovski izdelki in brezalkoholne pijače, ter kot naravni

konzervans. Raziskave so pokazale protimikrobni učinek na potencialne povzročitelje kvarjenja živil, kot so bakterije *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* in *P. aeruginosa*), glivi *Aspergillus niger* in *Alternaria alternata* (Djihane idr. 2017) ter insekti (*Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae)) (Conti idr. 2010). Izvlečki laškega smilja, pripravljene s topili, kot sta dietil eter ali etanol, so se pokazali za učinkovite pri zaviranju rasti *S. aureus*, MRSA in kariogene bakterije *Streptococcus mutans*. Poleg tega so imeli izvlečki zaviralni učinek na delovanje encimov, ki veljajo za pomembne virulentne dejavnike (koagulaza, DNAza, termonukleaza in lipaza) (Nostro idr. 2001; Nostro idr. 2004). Metanolni izvlečki rastlinskega materiala iz Kalabrije in s Sardinije so, podobno kot eterično olje, pokazali večjo učinkovitost proti po Gramu pozitivnim bakterijam in glivam (Tundis idr. 2005). Raziskave prav tako potrjujejo protimikrobni učinek posameznih izoliranih frakcij. Derivati stirilpironov in kinske kisline, derivata aminofloroglucinola, derivat acetofenona ter ursolna kislina, pridobljeni iz metanolnega izvlečka, so se izkazali za učinkovite proti bakterijam *P. aeruginosa* in *S. epidermidis* (D'Abrosca idr. 2013; D'Abrosca 2016). Med testiranimi fenolnimi spojinami, ki vključujejo kumarate, benzofurane, pirone in heterodimerne floriglucinoles, so se samo slednji pokazali za učinkovite proti MRSA (Taglialatela-Scafati idr. 2013). Kot učinkovit tradicionalni pripravek se je pokazal tudi poparek, saj je preprečil prehajanje bakterije *Salmonella infantis* skozi celični monosloj Caco-2, kar nakazuje potencial laškega smilja pri zaščiti črevesne sluznice pred okužbami (Kramberger idr. 2024). Čeprav redkeje, v literaturi zasledimo tudi protivirusno delovanje izvlečkov laškega smilja (Nostro idr. 2003) ter učinkovin, kot je arzanol (Appendino idr. 2007).

Učinki čaja iz smilja na črevesno mikrobno združbo

Ena izmed najpomembnejših ločnic med človekovim zunanjim in notranjim okoljem je naš prebavni trakt, v katerem se takoj po rojstvu oblikuje kompleksna mikrobna združba (Moeller idr. 2018). Za naše zdravje je vzajemen odnos s črevesno mikrobno združbo zelo pomemben, saj ta ohranja integriteto črevesne stene (Salvucci 2016), uravnava prebavo, sintezo in absorpcijo številnih hranil ter presnovkov. Črevesno mikrobno združbo lahko spreminjamo z intervencijami, kot je transplantacija zdrave mikrobne združbe posameznikom z različnimi boleznimi, poleg tega pa tudi s spremembo prehrane in prehranskega statusa (Zmora idr. 2019). Poleg spremenjenega vnosa makrohranil (Wu idr. 2011) lahko na sestavo črevesne mikrobne združbe vplivamo z vnosom prebiotikov,

Preglednica 1 Protimikrobni učinek eteričnega olja iz laškega smilja

Avtor, leto	Namen raziskave in glavne sestavine EO	Metodologija	Mikroorganizem	Ugotovitve/rezultati
Zeremski idr. (2024)	Določiti protimikrobni učinek EO, pridobljenega od pridelovalcev iz Srbije: γ-kurkumen (13,11–19,98 %), α-pinen (9,75–14,45 %), ar-kurkumen (5,8–14,0 %)	Metoda difuzije v agarju z diski	<i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 13311, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>B. cereus</i> ATCC 11778, <i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115, <i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763, <i>C. albicans</i> ATCC 10231, <i>Penicillium aurantiogriseum</i> ATCC 16025, <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Protimikrobni učinek za testirane vzorce je bil od 19,67 do 10,0 mm. EO, bogato z γ-kurkumenom, α-pinenom in ar-kurkumenom, je imelo tako <i>in vitro</i> kot <i>in silico</i> protimikrobni potencial. Na osnovi simulacij sta se neril acetat in α-selinen pokazala kot morebitna inhibitorja histidin-kinaze KdpD.
Petrović idr. (2024)	Določiti kemijsko sestavo in protimikrobni učinek EO, pripravljenega iz rastlin s poreklom iz Hrvaške: α-pinena (21,04 %), γ-kurkumena (14,89 %), neril acetata (6,23 %)	Metoda difuzije v agarju z diski	<i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>C. albicans</i> ATCC 10231	Protimikrobni učinek EO je bil pokazan samo proti <i>S. aureus</i> , s cono zbristritve 9–12 mm.
Zheljazkov idr. (2022)	Določiti kemijsko sestavo in protimikrobni učinek EO, pripravljenega iz rastlin s poreklom iz Francije, Bosne in Hercegovine in s Korzike Prevladujoče spojine v EO iz Francije: neril acetat (14,87 %), β-himakalen (9,9 %), D-limonen (5,23 %); v EO iz Bosne: α-pinen (13,74 %), β-himakalen (10,8 %), δ-kadinen (5,51 %); v EO iz Korzike: neril acetat (12,37 %), β-himakalen (10,99 %), D-limonen (4,92 %)	Metoda difuzije v agarju z diski	<i>S. aureus</i> CCM 4223, <i>E. faecalis</i> CCM 4224, <i>Streptococcus pneumoniae</i> CCM 4501, <i>P. aeruginosa</i> CCM 1959, <i>Yersinia enterocolitica</i> CCM 5671, <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> CCM 3807, <i>C. albicans</i> CCM 8186, <i>Candida krusei</i> CCM 8271, <i>Candida tropicalis</i> CCM 8223	Protimikrobni učinek na mikroorganizme je bil v razponu od 2,33 do 14,67 mm. Po Gramu pozitivne bakterije so bile občutljivejše na EO kot po Gramu negativne bakterije ali glive.
Servi in Servi (2022)	Določiti kemijsko sestavo in protimikrobni učinek komercialnih EO iz Srbije: neril acetat (15,6%), α-pinen (11,5%), γ-kurkumen (11,3%)	Določanje MIK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču	<i>E. coli</i> ATCC 14169, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 19659, <i>B. cereus</i> ATCC 14579, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	EO proti <i>E. coli</i> ni bilo učinkovito, MIK za <i>S. aureus</i> in <i>P. aeruginosa</i> je bila 5 µg/mL ter za <i>Bacillus subtilis</i> in <i>B. cereus</i> 10 µg/mL.

Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Avtor, leto	Namen raziskave in glavne sestavine EO	Metodologija	Mikroorganizem	Ugotovitve/rezultati
Balázs idr. (2022)	Določiti kemijsko sestavo, protimikrobni in protiadhezivni učinek komercialnega EO iz Madžarske: neril acetat (21,2 %), α-kurkumen (15,9 %)	Določanje MIK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču	<i>Haemophilus influenzae</i> DSM 4690, <i>Haemophilus parainfluenzae</i> DSM 8978, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Streptococcus pneumoniae</i> DSM 20566	Najobčutljivejša na EO sta bila oba seva vrste bakterij <i>Haemophilus aeruginosa</i> (MIK = 0,625 mg/mL). EO je znižal nastanek biofilma pri vseh sevih vsaj za 52,63 %.
Węglarz idr. (2022)	Določiti kemijsko sestavo, antioksidativni in protibakterijski učinek EO, pripravljenih iz rastlin s poreklom iz centralne Evrope: neril acetat (16,4 - 20,3 %), nerol (4,5-15,7 %), α-pinen (4,1-10,4 %)	Določanje MIK in MBK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču in nacepljanjem na trdno gojišče	<i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, na meticilin odporen <i>S. aureus</i> ATCC 43300	Na splošno so bile po Gramu pozitivne bakterije občutljivejše v primerjavi s po Gramu negativnimi, z največjo občutljivostjo <i>S. aureus</i> ATCC 25923 (MIK = 1; MBK = 16 mg/mL). Protimikrobni učinek EO iz socvetja je bil močnejši v primerjavi z EO, pridobljenim iz rastline.
Aćimović idr. (2021)	Določiti kemijsko sestavo, protimikrobni in protiadhezivni učinek EO, pripravljenega iz rastlin s poreklom iz Srbije: γ-kurkumen (13,6 %), β-selinen (12,2 %), α-pinen (11,8 %)	Določanje MIK in MBK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču	<i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>E. coli</i> ATCC 10536, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076, <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028, <i>Klebsiella aerogenes</i> ATCC 13048, <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315, <i>B. cereus</i> ATCC 11778, <i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633, <i>E. faecalis</i> ATCC 29212, <i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111, <i>Listeria innocua</i> ATCC 33090, <i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119, <i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	Protimikrobni učinek EO je bil zelo nizek ali pa ga ni bilo, pri čemer so bile vrednosti MIK in MBK za vse po Gramu negativne bakterije višje od 454,50 µL/mL.

Nadaljevanje na naslednji strani

Nadaljevanje s prejšnje strani

Avtor, leto	Namen raziskave in glavne sestavine EO	Metodologija	Mikroorganizem	Ugotovitve/rezultati
Genčić idr. (2021)	Oceniti povezavo med sestavo ter protimikrobnim in protivnetnim učinkom štirih komercialnih EO iz Belgije, Francije in Srbije: neril acetat (9,2–35,0 %), α-pinen (1,7–19,9 %), γ-kurkumen (10,0–16,8 %)	Določanje MIK z metodo mikrodilucije v tekočem gojišču	<i>B. cereus</i> ATCC 11778, <i>E. faecalis</i> ATCC 19433, <i>Sarcina lutea</i> ATCC 9431, <i>S. aureus</i> ATCC 6538, <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228, <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606, <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048, <i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>Salmonella enterica</i> ATCC 13076, <i>C. albicans</i> ATCC 10231	EO iz Srbije sta se pokazala kot učinkovita proti <i>S. aureus</i> (MIK = 0,6 mg/mL). EO, bogato z monoterpeni, je bilo manj učinkovito (MIK ≥ 5 mg/mL). Vsa testirana EO so bila učinkovitejša proti po Gramu pozitivnim bakterijam. Učinkovitost proti <i>C. albicans</i> je bila nižja (MIK = 2,5–5 mg/mL).
Mollova idr. (2020)	Določiti kemijsko sestavo in protimikrobni učinek pripravljenih EO s poreklom rastlin iz Francije ter Bosne in Hercegovine: neril acetat (3,8–33,9 %), α-pinen (1,9–20,8 %), γ-kurkumen (8,8–16,5 %)	Metoda difuzije v agarju	<i>S. aureus</i> ATCC 6538, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, <i>E. coli</i> ATCC 8739, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027, <i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763, <i>C. albicans</i> ATCC 10231, <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, <i>Fusarium moniliforme</i> (klinični izolat)	EO s poreklom iz Bosne je bilo učinkovito samo proti <i>Aspergillus brasiliensis</i> . EO s poreklom iz Francije je bilo učinkovito proti nekaterim po Gramu pozitivnim sevom in proti <i>Aspergillus brasiliensis</i> (18,0 mm).

Legenda: *B. cereus* – *Bacillus cereus*; *C. albicans* – *Candida albicans*; *C. jejuni* – *Campylobacter jejuni*; *E. faecalis* – *Enterococcus faecalis*; *E. coli* – *Escherichia coli*; EO – eterično olje; *L. monocytogenes* – *Listeria monocytogenes*; MBK – minimalna bakterična koncentracija; MIK – minimalna inhibitorna koncentracija; *P. aeruginosa* – *Pseudomonas aeruginosa*; *S. cerevisiae* – *Saccharomyces cerevisiae*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *S. epidermidis* – *Staphylococcus epidermidis*.

ki lahko vplivajo na presnovo maščob in homeostazo glukoze gostitelja ter izboljšajo črevesno disbiozo, kar je bilo pokazano pri miših z debelostjo (Sung idr. 2017). Poparki laškega smilja in peščenega smilja so bogati s polifenolnimi spojinami, ki delujejo kot prebiotiki, saj so odporni na prebavo gostitelja in jih lahko fermentirajo črevesni mikroorganizmi (Plamada in Vodnar 2021). Povezava med črevesno mikrobno združbo in prebiotiki je dvosmerna, saj prebiotiki vplivajo na njeno sestavo, hkrati pa omogočajo nadaljnjo presnovo polifenolov in tvorbo bioaktivnih spojin (Fraga idr. 2019). Intervencije, usmerjene v sestavo črevesne mikrobne združbe, se zdijo obetaven pristop za izboljšanje presnovnega zdravja, povezanega z debelostjo.

Učinki na raznolikost črevesne mikrobne združbe

V klinični raziskavi pri posameznikih z vsaj dvema komponentama presnovnega sindroma smo ugotovili, da je štiritedenska intervencija z uživanjem 2 dL čaja iz laškega ali peščenega smilja na dan pomembno vplivala na spremembe v sestavi črevesne mikrobne združbe (Petelin idr. 2022). Čeprav sta splošna struktura in pestrost črevesne mikrobne združbe preiskovancev tekom štiritedenske intervencije ostali stabilni, se je po uživanju obeh vrst smilja rahlo, a pomembno zmanjšala α -raznolikost črevesne mikrobne združbe, določena s Shannonovim indeksom. Podobno so ugotovili Natalia S. Klimenko idr. (2018) pri kratkotrajni spremembi prehrane z nizkim vnosom prehranskih vlaknin, ki je vplivala na zmanjšano α -raznolikost. V nasprotju s klinično raziskavo Ane Petelin idr. (2022), pri kateri se je zmanjšana α -raznolikost pojavila hkrati z znižanjem ravni provnetnih bioznačevalcev, pa so drugi raziskovalci ugotovili povezavo med zmanjšano biotsko raznovrstnostjo v črevesju in različnimi boleznimi, ki so povezane z debelostjo (Le Chatelier idr. 2013).

Učinki na črevesno mikrobno združbo na ravni debel

Po intervenciji z laškim smiljem smo opazili značilno nižjo zastopanost debela Proteobacteria, s čimer bi lahko potencialno razložili znižanje ravni provnetnih bioznačevalcev, saj višjo zastopanost debela Proteobacteria opazimo pri številnih boleznih z vnetnim fenotipom (Rizzatti idr. 2017). Poleg debela Proteobacteria sta najpomembnejši debli, vključeni v presnovo prehranskih vlaknin in polifenolov, Bacteroidota in Firmicutes (Candela idr. 2010). Po intervenciji z laškim in s peščenim smiljem smo opazili značilno znižanje relativne zastopanosti določenih rodov iz debela Firmicutes. Polifenoli in njihovi presnovki naj bi vplivali na zmanjšano

zastopanost bakterij iz debla Firmicutes v črevesju ter s tem na povišanje razmerja med debloma Bacteroidota in Firmicutes (Rastmanesh 2011). Poleg tega so ugotovili, da je bilo razmerje Firmicutes/Bacteroidota pri posameznikih z debelostjo višje kot pri posameznikih z normalno telesno maso (Koliada idr. 2017); ugotovitve nakazujejo, da bi morda lahko smilj na ta način vplival na izgubo telesne mase. Podobno so ugotovili pri zeliščnih pripravkih in funkcionalnih živilih proti debelosti, ki naj bi vplivali na višjo zastopanost debla Bacteroidota (in rodov *Akkermansia*, *Lactobacillus* in *Bacteroides*) ter nižjo zastopanost debla Firmicutes in nižje razmerje med debloma Firmicutes in Bacteroidota (Lyu idr. 2017).

Učinki na črevesno mikrobno združbo na ravni rodov

Po intervenciji z laškim smiljem smo opazili nižjo zastopanost rodov *Ruminococcaceae* uncultured in *Lachnospiraceae* UCG-001, za katera so ugotovili, da sta povezana s telesno maščobo in z višjim ITM (Gomez-Arango idr. 2016; Pataky idr. 2016). Po drugi strani pa smo po intervenciji opazili nižjo zastopanost bakterij iz rodu *Clostridiales vadin BB60*, ki proizvajajo kratkoverižne maščobne kisline (angl. *short chain fatty acids*) (Harrison idr. 2018), za katere je bilo pokazano, da so negativno povezane z debelostjo, dislipidemijo in inzulinsko rezistenco pri miših (Gao idr. 2009); pri ženskah pa so ugotovili njihovo negativno povezavo z indeksom telesne mase, s telesno maso in z obsegom pasu (Gao idr. 2020). Po intervenciji s peščenim smiljem smo opazili nižjo zastopanost rodov *Lachnospiraceae* UCG-010, *Blautia* in *Ruminococcaceae Incertae sedis*. Čeprav bakterije iz družine Lachnospiraceae proizvajajo kratkoverižne maščobne kisline, ki so ugodne za naše zdravje, so bili različni rodovi povezani z različnimi prebavnimi in drugimi boleznimi. Znano je, da rod *Blautia* spodbuja izločanje provnetnih citokinov v gostiteljskih celicah (Tuovinen idr. 2013) in je povezan z dolgoverižnimi triacilgliceroli, moteno presnovo glukoze ter s sladkorno boleznijo tipa 1 (Kostic idr. 2015). Nižjo zastopanost rodu *Blautia* so opazili tudi po intervenciji z izvlečkom iz črnega čaja in rdečega vina v črevesnem ekosistemu *in vitro* (Kemperman idr. 2013). Bakterije iz družine Lachnospiraceae (predvsem *Blautia*) in bakterije iz rodu *Ruminococcaceae Incertae sedis* imajo ključno vlogo pri presnovi neprebavljivih ogljikovih hidratov (Costabile idr. 2017). Čeprav ima produkcija kratkoverižnih maščobnih kislin koristne učinke (Koh idr. 2016), pa višji vnos ogljikovih hidratov prispeva k višjemu energijskemu vnosu in vpliva na serumske ravni glukoze na tešče. Poleg tega smo po intervenciji s peščenim smiljem opazili tudi nižjo zastopanost

rodov *Christensenellaceae* R-7 in *Faecalibacterium*, ki naj bi imela ugodne učinke na gostitelja, kar bi lahko pojasnilo močnejši protivnetni učinek po intervenciji z laškim smiljem v primerjavi s peščenim smiljem. Rod *Faecalibacterium* je ključen pri produkciji protivnetnih spojin (Lopez-Siles idr. 2017; Quévrain idr. 2016) in njegova zastopanost je znižana pri različnih vnetnih boleznih (Walters idr. 2014). Negativna povezava med rodом *Christensenellaceae* in indeksom telesne mase pa je bila prepoznana kot kazalnik pomembne povezave med črevesnim mikrobiomom in presnovnimi boleznimi (Lozano idr. 2022).

Zmanjšana zastopanost bakterijskih rodov, ki proizvajajo protivnetno kratkoverižno maščobno kislino butirat, bi lahko oslabilo integriteto črevesne stene. Intervencija s peščenim smiljem ni imela učinka na serumske ravni zonulina in njegovi učinki na vnetne biooznačevalce so bili šibkejši v primerjavi z laškim smiljem, verjetno zaradi pomembnejšega znižanja relativne zastopanosti specifičnih rodov iz debla Firmicutes, ki proizvajajo kratkoverižne maščobne kisline. Po drugi strani pa se je zastopanost rodov *Prevotella* 9 in *Parabacteroides* po intervenciji s peščenim smiljem povišala, a razlika ni bila statistično značilna. Bakterije iz vrste *Prevotella* so bile pozitivno povezane s produkcijo kratkoverižne maščobne kisline propionata, ki ima pomembno vlogo pri znižanju serumskega holesterola in vpliva na zmanjšano jetrno lipogenezo (Chambers idr. 2015); nižje ravni triacilglicerolov in jetrnih encimov po intervenciji s peščenim smiljem smo opazili tudi v klinični raziskavi. Spremembe v sestavi črevesne mikrobne združbe, ki jih je nemogoče označiti le kot dobre ali slabe, poudarjajo kompleksnost črevesnega mikrobioma. Poleg tega je bil učinek na črevesno mikrobno združbo po intervenciji relativno skromen, kar je pričakovano glede na veliko variabilnost med posamezniki in glede na kratko trajanje intervencije.

Zaključek

Za zaključek lahko povzamemo, da se je protimikrobna učinkovitost pripravkov iz laškega smilja pokazala v zvezi s širokim spektrom mikroorganizmov, vključno z na antibiotike odpornimi bakterijami. Poleg eteričnega olja protimikrobni potencial izkazujejo tudi alkoholni izvlečki, hidrolat in posamezne bioaktivne učinkovine. Raziskave nakazujejo tudi koristi laškega smilja v kmetijsko-živilskem sektorju, kjer se uporablja kot začimba in lahko hkrati služi kot naravni konzervans. Kljub obetavnim rezultatom pa je primerljivost med raziskavami otežena zaradi variabilnosti v kemijski sestavi in metodologiji testiranja končnega produkta ter

tudi v izbiri testnega mikroorganizma. Poleg protimikrobnega učinka imajo poparki laškega in peščenega smilja učinek na sestavo črevesne mikrobne združbe ter delujejo kot prebiotiki. Njunj učinki na regulacijo telesne mase bi bili lahko tesno povezani z njunim učinkom na črevesno mikrobno združbo, a v zvezi s tem je potrebnih več dolgoročnih raziskav.

Viri

- Aćimović, M., J. Ljujić, J. Vulić idr. 2021. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil from Serbia: Chemical Composition, Classification and Biological Activity; May It Be a Suitable New Crop for Serbia?« *Agronomy* 11 (7): 1282.
- Andrews, J. M. 2001. »Determination of Minimum Inhibitory Concentrations.« *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48 (1): 5–16.
- Appendino, G., M. Ottino, N. Marquez idr. 2007. »Arzanol, an Anti-Inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol α -Pyrone from *Helichrysum italicum* ssp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 70 (4): 608–612.
- Balázs, V. L., R. Filep, F. Répás idr. 2022. »Immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don) Essential Oil Showed Antibacterial and Biofilm Inhibitory Activity Against Respiratory Tract Pathogens.« *Molecules* 27 (17): 5518.
- Balouiri, M., M. Sadiki in S. Koraichi Ibensouda. 2016. »Methods for *in vitro* Evaluating Antimicrobial Activity: A Review.« *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2): 71–79.
- Bezek, K., K. Kramberger in D. Barlič-Maganja. 2022. »Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Hydrosol.« *Antibiotics* 11 (8): 1017.
- Candela, M., S. Maccaferri, S. Turrone, P. Carnevali in P. Brigidi. 2010. »Functional Intestinal Microbiome, New Frontiers in Prebiotic Design.« *International Journal of Food Microbiology* 140 (2): 93–101.
- Chambers, E. S., A. Viardot, A. Psichas idr. 2015. »Effects of Targeted Delivery of Propionate to the Human Colon on Appetite Regulation, Body Weight Maintenance and Adiposity in Overweight Adults.« *Gut* 64 (11): 1744–1754.
- Conti, B., A. Canale, A. Bertoli, F. Gozzini in L. Pistelli. 2010. »Essential Oil Composition and Larvicidal Activity of Six Mediterranean Aromatic Plants Against the Mosquito *Aedes Albopictus* (Diptera: Culicidae).« *Parasitology Research* 107 (6): 1455–1461.
- Costabile, A., T. Bergillos-Meca, P. Rasinkangas, K. Korpela, W. M. de Vos in G. R. Gibson. 2017. »Effects of Soluble Corn Fiber Alone or in Synbiotic Combination with *Lactobacillus rhamnosus* GG and the Pilus-Deficient

- Derivative GG-PB12 on Fecal Microbiota, Metabolism, and Markers of Immune Function: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Study in Healthy Elderly (Saimes Study).« *Frontiers in Immunology* 8:1443.
- Cui, H., W. Li, C. Li in L. Lin. 2016. »Synergistic Effect Between *Helichrysum italicum* Essential Oil and Cold Nitrogen Plasma Against *Staphylococcus aureus* Biofilms on Different Food-Contact Surfaces.« *International Journal of Food Science and Technology* 51 (11): 2493–2501.
- D'Abrosca, B., E. Buommino, P. Caputo idr. 2016. »Phytochemical Study of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Spectroscopic Elucidation of Unusual Amino-Phlorogucinols and Antimicrobial Assessment of Secondary Metabolites from Medium-Polar Extract.« *Phytochemistry* 132 (5): 86–94.
- D'Abrosca, B., E. Buommino, G. D'Angelo idr. 2013. »Spectroscopic Identification and Anti-Biofilm Properties of Polar Metabolites from the Medicinal Plant *H. italicum* against *Pseudomonas Aeruginosa*.« *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 21 (22): 7038–46.
- Djihane, B., N. Wafa, S. Elkhamsa, J. P. De Haro, M. Angeles Esteban in M. M. Zerroug. 2017. »Chemical Constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oil and Their Antimicrobial Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria, Filamentous Fungi and *Candida Albicans*.« *Saudi Pharmaceutical Journal* 25 (5): 780–787.
- Fraga, C. G., K. D. Croft, D. O. Kennedy in F. A. Tomás-Barberán. 2019. »The Effects of Polyphenols and Other Bioactives on Human Health.« *Food and Function* 10 (2): 514–528.
- Gao, B., M. Zhong, Q. Shen idr. 2020. »Gut Microbiota in Early Pregnancy Among Women with Hyperglycaemia vs. Normal Blood Glucose.« *BMC Pregnancy and Childbirth* 20 (1): 284.
- Gao, Z, J. Yin, J. Zhang idr. 2009. »Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice.« *Diabetes* 58 (7): 1509–1517.
- Genčić, M. S., J. M. Aksić, M. Z. Živković Stošić idr. 2021. »Linking the Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effects of Immortelle Essential Oil with Its Chemical Composition: The Interplay Between the Major and Minor Constituents.« *Food and Chemical Toxicology* 158:112666.
- Gomez-Arango, L. F., H. L. Barrett, H. D. McIntyre idr. 2016. »Connections Between the Gut Microbiome and Metabolic Hormones in Early Pregnancy in Overweight and Obese Women.« *Diabetes* 65 (8): 2214–2223.
- Harrison, C. A., D. Laubitz, C. L. Ohland idr. 2018. »Microbial Dysbiosis Associated with Impaired Intestinal Na⁺/H⁺ Exchange Accelerates and Exacerbates Colitis in Ex-Germ Free Mice.« *Mucosal Immunology* 11 (5): 1329–1341.

- Kemperman, R. A., G. Gross, S. Mondot idr. 2013. »Impact of Polyphenols from Black Tea and Red Wine/Grape Juice on a Gut Model Microbiome.« *Food Research International* 53 (2): 659–669.
- Klimenko, N. S., A. V. Tyakht, A. S. Popenko idr. 2018. »Microbiome Responses to an Uncontrolled Short-Term Diet Intervention in the Frame of the Citizen Science Project.« *Nutrients* 10 (5): 576.
- Koh, A., F. De Vadder, P. Kovatcheva-Datchary in F. Bäckhed. 2016. »From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites.« *Cell* 165 (6): 1332–1345.
- Koliada, A., G. Syzenko, V. Moseiko idr. 2017. »Association Between Body Mass Index and Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in an Adult Ukrainian Population.« *BMC Microbiology* 17 (1): 120.
- Kostic, A. D., D. Gevers, H. Siljander idr. 2015. »The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression Toward Type 1 Diabetes.« *Cell Host and Microbe* 17 (2): 260–273.
- Kramberger, K., K. Bezek Kranjc, Z. Jenko Pražnikar, D. Barlič-Maganja in S. Kenig. 2024. »Protective Capacity of *Helichrysum italicum* Infusion Against Intestinal Barrier Disruption and Translocation of *Salmonella* Infantis.« *Pharmaceuticals* 17 (10): 1398.
- Le Chatelier, E., T. Nielsen, J. Qin idr. 2013. »Richness of Human Gut Microbiome Correlates with Metabolic Markers.« *Nature* 500 (7464): 541–546.
- Lopez-Siles, M., S. H. Duncan, L. J. Garcia-Gil in M. Martinez-Medina. 2017. »Faecalibacterium Prausnitzii: From Microbiology to Diagnostics and Prognostics.« *The ISME Journal* 11 (4): 841–852.
- Lozano, C. P., L. R. Wilkens, Y. B. Shvetsov idr. 2022. »Associations of the Dietary Inflammatory Index with Total Adiposity and Ectopic Fat Through the Gut Microbiota, LPS, and C-Reactive Protein in the Multiethnic Cohort-Adiposity Phenotype Study.« *American Journal of Clinical Nutrition* 115 (5): 1344–1356.
- Lyu, M., Y.-F. Wang, G.-W. Fan, X.-Y. Wang, S.-Y. Xu in Y. Zhu. 2017. »Balancing Herbal Medicine and Functional Food for Prevention and Treatment of Cardiometabolic Diseases Through Modulating Gut Microbiota.« *Frontiers in Microbiology* 8:2146.
- Mastelic, J., O. Politeo, I. Jerkovic in N. Radosevic. 2005. »Composition and Antimicrobial Activity of *Helichrysum italicum* Essential Oil and Its Terpene and Terpenoid Fractions.« *Chemistry of Natural Compounds* 41 (1): 35–40.
- Moeller, A. H., T. A. Suzuki, M. Phifer-Rixey in M. W. Nachman. 2018. »Transmission Modes of the Mammalian Gut Microbiota.« *Science* 362 (6413): 453–457.

- Mollova, S., H. Fidan, D. Antonova idr. 2020. »Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Subspecies Essential Oils.« *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 44 (4): 371–378.
- Nostro, A., M. A. Cannatelli, G. Crisafi, A. D. Musolino, F. Procopio in V. Alonzo. 2004. »Modifications of Hydrophobicity, *in vitro* Adherence and Cellular Aggregation of *Streptococcus mutans* by *Helichrysum italicum* Extract.« *Letters in Applied Microbiology* 38 (5): 423–427.
- Nostro, A., G. Bisignano, M. A. Cannatelli, G. Crisafi, M. P. Germanò in V. Alonzo. 2001. »Effects of *Helichrysum italicum* Extract on Growth and Enzymatic Activity of *Staphylococcus Aureus*.« *International Journal of Antimicrobial Agents* 17 (6): 517–520.
- Nostro, A., M. A. Cannatelli, A. Marino idr. 2003. »Evaluation of Antiherpesvirus-1 and Genotoxic Activities of *Helichrysum italicum* Extract.« *The New Microbiologica* 26 (1): 125–128.
- Pataky, Z., L. Genton, L. Spahr idr. 2016. »Impact of Hypocaloric Hyperproteic Diet on Gut Microbiota in Overweight or Obese Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Pilot Study.« *Digestive Diseases and Sciences* 61 (9): 2721–2731.
- Petelin, A., K. Šik Novak, M. Hladnik idr. 2022. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench Infusion Consumption Affects the Inflammatory Status and the Composition of Human Gut Microbiota in Patients with Traits of Metabolic Syndrome: A Randomized Comparative Study.« *Foods* 11 (20): 3277.
- Petrović, L., M. Skorić, B. Šiler idr. 2024. »Patterns of Genetic Variation of *Nepeta Nuda* L. from the Central Balkans: Understanding Drivers of Chemical Diversity.« *Plants* 13 (11): 1483.
- Pirvu, L., C. Hlevca, I. Nicu in C. Bubueanu. 2014. »Comparative Studies on Analytical, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of a Series of Vegetal Extracts Prepared from Eight Plant Species Growing in Romania.« *Journal of Planar Chromatography* 27 (5): 346–356.
- Plamada, D., in D. C. Vodnar. 2021. »Polyphenols-Gut Microbiota Interrelationship: A Transition to a New Generation of Prebiotics.« *Nutrients* 14 (1): 137.
- Quévrain, E., M. A. Maubert, C. Michon idr. 2016. »Identification of an Anti-Inflammatory Protein from *Faecalibacterium Prausnitzii*, a Commensal Bacterium Deficient in Crohn's Disease.« *Gut* 65 (3): 415–425.
- Rastmanesh, R. 2011. »High Polyphenol, Low Probiotic Diet for Weight Loss Because of Intestinal Microbiota Interaction.« *Chemico-Biological Interactions* 189 (1–2). <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.10.002>.

- Rizzatti, G., L. R. Lopetuso, G. Gibiino, C. Binda in A. Gasbarrini. 2017. »Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases.« *BioMed Research International* 2017:9351507.
- Salvucci, E. 2016. »Microbiome, Holobiont and the Net of Life.« *Critical Reviews in Microbiology* 42 (3): 485–494.
- Servi, E. Y., and H. Servi. 2022. »Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Helichrysum arenarium* (Roth) G. Don Commercial Essential Oil from Serbia.« *Natural Products and Biotechnology* 2 (1): 14–22.
- Simões, M., R. N. Bennett in E. A. S. Rosa. 2009. »Understanding Antimicrobial Activities of Phytochemicals against Multidrug Resistant Bacteria and Biofilms.« *Natural Product Reports* 26 (6): 746–757.
- Sung, M. M., T. T. Kim, E. Denou idr. 2017. »Improved Glucose Homeostasis in Obese Mice Treated with Resveratrol is Associated with Alterations in the Gut Microbiome.« *Diabetes* 66 (2): 418–425.
- Šovljanski, O., M. Ćimović, A. Tomić idr. 2024. »Antibacterial and Antifungal Potential of *Helichrysum arenarium* (Roth) G. Don Essential Oil.« *Antibiotics* 13 (8): 722.
- Taglialatela-Scafati, O., F. Pollastro, G. Chianese idr. 2013. »Antimicrobial Phenolics and Unusual Glycerides from *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 76 (3): 346–353.
- Tundis, R., G. A. Statti, F. Conforti idr. 2005. »Influence of Environmental Factors on Composition of Volatile Constituents and Biological Activity of *Helichrysum arenarium* (Roth) Don (Asteraceae).« *Natural Product Research* 19 (4): 379–387.
- Tuovinen, E., J. Keto, J. Nikkilä, J. Mättö in K. Lähdenmäki. 2013. »Cytokine Response of Human Mononuclear Cells Induced by Intestinal Clostridium Species.« *Anaerobe* 19:70–76.
- Walters, W. A., Z. Xu in R. Knight. 2014. »Meta-Analyses of Human Gut Microbes Associated with Obesity and IBD.« *FEBS Letters* 588 (22): 4223–4233.
- Węglarz, Z., O. Kosakowska, E. Pióro-Jabrucka idr. 2022. »Antioxidant and Antibacterial Activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. from Central Europe.« *Pharmaceuticals* 15 (6): 735.
- Wu, G. D., J. Chen, C. Hoffmann idr. 2011. »Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes.« *Science* 334 (6052): 105–108.
- Zeremski, T., O. Šovljanski, V. Vukić idr. 2024. »Combination of Chromatographic Analysis and Chemometric Methods with Bioactivity Evaluation of the Antibacterial Properties of *Helichrysum italicum* Essential Oil.« *Antibiotics* 13 (6): 499.

- Zheljazkov, V. D., I. Semerdjieva, E. Yankova-Tsvetkova idr. 2022. »Chemical Profile and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. and *Helichrysum italicum* (Roth.) G. Don.« *Plants* 11 (7): 951.
- Zmora, N., J. Suez in E. Elinav. 2019. »You Are What You Eat: Diet, Health and the Gut Microbiota.« *Nature Reviews: Gastroenterology and Hepatology* 16 (1): 35–56.

13

Učinki laškega smilja na presnovo

Zala Jenko Pražnikar

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*

Ana Petelin

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Zala Jenko Pražnikar in Ana Petelin

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.13>

Uvod

Debelost je velik javnozdravstveni problem, pomembno vpliva na kakovost življenja, skrajšuje življenjsko dobo in zvišuje tveganje za obolevnost. Še posebej zaskrbljujoče je, da se je pandemija debelosti v zadnjem desetletju močno razmahnila in doživela nadaljnjo rast ter poslabšanje po pandemiji covida-19 (Gammone in D’Orazio 2021). Debelost, zlasti visceralna debelost, negativno vpliva na skoraj vse fiziološke funkcije telesa, kar vodi do povečanega tveganja za razvoj sladkorne bolezni tipa 2, dislipidemije, srčno-žilnih bolezni, različnih vrst raka, mišično-skeletnih obolenj, nealkoholne maščobne bolezni jeter in presnovnega sindroma (Khanna idr. 2022).

Zdravljenje debelosti ni enostavno, ključni so multidisciplinaren pristop in spremembe na različnih področjih življenja. A sprememba življenjskega sloga od posameznika zahteva disciplino, saj gre za dolgotrajen proces, in zato velika večina posameznikov z debelostjo obupa. Posledično raziskovalci iščemo različne alternativne strategije, ki bi proces izgube telesne mase pospešile, povečale motivacijo posameznikov z debelostjo in bile hkrati varne.

Farmacevtska industrija sicer razvija številna zdravila za zdravljenje debelosti, a le nekaj izmed njih je odobrila Agencija za hrano in zdravila (Food and Drug Administration), saj so preiskovanci z debelostjo

v številnih kliničnih raziskavah poročali o hudih stranskih učinkih. Odobrena zdravila za zdravljenje debelosti so orlistat, fentermin/topiramid, naltrekson/bupropion, liraglutid, semaglutamid idr.

A kljub določenim zdravilom so v zadnjem času vse bolj zaželeni naravni izvlečki z bioaktivnimi spojinami, ki imajo potencial za pospešitev izgube telesne mase. Zanimanje za živila in pijače z bioaktivnimi spojinami, ki bi lahko pripomogle k preprečevanju pridobivanja telesne mase oz. k izgubljanju slednje, je naraslo sorazmerno s porastom epidemije debelosti (Gregersen idr. 2009). Bioaktivne spojine v teh živilih lahko delujejo na različne biološke poti v telesu, predvsem na zaviranje apetita in hitrejšo doseganje sitosti ter na pospešeno presnovo v mirovanju na račun termogeneze in oksidacije maščob (Sunkara in Verghese 2014). S tega vidika je izredno zanimiv tudi laški smilj oz. čaj laškega smilja.

Učinki laškega smilja na presnovo v mirovanju

Učinke laškega smilja na presnovo v mirovanju smo preučevali le na UP tekom pilotne klinične raziskave (Kenig idr. 2021). Glavna ugotovitev omenjene raziskave je bila, da poparek laškega smilja spodbuja β -oksidacijo maščobnih kislin pri zdravih moških preiskovancih, kar je bilo dodatno potrjeno tudi v hepatocitih *in vitro* (Kenig idr. 2021). Dokazan akutni učinek poparka laškega smilja na povečano presnovo v mirovanju lahko pripišemo številnim bioaktivnim spojinam poparka laškega smilja, hidroksicimetnim kislinam in njihovim derivatom, derivatom arzanola in flavonoidom ter tudi njihovim sinergističnim učinkom.

V dotični pilotni raziskavi smo dokazali, da že enkratno zaužitje poparka laškega smilja v primerjavi z zaužitjem vode enake količine in temperature vodi do značilno večje porabe energije v mirovanju (za 4 %) in značilno spodbujene β -oksidacije maščobnih kislin (za 12 %) v dveh urah po zaužitju. Omenjeni rezultat je v skladju s kliničnimi raziskavami, ki so preučevale antiobesogene učinke klorogenske kisline (Soga idr. 2013; Thom 2007; Park idr. 2017), pri čemer je treba razmejiti med kroničnim in akutnim učinkom. Za klorogensko kislino je bilo pokazano, da inhibira cAMP fosfodiesterazo, kar vodi do povečane količine cAMP in z adenozin fosfatom aktivirane protein-kinaze (AMPK), glavnega senzorja energijske presnove, kar posledično rezultira tudi v povečani β -oksidaciji maščobnih kislin (Bruckbauer in Zemel 2014). Ker je učinek poparka laškega smilja zaznan po dveh urah od samega zaužitja in ker je bila po 2,3 ure zaznana tudi najvišja koncentracija klorogenske kisline v krvnem obtoku (Monteiro idr. 2007), je predlagani mehanizem eden izmed zelo verjetnih.

Z namenom potrditve učinkov poparka laškega smilja na presnovo lipidov oz. β -oksidacijo maščobnih kislin smo v nadaljevanju izvedli tudi poskuse na hepatocitih HepG2 (Kenig idr. 2021). Ugotovili smo, da je 24-urno tretiranje celic s poparkom laškega smilja povečalo izražanje genov *CPT1* in *CPT2* ter znižalo izražanje gena *ACACA*; omenjeni geni oz. njihovi proteinski produkti sodelujejo pri presnovi maščob. Karnitin-palmitoil transferaze (CPT) imajo ključno vlogo pri prenosu aktiviranih maščobnih kislin v matriks mitohondrija, kjer v nadaljevanju poteka oksidacija maščobnih kislin, *ACACA* pa je pomemben protein, ki nadzira hitrost sinteze malonil-CoA, negativnega regulatorja β -oksidacije. Torej, poparek laškega smilja na eni strani vpliva na povečano oksidacijo maščobnih kislin preko proteinov CPT, na drugi strani pa na zmanjšano tvorbo proteina *ACACA*, kar posledično vodi do zmanjšanja količine malonil-CoA, kar v končni fazi spet spodbudi oksidacijo maščobnih kislin. Kljub različnim mehanizmom je viden ugoden učinek uživanja poparka laškega smilja na presnovo maščobnih kislin, predvsem na β -oksidacijo maščobnih kislin.

Učinek poparka laškega smilja na β -oksidacijo maščobnih kislin je bil dodatno potrjen tekom analize transkriptoma primarnih črevesnih celic (Kramberger idr. 2021). Izpostaviti velja, da je poparek laškega smilja vplival na povečano izražanje gena *LRPRC*, pri čemer so Shi Lei idr. (2016) pokazali, da protein *LRPRC* spodbuja privzem palmitata in njegovo oksidacijo v hepatocitih miši, torej pospešuje β -oksidacijo (Lei idr. 2016). Poleg tega je bilo povečano izražanje po tretiranju celic s poparkom laškega smilja zaznано tudi za gen *LIPA*, ki kodira lipazo A, encim, ki hidrolizira holesterolne estre in triacilglicerole v lizosomih. Torej, tudi v primarnih črevesnih celicah so se po tretmaju s poparkom laškega smilja začeli v večji meri izražati geni, ki so aktivirali procese, ki v splošnem spodbujajo presnovo maščob in tudi β -oksidacijo maščobnih kislin.

Na podlagi zapisanega lahko ugotovimo, da so učinki poparka laškega smilja z vidika pospešitve presnove, predvsem presnove maščob, zanimivi tako z vidika akutnosti kot z vidika dolgoročne uporabe, pri čemer je opazno tkivno specifično delovanje.

Učinki laškega smilja na antropometrične parametre in na krvni tlak

Kliničnih raziskav, ki bi preučevale učinke laškega smilja (izvlečka ali poparka celotne rastline) na antropometrične meritve in krvni tlak, je malo, je pa v nasprotju s tem več kliničnih raziskav, ki so preučevale njegove posamezne izolirane bioaktivne spojine. Do sedaj edina klinična raziskava,

ki je preučevala učinke poparka laškega smilja na antropometrične parametre in krvni tlak, je raziskava Saše Kenig idr. (2022), v kateri so udeleženci v štiritedenski intervenciji poleg svojih običajnih prehranjevalnih navad uživali še 2 dcl poparka čaja iz laškega smilja. Rezultati klinične raziskave so pokazali, da se preiskovancem po končani intervenciji zmanjšajo telesna masa, indeks telesne mase (ITM), odstotek maščobne mase v telesu ter stopnja visceralne debelosti (Kenig idr. 2022). Vse te učinke lahko pripišemo dejstvu, da poparek laškega smilja spodbuja β -oksidacijo maščobnih kislin, kar je bilo pokazano tudi v akutni pilotni raziskavi pri zdravih moških preiskovancih in dodatno potrjeno tudi v hepatocitih *in vitro* (Kenig idr. 2021) ter razloženo v predhodnem poglavju. Rezultati so tudi v skladu z učinki posameznih bioaktivnih spojin, ki so zastopane v laškem smilju. Ena takih je klorogenska kislina. V raziskavi, kjer so posamezniki s prekomerno telesno maso in debelostjo uživali kavo, obogateno s klorogensko kislino, so v primerjavi s posamezniki, ki so uživali instant kavo, izgubili več telesne mase in maščob v telesu (Thom 2007). Podobno so pokazali tudi Wakatabe idr. (2019) v svoji raziskavi, kjer so se preiskovancem s prekomerno telesno maso, ki so tri mesece uživali kavo iz zelenih kavnih zrn, obogateno s klorogensko kislino, statistično značilno zmanjšali telesna masa, obseg pasu in stopnja visceralne maščobe v primerjavi s kontrolno skupino (Watanabe idr. 2019). V raziskavi Raquel Revuelta-Iniesta in Emada Al-Dujailija (2014) pa se je posameznikom, ki so dva tedna uživali črno kavo, obogateno s klorogensko kislino, poleg ITM in abdominalne maščobe izboljšal tudi sistolični krvni tlak v primerjavi s posamezniki, ki so uživali samo črno kavo (Revuelta-Iniesta in Al-Dujaili 2014).

Poleg klorogenske kisline naj omenimo še ostale bioaktivne spojine, ki so med bolj zastopanimi v laškem smilju, te so kvercetin, miricetin, naringenin in kemferol. Osemtedenska intervencija z uživanjem 150 mg kvercetina je učinkovala na zmanjšanje obsega pasu, ne pa na ITM pri zdravih moških z različnimi genotipi ApoE (Pfeuffer idr. 2013). Nadalje je raziskava na db/db miših s pomanjkanjem leptinskih receptorjev, ki so jih 14 tednov hranili z miricetinom (400 mg/kg), pokazala, da se je miškam po intervenciji zmanjšala telesna masa (Hu idr. 2018). Podobne učinke na izgubo telesne mase je imelo tudi 40-dnevno dodajanje kemferola (0,5 mg/kg/dan) miškam z debelostjo (Romero-Juárez idr. 2023).

Učinki laškega smilja na presnovo glukoze oz. na glukostazo

Številne raziskave so dokazale inhibitoren učinek fenolnih spojin na α -amilazo, na encim prebavnega sistema (Shodehinde idr. 2015) in s tem povezano upočasnitev presnove ogljikovih hidratov ter zmanjšano absorpcijo monosaharidov. Zdravstveni učinki fenolnih spojin v povezavi z inhibicijo α -amilaze v črevesnem traktu so torej povezani z zmanjšanjem absorpcije glukoze (in tudi drugih monosaharidov), izboljšanjem razmerja med glukozo in inzulinom itd. Inhibitorni učinek na α -amilazo lahko pripišemo tudi izvlečkom laškega smilja, saj so de la Garza idr. (2013) dokazali, da je metanolni izvleček laškega smilja znižal vrednosti glukoze v krvi na tešče po obroku ter izboljšal hiperinzulinemijo na živalskem modelu na inzulin odpornih podgan (de la Garza idr. 2013). Raziskovalci so nedvomno potrdili antidiabetične učinke metanolnega izvlečka *in vivo*. Poleg tega je metanolni izvleček laškega smilja inhibiral aktivnost encimov α -amilaze in α -glukozidaze *in vitro*, znižal pa je tudi presnovo maltoze in zavrl privzem metilglukozida preko receptorja SGLT1 v celicah Caco-2. Podobno so potrdili tudi Sandra Gonçalves idr. (2017) za metanolni izvleček *H. italicum* ter Catarina Guerreiro Pereira idr. (2017) za vodne izvlečke (poparke in prevretke) cvetov *H. italicum* subsp. *picardii* (Gonçalves idr. 2017; Guerreiro Pereira idr. 2017). V obeh primerih so raziskovalci zaznali inhibitorno delovanje izvlečkov laškega smilja na α -glukozidazo.

Na podlagi navedenih raziskav lahko ugotovimo, da imajo metanolni in vodni izvlečki (poparki in prevretki) laškega smilja spodbudno antidiabetično delovanje, in bi uživanje poparkov laškega smilja lahko priporočili tako posameznikom s sladkorno boleznijo kot tistim s prekomerno telesno maso, z debelostjo ali presnovnim sindromom. Kljub zelo spodbudnim rezultatom raziskav *in vitro* ter *in vivo* pa značilno pomembnega učinka poparka laškega smilja na serumske vrednosti glukoze pri posameznikih s prekomerno telesno maso ni bilo zaznati v klinični raziskavi (Kenig idr. 2022). Bistveno večji učinek na serumske koncentracije glukoze je imel peščen smilj (Kenig idr. 2022). Izpostaviti velja, da rezultati raziskav *in vitro* ter *in vivo* niso vedno ponovljivi tekom klinične raziskave, saj imamo v realnem sistemu bistveno več dejavnikov, ki lahko vplivajo na končni rezultat, in te dejavnike tudi bistveno težje nadziramo. Poleg tega so lahko rezultati različni, če preučujemo poparek laškega smilja na osebah s sladkorno boleznijo ali asimptomatskih osebah z ravnimi serumske glukoze znotraj referenčnih vrednosti.

Učinki laškega smilja na lipidni profil

Podobno kot na α -amilazo številne fenolne spojine inhibitorno delujejo tudi na lipaze, encime, ki razgrajujejo triacilglicerole, in na tak način vplivajo na zakasnelo/zmanjšano absorpcijo maščob ter posledično na ugodnejši lipidni profil v serumu (de la Garza idr. 2011). Izvedenih je bilo veliko raziskav *in vitro*, kjer so raziskovalci za številne fenolne spojine dokazali inhibitorno delovanje na lipaze. Omeniti velja tudi klorogensko ter kavno kislino, zelo zastopani bioaktivni spojini v metanolnih in vodnih izvlečkih laškega smilja (Raghavendra idr. 2007).

Kot je bilo že predhodno povedano, je analiza transkriptoma primarnih črevesnih celic po tretmaju s poparkom laškega smilja pokazala na spremenjeno izražanje številnih genov, ki imajo pomembno vlogo pri presnovi lipidov (Kramberger idr. 2022). Izpostavljeno je bilo povečano izražanje gena *LRPRC*, ki nosi zapis za protein LRPRC, ki spodbuja privzem palmitata in njegovo oksidacijo v hepatocitih miši. Predhodno je bilo omenjeno tudi povečano izražanje gena *LIPA* po tretmaju s poparkom laškega smilja. Gen kodira lipazo A, encim, ki hidrolizira holesterolne estre in triacilglicerole v lizosomih. Povečana izraženost je bila zaznana tudi za gen *ABCA12*, ki kodira transporter ATP-vezavne kasete in je udeležen v transportu lipidov ter homeostazi holesterola. Na drugi strani pa sta bila gena *PRKARIA* in *ANXA6* med najzavrtnejšimi geni po tretiranju celic s poparkom laškega smilja, če primerjamo izraženost genov s kontrolnimi, netretiranimi celicami. Gen *PRKARIA* kodira regulatorno podenoto tipa 1 α od cAMP-odvisne protein-kinaze, ki inhibira kinazno aktivnost katalitske podenote encima (Bossis in Stratakis 2004). Aneksin A6 (*ANXA6*) je protein za vezavo lipidov, ki je močno izražen v jetrih, kjer regulira homeostazo holesterola in signalnih poti, pomembnih za fiziologijo jeter (Meier idr. 2016). Laia Cubells idr. (2007) so pokazali, da povišano izražanje proteina *ANXA6* povzroči sekvenciacijo in znižan izvoz holesterola iz poznih endosomov (Cubells idr. 2007). Kopičenje holesterola v lizosomih je pomembna tarča za preprečevanje presnovnih bolezni, za katere je značilen vnetni odziv, kar nakazuje, da bi bilo uživanje izvlečkov iz smilja lahko koristno tudi s tega vidika (Hendrikx idr. 2014). Torej, če povzamemo glavne ugotovitve omenjene raziskave *in vitro*, lahko zatrdimo, da ima poparek laškega smilja pomembno vlogo pri presnovi in regulaciji homeostaze maščobnih kislin ter holesterola.

[illegible]

221

Zaključek

Če povzamemo ugotovitve vseh navedenih raziskav, lahko sklepamo, da ima laški smilj velik potencial za posameznike z debelostjo, presnovnim sindromom in tudi drugimi kroničnimi obolenji. Pokazano je namreč bilo, da laški smilj učinkovito pospeši presnovo, predvsem presnovo maščob, vpliva pa tako na presnovne poti maščobnih kislin kot tudi na presnovne poti holesterola. Poleg omenjenega kaže tudi hepatoprotektivne učinke, predvsem v nižanju serumskih koncentracij jetrnih encimov (AST in ALT), zaradi česar je koristen tudi za osebe z zamaščenostjo jeter. Nenazadnje je zanimiv tudi z vidika učinkovanja na črevesno mikrobo združbo in prepustnost črevesne stene, kar je bilo natančneje pojasnjeno v prejšnjem poglavju (slika 1).

Izpostaviti velja, da rezultati raziskav na celičnih in živalskih modelih niso vedno ponovljivi tekom kliničnih raziskav, kar je bilo vidno v povezavi z učinkovanjem laškega smilja na homeostazo glukoze. A hkrati velja poudariti, da je izvedenih še premalo kliničnih raziskav, da bi lahko z gotovostjo trdili, da laški smilj učinkuje na glukozno homeostazo pri posameznikih z debelostjo. So pa njegovi organski izvlečki zanimivi tudi v povezavi z drugimi presnovnimi potmi. Italijanski farmakolog Benigni idr. (1962) je na podganah preučeval izvlečke cvetov smilja, pripravljene z organskim topilom v odmerku 5 mg/dan. Pokazal je, da je tak izvleček značilno podaljšal življenje podgan, ki so jim kirurško odstranili nadledvične žleze, kar nakazuje, da ima izvleček kortizonu podobno delovanje (Benigni idr. 1962). Telesu lastni glukokortikoidi predstavljajo pomemben del človeške presnove in sodelujejo v celi vrsti fizioloških procesov, tudi pri uravnavanju vnetja in imunskega sistema. Vplivajo pa tudi na presnovo kosti in mišic ter uravnavajo ravnovesje mineralov in vode v telesu. Dodatno so Sandra Gonçalves idr. (2017) preučevali izvlečke laškega smilja na aktivnost encimov, povezanih z Alzheimerjevo boleznijo (Gonçalves idr. 2017). Raziskovalci so ugotovili, da je izvleček zaviral acetilholin esterazo (78,2 %) in tirozinazo (74,1 %). Torej, vidno je, da je laški smilj zanimiv z različnih zdravstvenih vidikov in potrebne so nadaljnje raziskave, da bomo natančneje razumeli tudi mehanistične poti.

Viri

- Benigni, R., C. Capra in P. E. Cattorini. 1962. *Piante medicinali: chimica farmacologia e terapia*. Inverni and Della Beffa.
- Bossis, I., in C. A. Stratakis. 2004. »Minireview: PRKAR1A: Normal and Abnormal Functions.« *Endocrinology* 145 (12): 5452–5458.

- Bruckbauer, A., in M. B. Zemel. 2014. »Synergistic Effects of Polyphenols and Methylxanthines with Leucine on AMPK/Sirtuin-Mediated Metabolism in Muscle Cells and Adipocytes.« *PLoS One* 9 (2): e89166.
- Cubells, L., S. Vilà de Muga, F. Tebar idr. 2007. »Annexin A6-Induced Alterations in Cholesterol Transport and Caveolin Export from the Golgi Complex.« *Traffic* 8 (11): 1568–1589.
- Gammone, M. A., in N. D’Orazio. 2021. »COVID-19 and Obesity: Overlapping of Two Pandemics.« *Obes Facts* 14 (6): 579–585.
- Garza, A. L. de la, F. I. Milagro, N. Boque, J. Campión in J. A. Martínez. 2011. »Natural Inhibitors of Pancreatic Lipase as New Players in Obesity Treatment.« *Planta Medica* 77 (8): 773–785.
- Garza, A. L. de la, U. Etxeberria, M. P. Lostao idr. 2013. »Helichrysum and Grapefruit Extracts Inhibit Carbohydrate Digestion and Absorption, Improving Postprandial Glucose Levels and Hyperinsulinemia in Rats.« *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (49): 12012–12019.
- Gonçalves, S., E. Moreira, C. Grosso, P. B. Andrade, P. Valentão in A. Romano. 2017. »Phenolic Profile, Antioxidant Activity and Enzyme Inhibitory Activities of Extracts from Aromatic Plants Used in Mediterranean Diet.« *Journal of Food Science and Technology* 54 (1): 219–227.
- Gregersen, N. T., C. Bitz, I. Krog-Mikkelsen idr. 2009. »Effect of Moderate Intakes of Different Tea Catechins and Caffeine on Acute Measures of Energy Metabolism Under Sedentary Conditions.« *British Journal of Nutrition* 102 (8): 1187–1194.
- Guerreiro Pereira, C., L. Barreira, S. Bitttebier idr. 2017. »Chemical Profiling of Infusions and Decoctions of *Helichrysum italicum* subsp. *picardii* by UHPLC-PDA-MS and *in vitro* Biological Activities Comparatively with Green Tea (*Camellia sinensis*) and Rooibos Tisane (*Aspalathus linearis*).« *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 145 (11): 593–603.
- Hendriks, T., S. M. Walenbergh, M. H. Hofker in R. Shiri-Sverdlov. 2014. »Lysosomal Cholesterol Accumulation: Driver on the Road to Inflammation during Atherosclerosis and Non-Alcoholic Steatohepatitis.« *Obesity Reviews* 15 (5): 424–433.
- Hu, T., X. Yuan, G. Wei, H. Luo, H. J. Lee in W. Jin. 2018. »Myricetin-Induced Brown Adipose Tissue Activation Prevents Obesity and Insulin Resistance in Db/Db Mice.« *European Journal of Nutrition* 57 (1): 391–403.
- Kenig, S., K. Kramberger, A. Petelin idr. 2021. »*Helichrysum italicum* ssp. *italicum* Infusion Promotes Fat Oxidation in Hepatocytes and Stimulates Energy Expenditure and Fat Oxidation after Acute Ingestion in Humans: A Pilot Study.« *Plants* 10 (8): 1516.

- Kenig, S., K. Kramberger, K. Šik Novak idr. 2022. »*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench Infusions in Reversing the Traits of Metabolic Syndrome: A Double-Blind Randomized Comparative Trial.« *Food and Function* 13 (14): 7697–7706.
- Khanna, D., S. Khanna, P. Khanna, P. Kahar in B. M. Patel. 2022. »Obesity: A Chronic Low-Grade Inflammation and Its Markers.« *Cureus* 14 (2): e22711.
- Kramberger, K., D. Barlič-Maganja, Z. J. Pražnikar idr. 2022. »Whole Transcriptome Expression Array Analysis of Human Colon Fibroblasts Culture Treated with *Helichrysum italicum* Supports Its Use in Traditional Medicine.« *Journal of Ethnopharmacology* 296 (1): 115505.
- Kramberger, K., Z. Jenko Pražnikar, A. Baruca Arbeiter idr. 2021. »A Comparative Study of the Antioxidative Effects of *Helichrysum italicum* and *Helichrysum arenarium* Infusions.« *Antioxidants* 10 (3): 380.
- Lei, S., R. Z. Sun, D. Wang idr. 2016. »Increased Hepatic Fatty Acids Uptake and Oxidation by LRPPRC-Driven Oxidative Phosphorylation Reduces Blood Lipid Levels.« *Frontiers in Physiology* 7:270.
- Li, N., C. Cui, J. Xu, M. Mi, J. Wang in Y. Qin. 2024. »Quercetin Intervention Reduced Hepatic Fat Deposition in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Crossover Clinical Trial.« *American Journal of Clinical Nutrition* 120 (3): 507–517.
- Meier, E. M., L. Rein-Fischboeck, R. Pohl idr. 2016. »Annexin A6 Protein is Downregulated in Human Hepatocellular Carcinoma.« *Molecular and Cellular Biochemistry* 418 (1–2): 81–90.
- Monteiro, M., A. Farah, D. Perrone, L. C. Trugo in C. Donangelo. 2007. »Chlorogenic Acid Compounds from Coffee are Differentially Absorbed and Metabolized in Humans.« *Journal of Nutrition* 137 (10): 2196–22201.
- Naeini, F., Z. Namkhah, H. Tutunchi idr. 2021. »Effects of Naringenin Supplementation in Overweight/Obese Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Study Protocol for a Randomized Double-Blind Clinical Trial.« *Trials* 22 (1): 801.
- Namkhah, Z., F. Naeini, S. Mahdi Rezayat, Mehdi Yaseri, S. Mansouri in M. Javad Hosseinzadeh-Attar. 2021. »Does Naringenin Supplementation Improve Lipid Profile, Severity of Hepatic Steatosis and Probability of Liver Fibrosis in Overweight/Obese Patients with NAFLD? A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Clinical Trial.« *International Journal of Clinical Practice* 75 (11): e14852.
- Park, I., R. Ochiai, H. Ogata idr. 2017. »Effects of Subacute Ingestion of Chlorogenic Acids on Sleep Architecture and Energy Metabolism Through Activity of the Autonomic Nervous System: A Randomised, Placebo-

- Controlled, Double-Blinded Cross-Over Trial.« *British Journal of Nutrition* 117 (7): 979–984.
- Pfeuffer, M., A. Auinger, U. Bley idr. 2013. »Effect of Quercetin on Traits of the Metabolic Syndrome, Endothelial Function and Inflammation in Men with Different APOE Isoforms.« *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 23 (5): 403–409.
- Raghavendra, M. P., P. R. Kumar in V. Prakash. 2007. »Mechanism of Inhibition of Rice Bran Lipase by Polyphenols: A Case Study with Chlorogenic Acid and Caffeic Acid.« *Journal of Food Science* 72 (8): E412– E419.
- Revuelta-Iniesta, R., in E. Al-Dujaili. 2014. »Consumption of Green Coffee Reduces Blood Pressure and Body Composition by Influencing 11 β -HSD1 Enzyme Activity in Healthy Individuals: A Pilot Crossover Study Using Green and Black Coffee.« *BioMed Research International*: 482704.
- Romero-Juárez, P. A., D. B. Visco, R. Manhães-de-Castro idr. 2023. »Dietary Flavonoid Kaempferol Reduces Obesity-Associated Hypothalamic Microglia Activation and Promotes Body Weight Loss in Mice with Obesity.« *Nutritional Neuroscience* 26 (1): 25–39.
- Shodehinde, S. A., A. O. Ademiluyi, G. Oboh in A. A. Akindahunsi. 2015. »Contribution of Musa Paradisiaca in the Inhibition of α -Amylase, α -Glucosidase and Angiotensin-I Converting Enzyme in Streptozotocin Induced Rats.« *Life Sciences* 133 (2): 8–14.
- Soga, S., N. Ota in A. Shimotoyodome. 2013. »Stimulation of Postprandial Fat Utilization in Healthy Humans by Daily Consumption of Chlorogenic Acids.« *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 77 (8): 1633–1636.
- Sunkara, R., in M. Verghese. 2014. »Functional Foods for Obesity Management.« *Food and Nutrition Sciences* 5 (14): 1359–1369.
- Thom, E. 2007. »The Effect of Chlorogenic Acid Enriched Coffee on Glucose Absorption in Healthy Volunteers and Its Effect on Body Mass When Used Long-Term in Overweight and Obese People.« *Journal of International Medical Research* 35 (6): 900–908.
- Watanabe, T., S. Kobayashi, T. Yamaguchi, M. Hibi, I. Fukuhara in N. Osaki. 2019. »Coffee Abundant in Chlorogenic Acids Reduces Abdominal Fat in Overweight Adults: A Randomized, Double-Blind, Controlled Trial.« *Nutrients* 11 (7): 1617.
- Xue, H., M. Wei in L. Ji. 2023. »Chlorogenic Acids: A Pharmacological Systematic Review on Their Hepatoprotective Effects.« *Phytomedicine* 118 (1): 154961.

14

Uporaba laškega smilja v dermatologiji

Saša Kenig

*Fakulteta za vede o zdravju,
Univerza na Primorskem*



© 2025 Saša Kenig

<https://doi.org/10.26493/978-961-293-525-2.14>

Laški smilj je javnosti dobro znan predvsem kot sestavina kozmetičnih izdelkov, saj ima značilen prijeten vonj in številne ugodne učinke za kožo. Ti so poznani predvsem iz tradicionalne rabe, potrjujejo pa jih tudi znanstvene raziskave. Ena od prvih omemb rastlin iz rodu družine *Helichrysum* sega v 2. stoletje pred našim štetjem: opisana je uporaba smilja, pomešanega z medom, za lajšanje opeklin ter ugrizov strupenih živali (Scarborough 1978). Tradicionalna raba je popisana predvsem v Franciji, Španiji in Italiji, kjer so največja naravna nahajališča te rastline. Omenja se za spopadanje z različnimi kožnimi stanji, npr. hematomi in brazgotinami, alopecijo ter različnimi kožnimi vnetnimi stanji, pa tudi za pomoč pri celjenju ran, pri čemer je najpogosteje uporabljeno eterično olje (Antunes Viegas idr. 2014). Prve klinične raziskave na ljudeh je izvedel italijanski znanstvenik Leonardo Santini, ki je že okrog leta 1940 preučeval uporabnost smilja pri luskavici (Santini 1952), v zadnjih dveh desetletjih pa so bile z znanstvenimi pristopi preučene še številne druge aplikacije te rastline. Za nekatere učinke so dobro pojasnjeni tudi mehanizmi delovanja. Pri tem je treba upoštevati, da se lahko mehanizmi delovanja pri neposrednem nanosu na kožo ali pri zaužitju pripravkov razlikujejo. Pri uživanju se nekatere bioaktivne snovi namreč slabo absorbirajo iz črevesja v krvni obtok, nekatere pa v črevesju presnavlja naravno prisotna

mikrobiota. Pri nanosu na kožo to ne velja, učinkujejo lahko vse prisotne bioaktivne spojine.

Celjenje rane

Med najboljše raziskanimi možnimi delovanji laškega smilja je njegova uporabnost za pospešitev celjenja ran. Celjenje ran poteka v več fazah (Guyton in Hall 2011). Začne se s skrčitvijo žil, nato se tvori beli čep, sestavljen iz trombocitov, v naslednji fazi pa se aktivira kaskada strjevanja krvi in ob sodelovanju številnih krvnih faktorjev se tvori rdeči čep. Ta faza je namenjena preprečevanju nadaljnje krvavitve. Skoraj sočasno se začne vnetna faza, v kateri na mesto rane s krvjo prispejo imunske celice, ki preprečujejo okužbe ter odstranjujejo poškodovane ali odmrle celice. Zatem se mora kožno tkivo regenerirati, kar vključuje migracijo nepoškodovanih fibroblastov, ti se namnožijo in pospešeno proizvajajo komponente zunajceličnega matriksa. Ključni komponenti zunajceličnega matriksa v koži sta beljakovini kolagen, ki koži daje trdnost, ter elastin, zahvaljujoč kateremu je koža elastična, od ogljikovih hidratov pa je pomembna hialuronska kislina, ki veže veliko vode in torej služi hidriranosti kože. V začetnih fazah celjenja je pomembna predvsem tvorba kolagena. Sledijo tudi delitev epitelijskih kožnih celic ter ustrezna razporeditev in povezovanje komponent zunajceličnega matriksa.

Učinke izvlečkov na celjenje rane lahko testiramo s testi *in vitro* ter *in vivo*, pri čemer se s testi *in vitro* lahko preučuje posamezne faze celjenja. Merimo lahko npr. učinke na aktivnost posameznih modulatornih encimov; to so najpogostejše tisti, ki izgrajujejo ali razgrajujejo komponente zunajceličnega matriksa. S celičnimi modeli lahko preučimo, če izvlečki delujejo na delitev celic, ki so v koži pomembne, to so fibroblasti, kožne epitelijske celice (keratinociti) in kožne matične celice; slednje se nahajajo na bazalni membrani, ki razmejuje epitelijsko plast (epidermis) in vezivno plast kože (dermis). Testiramo lahko tudi migracijsko sposobnost različnih kožnih celic. Za preučevanje podrobnejšega mehanizma delovanja lahko z metodo PCR ali ELISA merimo izražanje posameznih celičnih beljakovin ali pripadajočih molekul mRNA, npr. encimov, ki sodelujejo pri tvorbi kolagena, elastina in hialuronske kisline, samih komponent zunajceličnega matriksa, različnih rastnih faktorjev, ki spodbujajo celično delitev, ter vnetnih faktorjev. Ker je celjenje rane kompleksen proces, je dejanski učinek na celjenje mogoče izmeriti le *in vivo*, na ljudeh ali živalskih modelih. Učinek na kaskado strjevanja

krvi lahko določimo tako, da odvzamemo krvni vzorec, ga pomešamo z izvlečki ter merimo čas strjevanja krvi ali protrombinski čas.

Raziskave *in vitro*

Pri vrednotenju delovanja laškega smilja na posamezne faze celjenja se je pokazalo, da eterično olje zavira encimsko aktivnost kolagenaze in elastaze (Fraternale idr. 2019). Ta učinek je mogoče pripisati limonenu in α -pinenu, saj sta ti dve spojini, v enaki koncentraciji, kot je prisotna v izvlečku, izkazali podobno zaviranje encimske aktivnosti, takega učinka pa ni bilo mogoče ugotoviti za nerol, neril acetat ali linalool.

V zanimivi raziskavi so Carmen Gaidau idr. (2023) pripravili nanovlakna iz ribjih lusk – te vsebujejo podobne komponente zunajceličnega matriksa kot človeška koža –, nanje pa so nanесли EDTA, eterično olje smilja ali sivke. Nanovlakna s smiljem so najmočnejše pospešila migracijo fibroblastov, prav tako pa je naneseno olje delovalo izrazito protimikrobno, kar je pomembno, saj so okužbe ran eden pomembnejših vzrokov za podaljšanje časa celjenja (Gaidau idr. 2023). Migracijo fibroblastov ter kožnih matičnih celic je pospešil tudi hidrolat iz laškega smilja, ob izpostavitvi se je nekoliko povečala tudi njihova proliferacija (Serra idr. 2023). V fibroblastih je vodno-alkoholni izvleček laškega smilja povzročil povišanje izražanja fibroblastnega rastnega faktorja FGF-2 ter hialuronan sintaze-2, znižal pa izražanje metaloproteinaze 9, ki služi razgradnji kolagena (Pekmezci in Türkoğlu 2023). V dinamičnem celičnem modelu, v katerem je zahvaljujoč nenehnemu pretoku/izmenjavi gojišča mogoča komunikacija med več celičnimi vrstami, je bilo pokazano, da ob izpostavitvi hidrolatu iz laškega smilja kožne matične celice izražajo več biooznačevalcev matičnih celic, kar kaže na boljšo regeneracijsko sposobnost kože (Serra idr. 2024). Podobno kot je bilo za antioksidativno in protivnetno delovanje pokazano, da se v odpadni vodi po destilaciji nahaja dovolj bioaktivnih spojin, da je učinek občuten, velja tudi pri posameznih fazah procesa celjenja (Addis idr. 2020). Pokazalo se je namreč, da izvleček iz odpadne vode prvih 72 h sicer nima vpliva na preživetje in delitev fibroblastov, dolgotrajna izpostavitve pa pospeši njihovo proliferacijo. Izmerjena migracijska sposobnost pri uporabi izvlečka v različnih koncentracijah ni bila konsistentno povečana, se je pa ob sočasni uporabi izvlečka iz laškega smilja in ognjiča pokazal izrazit sinergistični učinek (Addis idr. 2020). Nekaj uporabnih informacij lahko dobimo tudi iz raziskave, ki je sicer potekala na črevesnih fibroblastih, vendar ravno tako podpira uporabo laškega smilja za celjenje ran (Kramberger idr.

2022). Z analizo celotnega transkriptoma je bilo pokazano, da izvleček vpliva na izražanje številnih genov, ki so povezani s celjenjem, in sicer npr. s hemostazo, z migracijo fibroblastov, reorganizacijo citoskeleta ter medceličnimi povezavami in povezavami med celicami ter zunajceličnim matriksom, ki se morajo tvoriti ob zaprtju rane. Poleg tega so celice, izpostavljene izvlečku, tvorile snovi za pospeševanje koagulacije. Ko smo gojišče, v katerem so rasle celice in bile izpostavljene izvlečku, pomešali s krvnim vzorcem, je krvni strdek nastal hitreje, skrajšan pa je bil tudi protrombinski čas (Kramberger idr. 2022).

Raziskave *in vivo*

V raziskavi na živalskem modelu podgan s sladkorno boleznijo tipa II (Andjić idr. 2022) so primerjali kontrolno mazilo z mazilom, v katerega so dodali eterično olje laškega smilja, pri celjenju kirurško inducirane rane. Podgane s sladkorno boleznijo so izbrali zato, ker je pri sladkorni bolezni zaradi hiperglikemije cirkulacija oslABLJena, celjenje pa posledično počasnejše. Po 21 dneh nanašanja mazila je bila rana popolnoma zaprta le v primeru uporabe mazila z laškim smiljem. Ob tem je histopatološka analiza pokazala, da je bila po uporabi takega mazila na mestu rane povečana količina hidroksiprolina; to je aminokislina, ki je značilna za kolagen in torej nakazuje izboljšano tvorbo te ključne komponente zunajceličnega matriksa. Znižan je bil tudi sistemski oksidativni stres, ki se zaradi same rane izrazito poveča. Največja razlika se je pokazala pri analizi vezivne plasti kože – pri kontrolni skupini je ta plast vsebovala večje količine fibroblastov, vendar manjšo vsebnost zunajceličnih strukturnih beljakovin. To pomeni, da so se celice, odgovorne za proizvodnjo strukturnih beljakovin, sicer že namnožile, njihov učinek pa še ni bil viden. Poleg tega je bilo v kontrolni skupini na mestu rane še vedno veliko več makrofagov, kar kaže na to, da se proces vnetja še ni zaključil. Uporaba mazila z laškim smiljem je torej pospešila proces celjenja, pomembno pa je tudi, da ob uporabi raziskovalci niso zaznali nikakršnih negativnih učinkov na kožo, npr. otekline, rdečice ali srbečice (Andjić idr. 2022). Med spojinami, zaslužnimi za celjenje rane, lahko izpostavimo apigenin. Ko so pripravek s to spojino nanašali na kirurško inducirano rano pri testnih živalih, je bila v primerjavi s kontrolo po koncu zdravljenja povečana natezna trdnost predhodno ranjene kože, povečala se je tudi količina hidroksiprolina. S testom *in vitro* so potrdili tudi zaviralni učinek apigenina na aktivnost hialuronidaze in kolagenaze (Süntar idr. 2013).

Zaenkrat obstaja le ena raziskava, v kateri so preučevali laški smilj za celjenje rane pri ljudeh. Ko so pacienti po operaciji prsnega koša najprej deset dni uživali po dve kapljici eteričnega olja smilja na dan, nato pa so jim olje nanašali na kožo dva do tri mesece, so se občutno zmanjšali lokalno vnetje, edem, hematomi in brazgotina (Voinchet in Giraud-Robert 2007). Poleg tega so pacienti olje dobro prenašali.

Drugi ugodni učinki na kožo

Poleg celjenja rane je laški smilj preučevan predvsem v kontekstu regeneracije kože in njene zaščite pred poškodbami, ki jih povzroča zunanje okolje. Za uporabo v kozmetičnih izdelkih nas zanima predvsem zaščita rožene plasti kože. To je najbolj zunanja kožna plast, ki predstavlja razmejitve med zunanjim in notranjim okoljem ter je zato okoljskim dejavnikom najmočnejše podvržena. Sestavljajo jo diferencirani keratinociti, obdani z različnimi lipidnimi molekulami – ceramidi, holesterolom, maščobnimi kislinami ter glikosfingolipidi. Beljakovinsko ogrodje oz. ovojnico, ki ščiti kožne celice in sodeluje pri organizaciji lipidnih molekul, izgrajujejo predvsem filigrin, lorikrin in involukrin. Motnje v sestavi te plasti so povezane s patologijami kože, npr. z luskavico ter atopijskim dermatitisom (Mescher 2024). Poleg epidermalne lipidne plasti ima pri zaščiti rožene plasti pomembno vlogo sebum, ki ga izločajo žleze lojnice in je pretežno sestavljen iz različnih lipidnih molekul, med katerimi je najbolj zastopan skvalen.

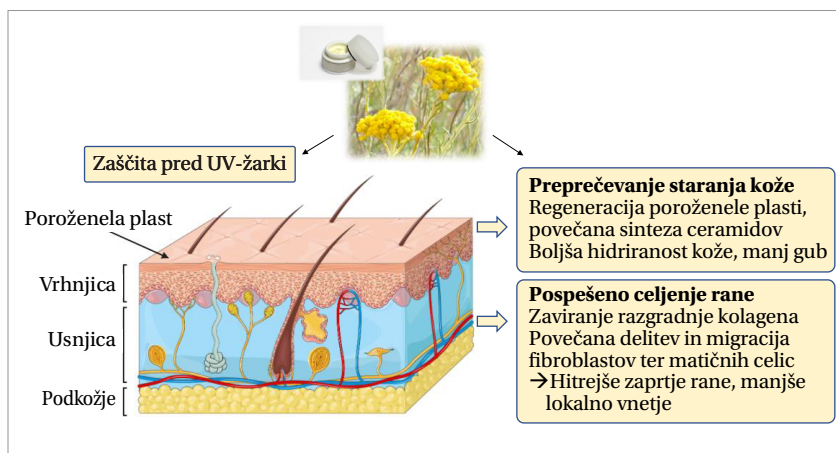
Če razmišljamo o mehanizmih delovanja laškega smilja pri zaščiti in regeneraciji kože, lahko rečemo, da ta vpliva na sorodne dogodke kot pri celjenju rane, npr. na proizvodnjo kolagena, celično delitev in preprečevanje oksidativnega stresa. Ker je antioksidativno in protivnetno delovanje podrobno opisano v ločenem poglavju, ga tu posebej ne izpostavljamo, seveda pa imajo izvlečki laškega smilja tovrstne učinke tudi na kožo. Arzanol, izoliran iz laškega smilja, je npr. kožne keratinocite HaCaT zaščitil pred s peroksidom sproženim oksidativnim stresom in lipidno peroksidacijo (Piras idr. 2024). Lipidno peroksidacijo je izvleček zavrl tudi na umetno pripravljenih liposomih (Combes idr. 2017). V poskusih *in vitro* je bilo pokazano, da izvleček laškega smilja lahko prepreči razgradnjo skvalena, povzročeno z izpostavitvijo sevanju UV ali okolijskim polutantom (Combes idr. 2017). Kot posledico protivnetnega delovanja lahko omenimo zavrtje pojava edema, sproženega z 12-O-tetradekanoilforbol 13-acetatom na mišjih ušesih (Sala idr. 2001). Na podobnem modelu, kjer so nastanek edema sprožili mišim na šapah, se je kot najmočnejša

protivnetno delujoča spojina, izolirana iz laškega smilja, izkazal tilirozid in nekoliko manj pinocembrin (Sala idr. 2003). V primerjavi dveh različnih izvlečkov, od katerih je bil prvi bogat s fenolnimi kislinami, drugi pa s skupnimi fenoli in flavonoidi, so se pri testih *in vitro* pokazali še drugi ugodni učinki za kožo. Oba izvlečka sta močno zavrla aktivnost kolagenaze, elastaze in hialuronidaze, celo bolje od uporabljenih pozitivnih kontrol. Za izvleček s fenolnimi kislinami je bila pokazana tudi antitirozinazna aktivnost, kar bi lahko prispevalo k zmanjševanju pigmentnih peg na koži. Enak učinek je za izvleček mogoče predvidevati tudi zato, ker je učinkovito absorbiral žarke UVA in UVB (Jakupović idr. 2023).

Prve klinične raziskave je, kot omenjeno uvodoma, izvedel italijanski zdravnik Leonardo Santini. Pri pacientih, ki so boleli za bronhitisom in astmatičnim kašljem, je ob uporabi prevretka iz laškega smilja opazil izboljšanje nepovezanih stanj, kot sta luskavica in artritis (Santini 1952). Iz nadaljnjega mnogoletnega kliničnega opazovanja je zaključil, da je aktivnost prevretka in sirupa iz laškega smilja podobna učinkom kortizona. Zdravljenje s pet odstotnim prevretkom posušenih cvetov smilja je v manjši klinični raziskavi privedlo do izboljšanja simptomov luskavice pri vseh preiskovancih, dva meseca po koncu zdravljenja pa je prišlo do ponovnega poslabšanja (povzeto po Appendino idr. 2007).

Izrazit ugoden učinek eteričnega olja laškega smilja je bil pokazan pri obnovi rožene plasti kože (Lemaire idr. 2023). Pri primerjavi eteričnega olja laškega smilja in čistega neril acetata na izrezane koščke kože je bilo ugotovljeno, da sam neril acetat povzroči preko 40 % enakih učinkov na izražanje genov kot eterično olje, predvsem so bili to geni, povezani z diferenciacijo keratinocitov, s stiki med epitelijskimi celicami, sintezo ceramidov in z lokalizacijo lipidnih molekul. Ko so koščke kože, ki so vsebovali vse kožne plasti, izpostavili eteričnemu olju laškega smilja, neril acetatu ali kontrolnemu gojišču, je bila po petih dneh po uporabi laškega smilja v roženi plasti količina involukrina dvakrat višja kot pri kontroli, pri neril acetatu pa 1,5-krat višja. Podobno je bila povečana količina lipidov v medceličnih prostorih. Pri analizi količin posamičnih ceramidov je masna spektroskopija pokazala povišane vsebnosti za osem od izmerjenih devet ceramidov. Eterično olje laškega smilja je sintezo ceramidov povišalo za 70–160 %, neril acetat pa je učinkoval sorodno, a manj izrazito, saj so bile izmerjene vrednosti povišane za 50–130 % (Lemaire idr. 2023).

Zaradi visoke vsebnosti flavonoidov je etanolni izvleček deloval foto-protektivno in je zavrl nastanek eritema po izpostavitvi kože žarkom UVB (Maffei Facino idr. 1988). Ko so na kožo hrčkov nanесли osem odstotno raztopino etanolnega izvlečka ali dve odstotno raztopino flavonoidne frakcije, sta po izpostavitvi sevanju obe popolnoma zavrli pojav rdečice, delovanje pa so tako pripisali flavonoidom – apigeninu, glikozil-apigeninu, luteolinu, gnafalinu, naringenin, glikozil-naringenin in glikozilhal-konu. Podobno se je pokazalo pri raziskavi na ljudeh. Če so flavonoidno frakcijo izvlečka laškega smilja aplicirali ljudem deset minut pred ali po izpostavitvi sevanju UVB, je izvleček popolnoma preprečil nastanek rdečice. Pripisali so mu zaščitni faktor približno 5 (Maffei Facino idr. 1988). Corinne Granger idr. (2020) so preučevali učinke nočne kreme z melatoninom, s karnozinom in z izvlečkom laškega smilja. Zanimalo jih je, če lahko taka krema zniža poškodbe kože zaradi okoljskih dejavnikov, ublaži klinične znake staranja ali deluje pomirjajoče na kožo. Navlaženost in transepidermalna izguba vode sta se izboljšali že po eni uri uporabe. Število gub se je zmanjšalo za 18,9 %, število temnih lis za 5,5 % in število UV-lis za 13,2 %. Po sedmih dneh se je zmanjšalo tudi zbadanje, ki ga je povzročila mlečna kislina, in 86,7 % preiskovancev je poročalo, da je bila njihova koža bolj pomirjena (Granger idr. 2020). V raziskavi Combesa idr. (2017) si je 51 prostovoljcev nanašalo formulacijo z eteričnim oljem laškega smilja na kožo obraza dvakrat dnevno, vzorce sebuma pa so zbirali ob začetku, po štirih in osmih tednih. V prvem mesecu se je vrednost skvalen monoperoksida znižala za 28 %, kar kaže na zmanjšanje oksidativnih poškodb, vrednosti vitamina E pa so se povečale za 71 %. Opazno je bilo tudi zmanjšanje obočesnih gub. Avtorji zaključujejo, da eterično olje smilja lahko zaščiti kožo pred oksidativnim stresom, ki je posledica UV-sevanja in onesnaženega zraka. Eterično olje je učinkovalo bolje od vitamina E, njuna kombinacija pa je imela še močnejši učinek, iz česar lahko sklepamo, da je njuno delovaje dopolnjujoče (Combes idr. 2017). Če želimo doseči optimalno delovanje izvlečka, ni vseeno, v kakšen pripravek ga vključimo. V eni od raziskav si je 25 zdravih preiskovancev na podlaket nanašalo emulgel ali kremo z izvlečkom laškega smilja in konoplje 28 zaporednih dni, dvakrat dnevno. Kot kontrolo so uporabili emulgel in kremo brez dodanih izvlečkov. Vsi proizvodi so sicer izboljšali hidriranost kože, a najizraziteje emulgel z izvlečkom, medtem ko pri merjenju transepitelne izgube vode ni bilo razlik med kontrolnimi proizvodi in tistimi z dodanim izvlečkom. Ob uporabi niso zaznali niti draženja kože niti neželenih sprememb pH-ja. Zanimivo je, da se je emulgel



Slika 1 Učinki laškega smilja na kožo

»Different layers of skin« by Hxtran is licensed under CC BY-SA 4.0

z izvlečkom v primerjavi s kontrolnim emulgelom in obema kremama bolje izkazal tudi pri senzorni analizi, saj so ga preiskovanci ocenili kot najmanj mastnega in lepljivega (Tadić idr. 2021). Pred izgubo vode je kožo zaščitil tudi obliž, impregniran z izvlečkom, pridobljenim s superkritičnim CO_2 . Najbolje je deloval obliž iz polipropilenskega blaga, pri katerem so pri impregnaciji poleg superkritičnega CO_2 dodali tudi etanol, saj se je tako na obližu obdržalo več aktivnih snovi. Pri uporabi takega obliža se je znižal tudi eritemski indeks na koži, ki je bila predhodno nadražena z natrijevim lavril-sulfatom. Impregnacija obliža je delovala tudi protimikrobno (Maksimovic idr. 2023). V eni od raziskav sta popisana dva primera kontaktnega dermatitisa pri uporabi eteričnega olja laškega smilja. V obeh primerih sta bila uporabljena v čisti obliki, zato je potrebno opozorilo, da različna eterična olja lahko dražijo kožo in jih je treba ustrezno redčiti (Barbaud idr. 2023).

Skupno rezultati raziskav kažejo na varno in smiselno uporabo smilja v dermatoloških pripravkih. Bioaktivne spojine delujejo protivnetno, spodbujajo tvorbo in preprečujejo razgradnjo zunajceličnega matriksa ter pospešujejo delitev kožnih celic in njihovo migracijo po poškodbah. Kljub temu je treba poudariti, da tako za celjenje ran, predvsem pa za preprečevanje znakov staranja kože primanjkuje več dobro zasnovanih kliničnih raziskav.

Viri

- Addis, R., S. Cruciani, S. Santaniello idr. 2020. »Fibroblast Proliferation and Migration in Wound Healing by Phytochemicals: Evidence for a Novel Synergic Outcome.« *International Journal of Medical Sciences* 17 (8): 1030–1042.
- Andjić, M., N. Draginić, A. Kočović idr. 2022. »Immortelle Essential Oil-Based Ointment Improves Wound Healing in a Diabetic Rat Model.« *Bio-medicine and Pharmacotherapy* 150:112941.
- Antunes Viegas, D. A. Palmeira-de-Oliveira, L. Salgueiro, J. Martinez-de-Oliveira in R. Palmeira-de-Oliveira. 2014. »*Helichrysum italicum*: From Traditional Use to Scientific Data.« *Journal of Ethnopharmacology* 151 (1): 54–65.
- Appendino, G., M. Ottino, N. Marquez idr. 2007. »Arzanol, an Anti-Inflammatory and Anti-HIV-1 Phloroglucinol α -Pyrone from *Helichrysum italicum* ssp. *microphyllum*.« *Journal of Natural Products* 70 (4): 608–612.
- Barbaud, A., F. Kurihara, N. Raison-Peyron idr. 2023. »Allergic Contact Dermatitis from Essential Oil in Consumer Products: Mode of Uses and Value of Patch Tests with an Essential Oil Series; Results of a French Study of the DAG (Dermato-Allergology Group of the French Society of Dermatology).« *Contact Dermatitis* 89 (3): 190–197.
- Combes, C., M. Legrix, V. Rouquet idr. 2017. »166 *Helichrysum italicum* Essential Oil Prevents Skin Lipids Peroxidation Caused by Pollution and UV.« *Journal of Investigative Dermatology* 137 (10): S221.
- Fraternale, D., G. Flamini in R. Ascrizzi. 2019. »In Vitro Anticollagenase and Antielastase Activities of Essential Oil of *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* (Roth) G. Don.« *Journal of Medicinal Food* 22 (10): 1041–1046.
- Gaidau, C., M. Râpă, M. Stanca idr. 2023. »Fish Scale Gelatin Nanofibers with *Helichrysum italicum* and *Lavandula Latifolia* Essential Oils for Bioactive Wound-Healing Dressings.« *Pharmaceutics* 15 (12): 2692.
- Granger, C., A. Brown, S. Aladren in M. Narda. 2020. »Night Cream Containing Melatonin, Carnosine and *Helichrysum italicum* Extract Helps Reduce Skin Reactivity and Signs of Photodamage: Ex Vivo and Clinical Studies.« *Dermatology and Therapy* 10 (6): 1315–1329.
- Guyton, A. C., in J. E. Hall. 2011. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 12. izd. Elsevier.
- Jakupović, L., I. Bačić, J. Jablan idr. 2023. »Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Based *Helichrysum italicum* Extracts: Antioxidant and Cosmeceutical Activity and Biocompatibility.« *Antioxidants* 12 (4): 855.
- Kramberger, K., D. Barlič-Maganja, Z. Jenko Pražnikar idr. 2022. »Whole Transcriptome Expression Array Analysis of Human Colon Fibroblasts

- Culture Treated with *Helichrysum italicum* Supports Its Use in Traditional Medicine.« *Journal of Ethnopharmacology* 296 (1): 115505.
- Lemaire, G., M. Olivero, V. Rouquet idr. 2023. »Neryl Acetate, the Major Component of Corsican *Helichrysum italicum* Essential Oil, Mediates Its Biological Activities on Skin Barrier.« *PloS One* 18 (3): e0268384.
- Maksimovic, S., M. Stankovic, S. Roganovic idr. 2023. »Towards a Modern Approach to Traditional Use of *Helichrysum italicum* in Dermatological Conditions: *In vivo* Testing Supercritical Extract on Artificially Irritated Skin.« *Journal of Ethnopharmacology* 301 (6): 115779.
- Maffei Facino, R., M. Carini, M. Mariani in C. Cipriani. 1988. »Anti-Erythematous and Photoprotective Activities in Guinea Pigs and Man of Topically Applied Flavonoids from *Helichrysum italicum* G. Don.« *Acta Therapeutica* 14 (4): 323–345.
- Mescher, A. L. 2024. *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*. 17. izd. McGraw Hill.
- Pekmezci, E., in M. Türkoğlu. 2023. »The Effects of *Helichrysum italicum* Extract on the Extracellular Matrix of the Skin.« *Acta Medica Academica* 52 (3): 182–187.
- Piras, F., V. Sogos, F. Pollastro, G. Appendino in A. Rosa. 2024. »Arzanol, a Natural Phloroglucinol α -Pyrone, Protects HaCaT Keratinocytes against H₂O₂-Induced Oxidative Stress, Counteracting Cytotoxicity, Reactive Oxygen Species Generation, Apoptosis, and Mitochondrial Depolarization.« *Journal of Applied Toxicology: JAT* 44 (5): 720–732.
- Sala, A., M. C. Recio, R. M. Giner, S. Máñez in J. L. Ríos. 2001. »New Acetophenone Glucosides Isolated from Extracts of *Helichrysum italicum* with Antiinflammatory Activity.« *Journal of Natural Products* 64 (10): 1360–1362.
- Sala, A., M. C. Recio, G. R. Schinella idr. 2003. »Assessment of the Anti-Inflammatory Activity and Free Radical Scavenger Activity of Tiliroside.« *European Journal of Pharmacology* 461 (1): 53–61.
- Santini, L. 1952. »Rassegna clinico-statistica sulle proprietà terapeutiche dell'elicrisio (*Helichrysum italicum*).« *Minerva Medica* 43 (28): 714–719.
- Scarborough, J. 1978. »Theophrastus on Herbals and Herbal Remedies.« *Journal of the History of Biology* 11 (2): 353–385.
- Serra, D., E. Bellu, G. Garroni idr. 2023. »Hydrolat of *Helichrysum italicum* Promotes Tissue Regeneration During Wound Healing.« *Physiological Research* 72 (6): 809–818.
- Serra, D., S. Cruciani, G. Garroni idr. 2024. »Effect of *Helichrysum italicum* in Promoting Collagen Deposition and Skin Regeneration in a New Dynamic Model of Skin Wound Healing.« *International Journal of Molecular Sciences* 25 (9): 4736.

- Süntar, I., E. Küpeli Akkol, H. Keles, E. Yesilada in S. D. Sarker. 2013. »Exploration of the Wound Healing Potential of *Helichrysum graveolens* (Bieb.) Sweet: Isolation of Apigenin as an Active Component.« *Journal of Ethnopharmacology* 149 (1): 103–110.
- Tadić, V. M., A. Žugić, M. Martinović idr. 2021. »Enhanced Skin Performance of Emulgel vs. Cream as Systems for Topical Delivery of Herbal Actives (Immortelle Extract and Hemp Oil).« *Pharmaceutics* 13 (11): 1919.
- Voinchet, V., in A. M. Giraud-Robert. 2007. »Utilisation de l'huile Essentielle d'hélichryse Italienne et de l'huile Végétale de Rose Musquée Après Intervention de Chirurgie Plastique Réparatrice et Esthétique.« *Phytothérapie* 5 (2): 67–72.

Recenziji

Pričujoča monografija Laški smilj predstavlja pomemben mejnik za področje pridelave zdravilnih in aromatičnih rastlin v Sloveniji. Zasluga za njen nastanek gre entuziastičnim urednicam, ki so zadnjih deset let uspešno združevale svoje osebno zanimanje z znanstveno-raziskovalnim in s poljudnim delom. Posebna vrednost monografije ni le v združevanju najpomembnejših področij, potrebnih za razumevanje in spoznavanje te zanimive rastline, temveč tudi v tem, da predstavlja odlično osnovo za nadaljnje nadgrajevanje znanja o tej in še številnih drugih zdravilnih in aromatičnih rastlinah. Knjiga bo vsem bralcem potrdila, da laški smilj predstavlja zakladnico različnih koristnih spojin, rastlina pa s trendom ekološke pridelave kmetijskih rastlin v Sloveniji pridobiva na vrednosti. Uporaba monografije bo zagotovo obogatila delo zeliščarjev, raziskovalcev in strokovnjakov omenjenega področja in bo prispevala k nadaljnjemu razvoju stroke. Z natančnim pregledom znanstvenih objav v vsakem poglavju povzema dosedanje raziskave obravnavanega področja. Prav tako pa bo delo uporabno tudi za učitelje, dijake ter študente naravoslovnih smeri. Zaključim naj z iskrenimi čestitkami vsem sodelujočim za doseg dolgoletnega cilja in vztrajnost pri pripravi monografije.

Izr. prof. dr. Andreja Čerenak

Laški smilj v širšem sredozemskem prostoru že stoletja velja za dragoceno aromatično rastlino s številnimi tradicionalnimi načini uporabe. Zaradi svojih bioloških aktivnosti in številnih aromatičnih spojin je v ospredju zanimanja sodobne fitoterapevtske znanosti in industrije ter v zadnjem obdobju privlači raziskovalce z genetskega, biokemijskega, farmakološkega in agronomskega vidika.

Znanstvena monografija *Laški smilj*, ki so jo uredile Dunja Bandelj, Zala Jenko Pražnikar in Ana Petelin, predstavlja izjemno celovit, interdisciplinaren in poglobljen prispevek k poznavanju rastlinske vrste *Helichrysum italicum*, v slovenskem prostoru poznane kot laški smilj. Monografija, ki združuje delo številnih strokovnjakov s področij genetike, botanike, agronomije, biokemije in farmacije, bralca popelje skozi vse ključne vidike raziskovanja te aromatične in zdravilne rastline – od zgodovinskega

in etnofarmakološkega ozadja preko genetske ter kemične karakterizacije vse do sodobne uporabe v prehrani, fitoterapiji in industriji.

Monografija je razdeljena v tri večje sklope. Prvi del se posveča botaniki in genetiki rastline ter agronomskemu in tržnemu potencialu. Avtorji natančno razložijo nomenklaturu, podvrstno raznolikost in kompleksnost taksonomije laškega smilja, kar je ključno za razumevanje njegove ekološke plastičnosti in potencialne uporabnosti. Posebej izstopa poglavje o genetskih, genomskih in transkriptomskih raziskavah, kjer so avtorji prvi na svetu razvili mikrosatelitske biooznačevalce za identifikacijo in selekcijo ustreznih genotipov – gre za znanje, ki ima neposreden pomen za nadzor kakovosti in sledenje izvoru surovine.

V drugem sklopu se avtorji posvetijo tehnološkim vidikom pridelave in predelave smilja ter kemijski analizi njegovih izvlečkov. S prikazom postopkov pridelave, razmnoževanja, spravila, destilacije in kemijske karakterizacije sestavin (predvsem eteričnih olj, fenolnih spojin, hidrolatov) monografija postane dragoceno praktično orodje za vse, ki se ukvarjajo s pridelavo in predelavo zdravilnih rastlin. Avtorji ne prezrejo pomembnosti ekoloških dejavnikov na sintezo sekundarnih presnovkov in njihove raznolikosti v odvisnosti od genotipa in okolja, kar predstavlja redko sistematično obravnavo te tematike v slovenskem prostoru.

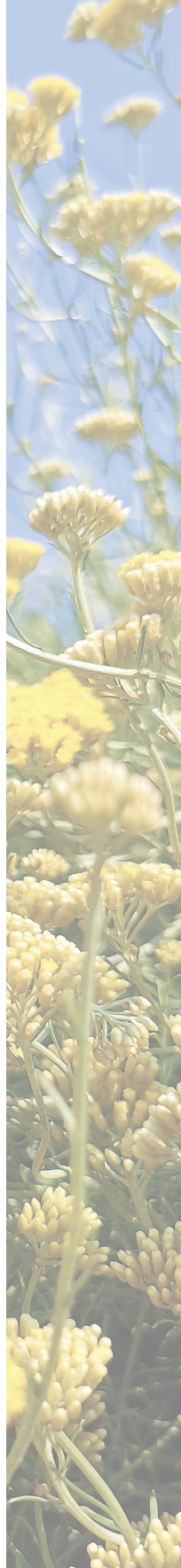
Tretji sklop obravnava biološke učinke laškega smilja na celičnih in živalskih modelih kot tudi v nekaj kliničnih raziskavah. Avtorji znanstveno utemeljeno predstavijo antioksidativno, protivnetno, protimikrobno in presnovno delovanje smiljevih spojin, pri čemer upoštevajo rezultate tako raziskav *in vitro* kot tudi *in vivo*. Zelo dragoceno je tudi poglavje, ki se dotika uporabe laškega smilja v dermatologiji, kjer avtorji nakazujejo smeri za razvoj naravnih kozmetičnih izdelkov.

Monografija je v celotnem obsegu poglavij podprta s številnimi literaturnimi viri, kar utrjuje znanstveno verodostojnost publikacije. Ima tudi jasno aplikativno vrednost: poleg osnovnih znanstvenih spoznanj avtorji obravnavajo aktualne izzive gojenja smilja v slovenskih razmerah, podajo konkretne smernice za njegovo pridelavo, razmnoževanje, zaščito pred škodljivci in boleznimi ter predlagajo ukrepe za izboljšanje kakovosti končnih izdelkov. Izpostavljen je pomen nadzora kakovosti in avtentičnosti ter opozorila glede nevarnosti poneverb, kar je pomembno zaradi visokega tržnega potenciala eteričnega olja iz smilja.

Znanstvena monografija *Laški smilj* je dragocen prispevek k slovenski znanstveni literaturi na področju zdravilnih rastlin. Odlikuje jo jasno

strukturirana vsebina, jezikovna natančnost, znanstvena doslednost ter izrazita interdisciplinarnost, zaradi česar bo v pomoč tako raziskovalcem, študentom in pridelovalcem kot tudi strokovnjakom s področja fitoterapije, kozmetologije in kmetijstva. Gre za delo, ki ga lahko z gotovostjo označimo kot referenčno literaturo za vsa prihodnja preučevanja te rastlinske vrste.

Izr. prof. dr. Lovro Žiberna





Monografija *Laški smilj* (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don) predstavlja pomemben mejnik za področje pridelave zdravilnih in aromatičnih rastlin v Sloveniji. Zasluga za njen nastanek gre entuziastičnim urednicam, ki so zadnjih deset let uspešno združevale svoje osebno zanimanje z znanstvenoraziskovalnim in s poljudnim delom. Knjiga bo vsem bralcem potrdila, da laški smilj predstavlja zakladnico različnih koristnih spojin, rastlina pa s trendom ekološke pridelave kmetijskih rastlin v Sloveniji pridobiva na vrednosti.

Andreja Čerenak

Monografija, ki združuje delo številnih strokovnjakov s področij genetike, botanike, agronomije, biokemije in farmacije, bralca popelje skozi vse ključne vidike raziskovanja te aromatične in zdravilne rastline – od zgodovinskega in etnofarmakološkega ozadja preko genetske in kemične karakterizacije vse do sodobne uporabe v prehrani, fitoterapiji in industriji.

Lovro Žiberna

Založba Univerze na Primorskem
hippocampus.si