

Određivanje sadržaja i sastava eteričnog ulja kardamoma (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton)

Čiča, Lara

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:154874>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Lara Čiča

**Određivanje sadržaja i sastava eteričnog ulja
kardamoma (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton)**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

Diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakognozija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, a izrađen je na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Biljane Blažeković, mag. pharm.

Zahvaljujem se mentorici, izv. prof. dr. sc. Biljani Blažeković, na pomoći tijekom izrade diplomskog rada.

Posebno hvala mami i bratu na svemu što su mi kroz život pružili svojom ljubavi. Hvala baki i dedi na svojoj podršci i vjeri, te svemu što su za mene učinili. Ovaj diplomski rad posvećujem upravo njima – zbog vas sam postala osoba koja sam danas.

Najveće hvala mojim prijateljicama, najviše Maji, Neri i Zrinki. Zahvalna sam što su nam se putevi preklapili i što vas imam u životu. Zbog vas znam da ima nas što isto mislimo i istim stvarima se smijemo. Studentskih ću se dana uvijek sjećati s osmijehom.

Na kraju, hvala Dinku na podršci, strpljenju i ljubavi kojom se prema meni odnosi.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Botanička obilježja vrste <i>Elettaria cardamomum</i> (L.) Maton.....	2
1.2. Kemijski sastav kardamomovog ploda.....	5
1.3. Tradicionalna primjena kardamomovog ploda.....	6
1.4. Biološki i farmakološki učinci kardamoma.....	8
2. OBRAZLOŽENJE TEME	11
3. MATERIJALI I METODE	12
3.1. Biljni materijal	12
3.2. Instrumenti i pribor	13
3.3. Kemikalije	14
3.4. Određivanje sadržaja eteričnog ulja	14
3.5. Analiza eteričnog ulja spregnutim sustavom plinski kromatograf – spektrometar masa (GC-MS/MS).....	15
4. REZULTATI I RASPRAVA	17
4.1. Sadržaj eteričnog ulja u plodu kardamoma.....	17
4.2. Kemijski sastav eteričnog ulja kardamoma.....	19
5. ZAKLJUČCI.....	34
6. LITERATURA.....	35
7. SAŽETAK/SUMMARY.....	38
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD	

1. UVOD

Kardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) je biljka iz porodice đumbirovki (Zingiberaceae) porijeklom iz južne Indije odakle se uzgojem proširila i u druge zemlje tropskog dijela svijeta. Poznato je da se njegovi plodovi i sjemenke već stoljećima koriste u Ajurvedi, tradicionalnoj indijskoj medicini, za liječenje niza bolesti, kao što su bolesti probavnog i mokraćnog sustava, kod srčanih problema te dišnih tegoba poput astme i bronhitisa (Slika 1.). Osim po etnofarmakološkoj primjeni, kardamom je još poznatiji kao začini i od davnina se koristi u pripremi hrane. Slovi kao treći najskuplji začini u svijetu, odmah nakon šafrana i vanilije. Zbog svoje ugodne arome i okusa popularno se smatra „kraljicom začina“ dok epitet „kralja začina“ nosi crni papar (*Piper nigrum* L.). Kardamom ima široku primjenu u kulinarstvu i prehrambenoj industriji, dolazi u sastavu curryja, kolača i pekarskih proizvoda te mesnih jela. Sjemenke i eterično ulje koriste se za aromatiziranje hrane, alkoholnih i bezalkoholnih pića, smrznutih deserta, bombona, mesa i mesnih proizvoda. Eterično ulje kardamoma nalazi primjenu i u parfemskoj industriji (Sengottuvelu, 2011).



Slika 1. Plod i sjemenke kardamoma
(preuzeto s <https://www.healthline.com>)

Kardamom svoju jedinstvenu aromu i ljekovita svojstva duguje prvenstveno eteričnom ulju sadržanom u sjemenkama. Na tržištu se pod nazivom kardamom ponekad mogu naći plodovi drugih vrsta: *Amomum subulatum* (veliki kardamom, crni kardamom ili nepalski kardamom), *Elettaria ensal* (šrilankanski divlji kardamom) i *Aframomum corrorima* (afrički ili etiopijski kardamom). Navedene vrste lažnih kardamoma razlikuju se od vrste *Elettaria cardamomum*

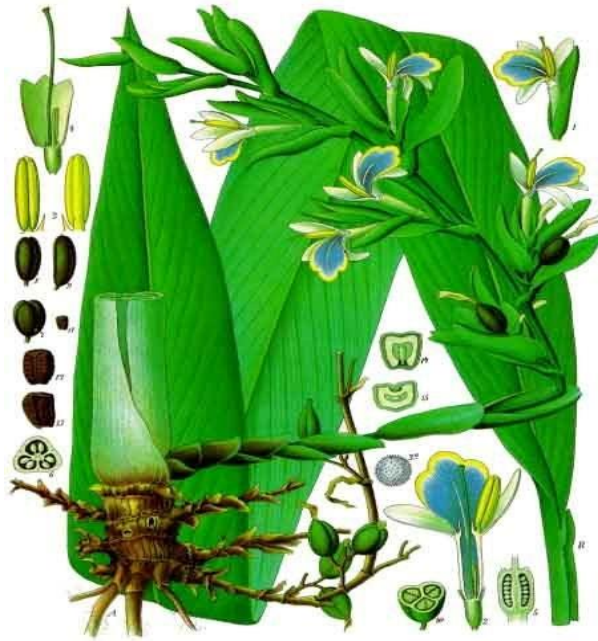
po izgledu plodova – plodovi su im obično veći i tamniji te sadrže manji udio eteričnog ulja. Iako se uzgajaju u različitim dijelovima svijeta zajednička im je potreba tropskih uvjeta za rast (Kumar i sur. 2005; The Ayurvedic pharmacopoeia of India, 1989; www.plantsoftheworldonline.org). Za ljekarničku drogu Cardamomi semen (Cardamomi fructus) nalazimo monografije s dostupnim podacima o identifikaciji, kemijskim sastavnicama, kontroli kakvoće i djelovanju droge u Američkoj i Britanskoj farmakopeji kao i Ajurvedskoj farmakopeji Indije te Monografijama Svjetske zdravstvene organizacije. Međutim, u Europskoj farmakopeji koja je oficinalna i propisuje standarde kakvoće droga važeće u zemljama Europske unije, ova droga nema svoju monografiju.

Plodovi i sjemenke kardamoma smatraju se sigurnim zbog njihove dugotrajne tradicionalne primjene kao ljekovitog sredstva, ali i korištenja kao začina u raznim jelima i pićima. Ajurvedska farmakopeja Indije preporuča dnevnu primjenu 250-500 mg droge u obliku praha dok prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji prosječna dnevna doza iznosi 1,5 g droge ili ekvivalentnog pripravka (Sengottuvelu, 2011; The Ayurvedic pharmacopoeia of India, 1989;). Nije poznato štetno djelovanje ili toksičnost, postoje jedino podaci o tome da kardamom može potaknuti žučne kolike pa se stoga ne preporučuju u bolesnika sa žučnim kamencima. Također je kontraindicirana primjena u slučaju preosjetljivosti ili alergije na biljnu drogu (Sengottuvelu, 2011; WHO, 2009).

1.1. Botanička obilježja vrste *Elettaria cardamomum* (L.) Maton

Kardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) poznat je i pod nazivom pravi kardamom, zeleni kardamom ili mali kardamom. Botanički naziv vrste potječe od tamilske riječi „*Elettari*“ koja se odnosi na sjemenke kardamoma (tamilski je jedan od indijskih jezika). Kardamom je aromatična, zeljasta trajnica oštrog mirisa koja pripada porodici đumbirovki (*Zingiberaceae*). Može narasti od 2 do 5 metara u visinu (Slika 1.). Listovi dužine 30 do 35 centimetara i širine 7 do 10 centimetara lancetastog su oblika, sa šiljastim vrhom, tamnozeleno boje, imaju mrežastu nervaturu i naizmjenično su raspoređeni na stabljici. Biljka cvjeta od travnja do svibnja. Cvat je klas. Cvjetovi su dvospolni, nepravilni, bijele boje s ružičastim šarama. Čaška je cjevasta i blago nazubljena, a vjenčić je podijeljen na tri nejednaka režnja (Slika 2.). Plodovi sazrijevaju 3-4 mjeseca nakon cvatnje. Plod je tobolac, dugačak 1 do 2 cm, elipsoidnog, jajastog ili sferičnog oblika, glatke površine s blago izraženim uzdužnim brazdama, baza mu je okrugla ili s ostatkom peteljke. Zelene je boje, a sazrijevanjem poprima svijetlozelenu do žutu boju. Svaki plod sadrži tri komore s 12 do 32

sjemenke koje zajedno tvore kompaktnu cjelinu (Slika 3.). Sjemenke su tamnosmeđe do crne boje, dugačke 4 mm i široke 3 mm, nepravilno uglate, poprečno naborane, okružene prozirnom opnom, karakterističnog, intenzivnog i ugodnog, mirisa. Plodovi se sabiru prije nego što potpuno sazriju i to ručno što pridonosi visokoj tržišnoj cijeni (Slika 4.). U povoljnim uvjetima rasta, zdrava odrasla biljka godišnje proizvode oko 200 plodova, koji kad su svježi teže oko 900 g, a suhi oko 200 g (Ashokkumar i sur., 2019; The Ayurvedic pharmacopoeia of India, 1989).



Slika 2. Kardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) (preuzeto s <https://en.wikipedia.org>)



Slika 3. Kardamom u vrijeme cvatnje (preuzeto s www.ethnoplants.com)



Slika 4. Sakupljanje plodova kardamoma u Indiji

(preuzeto s <https://www.mindenpictures.com>)

Stanište i rasprostranjenost

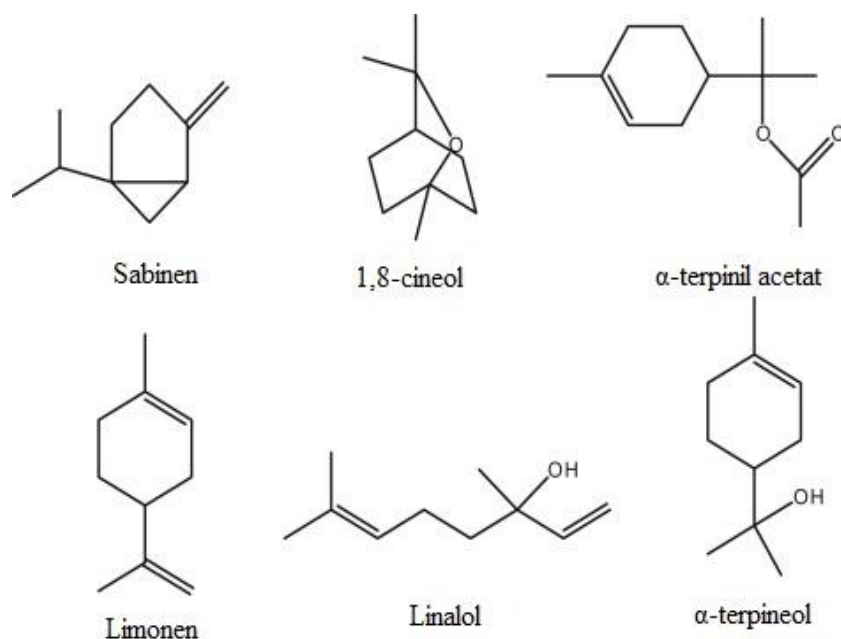
Kardamom raste na područjima s vlažnom i toplom tropskom klimom, na sjenovitim mjestima s malo sunca. Pogoduju mu tropski uvjeti bogati vlagom, čestom kišom i temperaturama oko 25 °C (Ashokkumar i sur., 2019). Nativna je biljka južne Indije, a rasprostranjena je i u tropskim dijelovima Burme i Šri Lanke. U Indiji kardamom prirodno raste u zimzelenim tropskim monsunskim šumama u području Zapadnih Gata, u regiji Malabar u jugoistočnoj Indiji, poznatim kao Brda kardamoma. Biljku nalazimo na nadmorskim visinama do 1500 metara. Kardamom se danas sve više uzgaja u drugim tropskim područjima svijeta, pa je udomaćen u Tanzaniji, Vijetnamu i Srednjoj Americi (Kostarika, Gvatemala). Indija je bila najveći svjetski proizvođač kardamoma od antičkih vremena pa sve do 20. stoljeća kada je stanovništvo Gvatemale upoznalo ovu biljku. Danas je Gvatemala preuzela tržište kao najveći svjetski proizvođač i izvoznik kardamoma (www.missouribotanicalgarden.org; Sengottuvelu, 2011).

1.2. Kemijski sastav kardamomovog ploda

Suhi plodovi kardamoma sadrže 68,2% ugljikohidrata, 10,6 % proteina i 2,4 % masti te 5,3 % mineralnih tvari koje čine pepeo. Mikronutritivni sastav kardamoma, izražen na 100 g suhih plodova je sljedeći: kalcij (93 mg), magnezij (182 mg), kalij (124 mg), fosfor (183 mg), sumpor (100 mg) i željezo (13 mg). Od masnih kiselina u kardamomovim sjemenkama prevladavaju oleinska, palmitinska i linolenska kiselina (Anwar i sur. 2016; Noumi i sur., 2018; Ashokkumar i sur., 2019).

Sekundarni metaboliti primarno odgovornim za farmakološko djelovanje kardamoma su sastavnice eteričnog ulja, dok droga sadrži još i flavonoide (katehin, miricetin, kvercetin i kemferol) te karotenoide (lutein i β -karoten). Eterična ulja su hlapljive smjese velikog broja različitih kemijskih spojeva karakterističnog mirisa i okusa. Zreli plodovi kardamoma sadrže od 0,2% do 8,7% eteričnog ulja, ovisno o varijetetu, podneblju rasta biljke i korištenim metodama ekstrakcije (WHO, 2009; Ashokkumar i sur., 2019). Smješteno je u posebnim sekretornim stanicama ispod epiderme sjemenke, u tzv. uljenicama. Fiziološka uloga eteričnog ulja jest stvaranje mirisa za privlačenje kukaca i pomoć pri oprašivanju te smanjenje transpiracije što pogoduje biljkama koje rastu u tropskoj klimi poput kardamoma. Eterična ulja su smjesa velikog broja spojeva koje prema skeletu ugljikovodika dijelimo na terpeni (monoterpeni i seskviterpeni), fenilpropanske i ostale spojeve. Najčešće u sastavu ulja susrećemo monoterpenske sastavnice koje mogu biti acikličke, monocikličke i bicikličke, a s obzirom da podliježu oksidaciji i redukciji dolaze u obliku alkohola, estera, etera, aldehida i ketona. Kod većine eteričnih ulja u sastavu prevladava jedna ili dvije sastavnice koje uvjetuje fizikalna, kemijska i biološka svojstva ulja (Kalodera i sur., 1998; Tisserand i Young, 2014; Vladimir-Knežević, 2016).

U sastavu eteričnog ulja kardamoma dominiraju oksigenirani ciklički monoterpeni koji čine više od 70 % ulja. Glavne sastavnice su 1,8-cineol, α -terpinil acetat, α -terpineol, limonen, linalol, linalil acetat, sabinen, nerol, α -pinen i dr. Molekulske strukture sastavnica izoliranih iz kardamomovog eteričnog ulja prikazane su na Slici 5. Za karakterističan miris i aromu plodova i sjemenki kardamoma najviše je zaslužna kombinacija 1,8-cineola i α -terpinil acetata kao najzastupljenijih sastavnica (WHO, 2009; Ashokkumar i sur., 2019).



Slika 5. Glavne bioaktivne sastavnice droge *Cardamomi fructus* i eteričnog ulja kardamoma

1.3. Tradicionalna primjena kardamomovog ploda

Kardamom je od davnina poznata ljekovita biljka na području Indije što potvrđuju zapisi koji sežu sve do 4. st. pr. Kr. Ponekad je nejasno odnosi li se naziv „kardamom“ isključivo na plod biljne vrste *Elettaria cardamomum* ili predstavlja skupni naziv za srodne/slične plodove koji su se koristili tijekom prošlosti. Stari Grci uvozili su kardamom što potvrđuju zapisi Dioskorida, grčkog liječnika iz 1. stoljeća, u njegovoj knjizi *De materia medica*. Ajurvedski liječnici, starogrčki i rimski liječnici koristi su kardamom u liječenju raznovrsnih zdravstvenih problema, poput bronhitisa, astme, zatvora, prehlade, kašlja, kod infekcije zuba i desni, poremećaja mokraćnog sustava i bubrega, kongestije pluća, plućne tuberkuloze i iritacije očnih kapaka, katarakte, mučnine, proljeva i srčanih poremećaja te kao diuretik i karminativ (Ashokkumar i sur., 2019). U kineskoj tradicionalnoj medicini kardamom se koristio za liječenje zatvora, boli u želucu, infekcije mokraćnog mjehura i dizenterija u djece. Kardamom se također naširoko koristi u ajurvedskoj medicini za liječenje trovanja hranom. Trenutno se ulje kardamoma koristi u proizvodnji biljnih krema za ruke i sapuna. Kapsule kardamoma u prahu pomiješanog s mljevenim klinčićima, đumbirom i kim korisne su kod probavnih tegoba. Napitak od kardamoma u prahu također je protuotrov za otrov zmija i škorpiona.

U tradicionalnoj indijskoj medicini plodovi kardamoma smatraju se izvrsnim digestivom i vjeruje se da uravnotežuju *Kapha*, uglavnom u želucu i plućima. Također je koristan za umirivanje *Vata doše*. Sjemenke kardamoma ljudi su žvakali kako bi uklonili loš zadah, probavne smetnje i spriječili povraćanje. Plodovi kardamoma primjenjivali su se u obliku praha, ulja ili dekokta, ali i ljekovitih fermentiranih pića poput *Arishte* i *Aasava*. Za liječenje prehlada kardamom se miješao s nimom i kamforom te su se spravljali preparati za nazalnu primjenu. Infuz kardamoma koristio se za grgljanje kako bi se izliječili simptomi upale grla. Također su se spravljali napitci kardamoma koji su se koristili za ublažavanje simptoma trovanja hranom te kao antidot kod ugriza zmija i škorpiona (Ashokkumar i sur., 2019). U arapskoj kulturi pripravlja se kombinirani napitak kave i kardamoma poznat pod nazivom *gavah*. Često se poslužuje kao piće dobrodošlice, a vjeruje se da smanjuje napetost i opušta glavobolje uzrokovane stresom. U narodu se vjeruje da svakodnevno uzimanje kardamoma sa žlicom meda poboljšava vid, jača živčani sustav i time poboljšava opće zdravlje osobe. Pripravak kardamoma *Eladigana* koristi se u liječenju artritisa i svrbeža. Mješavina ljekovitih biljaka poznata kao *Ariyau kashayam* (sadrži šest različitih ljekovitih biljaka uključujući kardamom) koristi se za liječenje kožnih bolesti u djece (Ashokkumar i sur., 2019; Parthasarathy i Prasath, 2012; Sengottuvelu, 2011; The Ayurvedic pharmacopoeia of India, 1989). U srednjovjekovnim zapisima spominje se njegova primjena u kulinarstvu kao začina koji je bio simbol otmjenosti i društvenog statusa (Sengottuvelu, 2011).

1.4. Biološki i farmakološki učinci kardamoma

Medicinska primjena droge *Cardamomi fructus* (*Cardamomi semen*) nije poduprta kliničkim dokazima. Suvremena znanstvena istraživanja kardamoma ograničena su na pretkliničke studije koje ukazuju na njegov antioksidativni, antimikrobni, protutumorski, protuupalni, spazmolitički, gastroprotektivni i antidijabetički potencijal.

Antimikrobni učinak

Ustanovljeno je da eterično ulje kardamoma pokazuje antibakterijski učinak na razne sojeve mikroorganizama povezane s kvarenjem hrane. Rast *Morgenella morgani* bio je umjereno inhibiran primjenom kardamomovog ulja. Eterično ulje primijenjeno u koncentraciji 10 mg/mL djelovalo je antimikrobno na bakterijske sojeve *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus pulmilus* i *Listeria monocytogenes* te gljivicu *Candida albicans*. Dosadašnji rezultati ukazuju da eterično ulje kardamoma posjeduje izražena antibakterijska i antifungalna svojstva protiv širokog spektra mikroorganizama što može biti korisno u sprječavanju patogena koji se prenose hranom kao i mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje hrane. S obzirom da se većina rezultata temelji na ispitivanjima provedenim disk difuzijskom metodom koja ima niz ograničenja, potrebno je osnažiti dokaze određivanjem minimalnih inhibitornih koncentracija (Ashokkumar i sur., 2019).

Protutumorski učinak

Studija je pokazala da eterično ulje kardamoma djeluje protutumorski i sprječava stvaranje DNA adukata potaknuto aflatoksinom B1 u reakcijama posredovanim mikrosomskim enzimima. Pretpostavlja se da se učinkovitost može pripisati 1,8-cineolu, limonenu i terpinil acetatu što upućuje da bi ove sastavnice mogle biti polazište za otkrivanje novih protutumorskih lijekova (Hashim i sur., 1994). Novija istraživanja govore da sastavnice eteričnog ulja kao što su 1,8-cineol i limonen imaju zaštitnu ulogu protiv razvoja raka. U prilog protutumorskom potencijalu kardamoma govore i podaci o antioksidativnoj aktivnosti. Utvrđeno je da vodeni ekstrakt kardamoma poboljšava aktivnost detoksifikacijskih enzima glutation S-transferaze i smanjuje peroksidaciju lipida (Ashokkumar i sur., 2019). Elguindy i sur. (2018) pokazali su da oralno primijenjeno eterično ulje u dozama od 100 i 200 mg/kg/dan tijekom 26 tjedana značajno smanjuje serumski kreatinin i ureu te aktivnost LDH u štakora s dietilnitrozamin-potaknutim oksidativnim stresom (Ashokkumar i sur., 2019). Potrebna su daljnja istraživanja o kliničkoj djelotvornosti eteričnog ulja.

Antiulkusni učinak

Jamal i suradnici (2006) istražili su *in vivo* antiulkusno djelovanje različitih ekstrakata kardamoma u štakora. Svi ekstrakti – eterično ulje, metanolni ekstrakt te u petroleteru topljiva i netopljiva frakcija metanolnog ekstrakta- spriječili su razvoj želučanih lezija uzrokovanih etanolom i aspirinom. Metanolni ekstrakt ploda kardamoma aktivno je smanjio lezije za oko 70% na animalnom modelu ulkusa potaknutog etanolom kad je primijenjen u dozi 500 mg/kg. Kod želučanog ulkusa izazvanog aspirinom, najbolji gastroprotektivni učinak ustanovljen je za frakciju metanolnog ekstrakta topljivu u petroleteru, koja je inhibirala lezije za gotovo 100% pri 12,5 mg/kg te se pokazala djelotvornijom od ranitidina primijenjenog u dozi od 50 mg/kg (Jamal i sur., 2006). Starija istraživanja također ukazuju na gastroprotektivni potencijal kardamoma. Intragastrički primijenjen suhi vodeni ili metanolni ekstrakt kardamomovih sjemenki, u dozi od 53,0-126,9 mg/kg tjelesne težine, u miševa je smanjio lučenje želučanog soka. Metanolni ekstrakt sjemenki (5:1) primijenjen u koncentraciji 100 µg/mL inhibira rast *Helicobacter pylori in vitro* (WHO, 2009).

Spazmolitički učinak

Studija provedena na eksperimentalnim životinjama pokazala je da etanolni ekstrakt kardamomovog ploda u koncentraciji od 200 µg/mL smanjuje kontrakcije izazvane histaminom i barijevim kloridom u ileumu zamorca. Eterično ulje kardamoma primijenjeno u dozi od 0,4 mL/kg spriječilo je grčeve u crijevima zečeva potaknute acetilkolinom. Utvrđeno je da učinak postiže blokadom muskarinskih receptora. Starije *in vitro* također govore u prilog spazmolitičkom djelovanju. Dokazano je da eterično ulje opušta izolirani ileum zamorca i dušnik sa srednjom učinkovitom dozom od 15 mg odnosno 27 mg/L. Vodenoetanolni ekstrakt sjemenki kardamoma (10 mg/mL u obliku kupke) u *in vitro* uvjetima je također uzrokovao opuštanje ileuma zamorca (WHO, 2009).

Dermatološki učinak

Eterična ulja mogu djelovati na lipide rožnatog sloja kože uzrokujući strukturne promjene koje rezultiraju povećanom difuzijom aktivnih tvari kroz kožu. *In vitro* studija o prodiranju estradiola kroz glatku kožu miša otkrila je da terpeni poboljšavaju transdermalnu permeabilnost umjereno lipofilnih lijekova poput estradiola. Iako Monti i sur. (2002) nisu ustanovili da eterično ulje ploda kardamoma povećava permeabilnost estradiola, rezultati prijašnjih istraživanja su drugačiji. Primjena kardamomovog eteričnog ulja na kožu kunića u koncentraciji od 1,0 % povećala je dermalnu penetraciju piroksikama, indometacina i diklofenak natrija. Nadalje, eterično ulje kardamoma primijenjeno u dozi od 1,0 mL/

kvadratnom inču poboljšalo je penetraciju indometacina kroz kožu štakora, zečeva i ljudi. Prethodno eksterno primijenjeno eterično ulje u koncentraciji od 5% povećalo je bioraspoloživost piroksikam gela u kunića (WHO, 2009).

Antiagregacijski učinak

Suneetha i Krishnakantha izvjestili su da ekstrakt droge *Cardamomi fructus* inhibira agregaciju trombocita. Agregacija trombocita potaknuta je snažnim induktorima poput adenozin difosfata (ADP), epinefrina, kolagena i kalcijeva ionofora A 23187. Poznato je da egzogeni induktori aktiviraju površinske glikoproteinske receptore poput glikoproteina IIb – IIIa (GP IIb – IIIa) zajedno s povećanjem razine slobodnog kalcija u trombocitima i time potiču agregaciju trombocita. Ekstrakt kardamoma pokazao je inhibitorni učinak na agregaciju trombocita, posebice onu izazvanu epinefrinom. Pretpostavlja se da je inhibitorni učinak posljedica blokiranja prijenosa kalcija kroz membrane trombocita no potrebna su daljnja istraživanja kako bi se razjasnile biokemijske promjene koje se događaju u trombocitima i utvrdio točan mehanizam djelovanja kardamoma (Suneetha i Krishnakantha, 2005).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Plod kardamoma zbog svog se iznimno aromatičnog mirisa i ugodnog, karakterističnog okusa danas najčešće koristi kao začín. No odavna su poznata i njegova ljekovita svojstva o čemu govori duga povijest primjene u Ajurvedi, tradicionalnoj indijskoj medicini, gdje se koristio uglavnom u liječenju gastrointestinalnih i respiratornih tegoba. Ljekovito djelovanje droge *Cardamomi fructus* (*Cardamomi semen*) temelji se poglavito na sadržaju eteričnog ulja no, s obzirom da se radi o egzotičnoj i relativno skupoj biljnoj drogi te da je njeno farmakološko i kliničko djelovanje još uvijek nedovoljno istraženo, u suvremenoj se fitoterapiji rijetko koristi. Cilj ovog diplomskog rada bio je provesti fitokemijsku analizu komercijalno dostupnih plodova kardamoma, temeljenu na određivanju sadržaja i sastava eteričnog ulja kao najznačajnijeg čimbenika kakvoće i ljekovitosti ove biljne droge.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Biljni materijal

U istraživanju su korišteni komercijalno dostupni plodovi kardamoma (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) s hrvatskog tržišta. Prikupljeni su proizvodi dostupni putem internetske prodaje te u specijaliziranim trgovinama zdrave hrane i začinskog bilja na području grada Zagreba. Ukupno je prikupljeno osam uzoraka kardamomovog ploda, od toga četiri uzorka *in toto* i četiri uzorka *in pulvere* (Slike 6. i 7.). Detaljni podaci o porijeklu i obliku istraživanih biljnih droga prikazani su u Tablici 1.



Slika 6. Istraživani uzorci kardamomovog ploda in toto



Slika 7. Istraživani uzorci kardamomovog ploda in pulvere

Tablica 1. Detaljni podaci o istraživanom biljnom materijalu

Broj uzorka	Naziv proizvoda	Proizvođač	Distributer i/ili uvoznik koji stavlja proizvod na tržište	Oblik	Zemlja porijekla	Rok trajanja
1.	Kardamom u prahu - zeleni	Nutrigold	Galleria Internazionale, Zagreb	Prah	Gvatemala	07/2022
2.	Kardamom u prahu	Lebensbaum, Njemačka	Biovega, Zagreb	Prah	Gvatemala	01/2024
3.	Kardamom prah	Nije navedeno	Harissa, Zagreb	Prah	Gvatemala	04/2025
4.	FUDCO kardamom u prahu	Fudco, Engleska	Planet Ayurveda, Zagreb	Prah	Gvatemala	10/2022
5.	Kardamom zeleni TRS	Trs Wholesale Co., Southall, Middlesex, Engleska	Galleria Internazionale, Zagreb	Cijeli plod	Gvatemala	09/2024
6.	Kardamom	Nije navedeno	Farma, Zagreb	Cijeli plod	Iran	11/2023
7.	Kardamom	Nije navedeno	Harissa, Zagreb	Cijeli plod	Gvatemala	04/2025
8.	Kardamom cijeli BIO Sonnentor	Sonnenor, Austrija	Garden, Zagreb	Cijeli plod	Gvatemala	09/2023

3.2. Instrumenti i pribor

U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su sljedeći instrumenti i pribor:

- tehnička vaga (Mettler-Toledo, Švicarska-SAD)
- mlin za usitnjavanje biljnog materijala
- automatska jednokanalna pipeta podesivog volumena (Eppendorf, Njemačka)
- grijača košara
- aparatura za određivanje eteričnog ulja prema Ph. Eur.
- plinski kromatograf (Agilent 7890B) vezan sa spektrometrom masa (Agilent 5977A, Agilent Technologies, SAD)

3.3. Kemikalije

U eksperimentalnom dijelu rada korištena su sljedeća otapala:

- heksan (Kemika, Zagreb)
- bezvodni natrijev sulfat (Kemika, Zagreb)

Korištene su kemikalije analitičkog stupnja čistoće (p.a.).

3.4. Određivanje sadržaja eteričnog ulja

Sadržaj eteričnog ulja u kardamomovom plodu volumetrijski je određen metodom destilacije pomoću vodene pare prema postupku opisanom u Europskoj farmakopeji (EDQM, 2019). Određivanje je provedeno korištenjem propisane aparature koja se sastoji od tikvice s okruglim dnom i produženim grlom, lijevka za punjenje vode, vertikalne cijevi, hladila, bočne cijevi s ubrušenim čepom, graduirane cijevi, trosmjernog pipca, stativa te termostatisane električne grijače košare (Slika 8.).



Slika 8. Aparatura za određivanje eteričnog ulja na Zavodu za farmakognoziju, Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Uzorci ploda *in toto* neposredno prije analize samljeveni su u grubi prašak. 10,0 grama propisno usitnjenog cjelovitog ploda ili 20,0 grama praškastog uzorka preneseno je u tikvicu s

okruglim dnom i ubrušenim grlom i potom je dodano 400 mL destilirane vode. Destilacija je provedena u trajanju od 2 sata i 30 minuta, potom je zaustavljeno grijanje i nakon hlađenja aparature očitani volumen izoliranog eteričnog ulja (mL). Rezultat je izražen u mililitrima eteričnog ulja na kilogram biljne droge. Eterično ulje preneseno je u staklene bočice od tamnog stakla te nakon dodatka bezvodnog natrijeva sulfata pohranjeno za daljnju analizu u hladnjak na temperaturi od 4°C .

3.5. Analiza eteričnog ulja spregnutim sustavom plinski kromatograf – spektrometar masa (GC-MS/MS)

Kvalitativna i kvantitativna analiza sastava eteričnog ulja plodova kardamoma provedena je metodom plinske kromatografije spregnute s tandemskom spektrometrijom masa (GC-MS/MS) korištenjem uređaja Agilent Technologies 7890B GC System / 5977A MSD (Slika 9.).



Slika 9. Spregnuti sustav plinski kromatograf – spektrometar masa (GC-MS/MS Agilent 7890B/5977A) na Zavodu za farmakognoziju Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Uzorci za analizu pripremljeni su otapanjem eteričnog ulja u heksanu (1:100) te je po 1 μ L uzorka injektirano u split modu (1:50). Kao plin nositelj korišten je helij, uz protok 1 mL/min. Sastavnice eteričnog ulja odijeljene su u kapilarnoj koloni HP5ms (5% fenilmetilpolisiloksan) duljine 30 m, unutarnjeg promjera 0,25 mm i debljine filma 0,25 mm, uz sljedeći temperaturni program: početna temperatura kolone 60 °C (1 min), zagrijavanje 3 °C/min do 200 °C te zadržavanje temperature kolone 10 min na 200 °C. Odijeljene sastavnice analizirane su na masenom spektrometru (EI 70 eV, m/z 40-400). Smjesa n-alkana od C-8 do C-20 analizirana je pod istim uvjetima. Obrada rezultata provedena je korištenjem računalnog paketa Agilent GC/MSD ChemStation verzija F.01.03. Sastavnice eteričnog ulja identificirane su usporedbom spektara masa u bazi NIST 14, Wiley 9, HPCH 2205 i Adams (2007). Identifikacija je također provedena na temelju linearnog retencijskog indeksa (RI) koji je izračunat za svaku odijeljenu sastavnicu prema sljedećem izrazu:

$$RI = 100 \times C + 100 \frac{(t_R)_X - (t_R)_C}{(t_R)_{C+1} - (t_R)_C}$$

gdje je C broj C atoma n alkana, t_R retencijsko vrijeme za pojedinu sastavnicu, a X je komponenta za koju se računa retencijski indeks.

4. REZULTATI I RASPRAVA

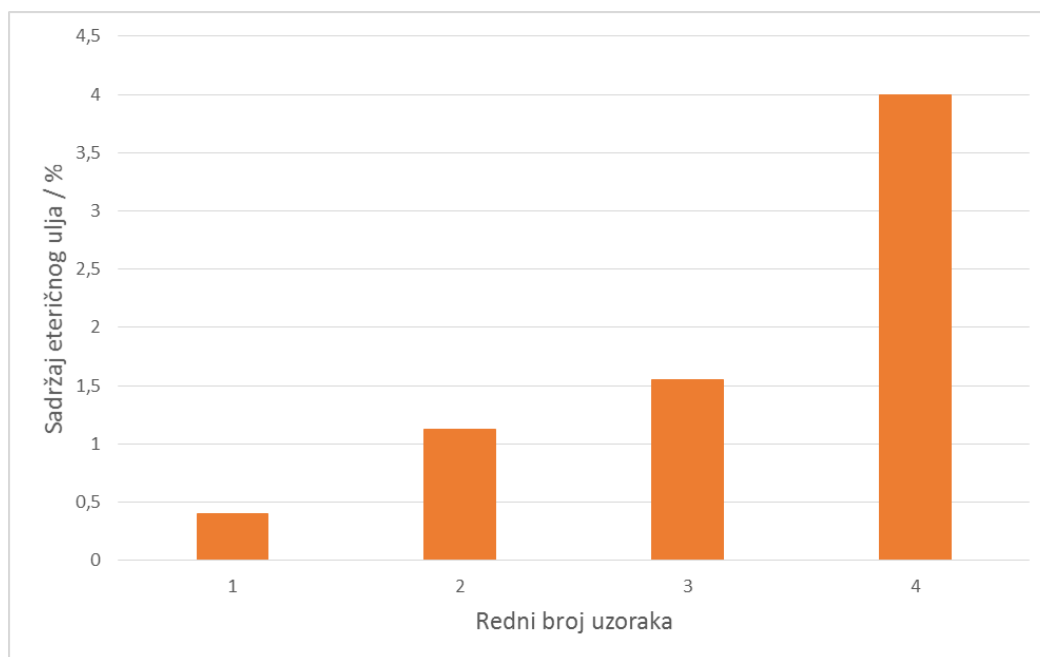
4.1. Sadržaj eteričnog ulja u plodu kardamoma

Sadržaj eteričnog ulja u uzorcima kardamomovog ploda dostupnog na hrvatskom tržištu određen je metodom destilacije pomoću vodene pare. Analizirano je ukupno osam uzoraka, od toga četiri uzorka ploda komercijalno dostupna *in toto* i četiri uzorka ploda dostupna u obliku praha (*in pulvere*). Rezultati određivanja, izraženi u mL eteričnog ulja po kilogramu droge, prikazani su u Tablici 2 kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija dvaju mjerenja.

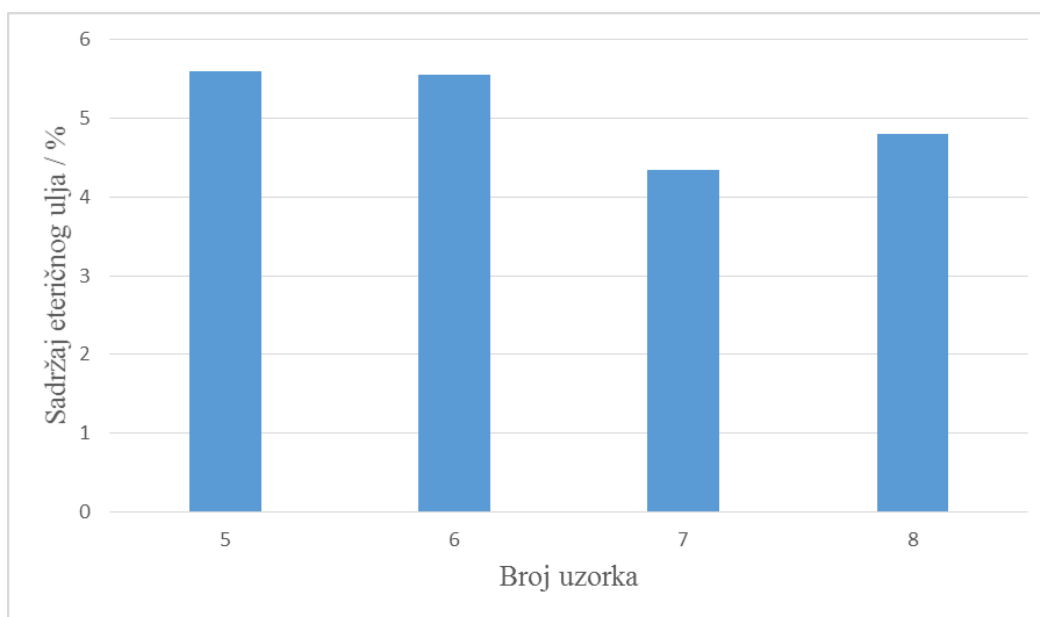
Tablica 2. Sadržaj eteričnog ulja u uzorcima kardamomovog ploda

Broj uzorka	Rezultati određivanja (mL eteričnog ulja/g analizirane biljne droge)	Sadržaj eteričnog ulja (mL/kg)
1.	0,08 mL/20 g	$4 \pm 0,00$ mL/kg
	0,08 mL/20 g	
2.	0,23 mL/20 g	$11,25 \pm 0,25$ mL/kg
	0,22 mL/20 g	
3.	0,29 mL/20 g	$15,5 \pm 1$ mL/kg
	0,33 mL/20 g	
4.	0,82 mL/20 g	40 ± 1 mL/kg
	0,78 mL/20 g	
5.	0,55 mL/10 g	56 ± 1 mL/kg
	0,57 mL/10 g	
6.	0,57 mL/10 g	$55,5 \pm 1,5$ mL/kg
	0,54 mL/10 g	
7.	0,44 mL/10 g	$43,5 \pm 0,5$ mL/kg
	0,43 mL/10 g	
8.	0,47 mL/10 g	48 ± 1 mL/kg
	0,49 mL/10 g	

Ustanovljeno je da se uzorci kardamomovog plod dostupni u obliku prahu značajno razlikuju u sadržaju eteričnog ulja jer je utvrđen širok raspon vrijednosti od 4 mL do 40 mL eteričnog ulja/kg biljne droge (Slika 10.). Za razliku od praškaste droge, udio eteričnog ulja u uzorcima droge u *in toto* plodovima bio je relativno ujednačen i kretao se u rasponu od 44 mL/kg do 56 mL/kg (Slika 11.).



Slika 10. Sadržaj eteričnog ulja (%) u uzorcima kardamomovog ploda in pulvere



Slika 11. Sadržaj eteričnog ulja (%) u uzorcima kardamomovog ploda in toto

Ashokkumar i suradnici (2019) u svojem su radu dali pregled dosad objavljenih sadržaja eteričnog ulja u istraživanim plodovima kardamoma. Uočljivo je da postoje velike razlike među plodovima kardamoma s obzirom na udio eteričnog ulja te da se vrijednosti kreću u širokom rasponu od 0,2 % do 8,7 %. Razlike u sadržaju eteričnog ulja uvjetovane su različitim varijetetima kardamoma, porijeklom plodova, metodom izolacije i dr. Uzorci kardamomovog ploda dostupni na hrvatskom tržištu s obzirom na utvrđeni sadržaj eteričnog ulja u rasponu 0,4-5,6 % u skladu su s literaturnim podacima. Međutim, u monografijama droge *Cardamomi semen* u Ajurvedskoj farmakopeji Indije naveden je zahtjev za sadržajem najmanje 4 % eteričnog ulja, odnosno 3,3 % prema Monografiji WHO, kako bi droga bila za farmaceutsku primjenu. Iz toga proizlazi da samo jedan od četiri uzoraka droge na tržištu dostupna u obliku praha udovoljava farmaceutskim zahtjevima kakvoće. Svi *in toto* uzorci kardamomovog ploda s hrvatskog tržišta sadrže više od 3,3 %, odnosno minimalno 4% eteričnog ulja.

4.2. Kemijski sastav eteričnog ulja kardamoma

Kvalitativna i kvantitativna analiza eteričnog ulja izoliranog iz pojedinog uzorka kardamomovog ploda provedena je metodom plinske kromatografije spregnute s tandemskom spektrometrijom masa (GC-MS/MS). Hlapljive sastavnice eteričnog ulja identificirane su usporedbom spektara masa te retencijskih indeksa s bazama NIST 14, Wiley 9, HPCH 2205 i Adams (2007). Tablice 3-10 donose rezultate analize za svaki od 8 uzoraka eteričnog ulja kardamoma. Kemijski profili analiziranih eteričnih ulja pokazali su prisutnost različitog broja hlapljivih sastavnica, uglavnom između 21 i 32 s izuzetkom jednog uzorka s 88 sastavnica, što je činilo 98,06-100 % ukupnog eteričnog ulja.

Glavne sastavnice eteričnog ulja droge *Cardamomi fructus* su oksigenirani ciklički monoterpenski spojevi, među kojima dominiraju α -terpinil acetat (35,99-62,28 %) i 1,8-cineol (0,24-30,62 %). Ostale manje zastupljene sastavnice ulja su α -terpineol (2,18-16,75 %), linalol (0,81-7,25 %) i sabinen (0-3,76 %). Slika 12. donosi usporedni grafički prikaz udjela glavnih sastavnica u svih 8 analiziranih uzoraka eteričnog ulja kardamoma. Utvrđeni kemijski sastav eteričnog ulja droge *Cardamomi fructus* pokazao je znatne sličnosti ali i određene različitosti u odnosu na rezultate prethodno objavljenih istraživanja. Kemijska karakterizacija eteričnog ulja kardamoma porijeklom iz južne Indije rezultirala je identifikacijom 71 spoja, s α -terpinil acetatom (44,3 %), 1,8-cineolom (10,7 %), α -terpineolom (9,8 %) i linalolom (8,6

%) kao glavnim komponentama što je u skladu s našim rezultatima (Singh i sur., 2008). Ashokkumar i sur. (2020) izvjestili su o razlikama u kemijskom sastavu eteričnog ulja dobivenog od različitih varijeteta kardamoma uzgajanog u južnoj Indiji. Među glavnim sastavnicama bili su 1,8-cineol (28,94 % – 34,91 %), α -terpineol (12,47 %–14,89 %) i sabinen (11,17 %–13,50 %), što je usporedivo s našim rezultatima, dok je α -terpinil acetat (26,68 %–29,60 %) bio prisutan u značajno nižim udjelima u odnosu na većinu uzoraka dostupnih na hrvatskom tržištu. Uzorak kardamomovog ploda, dostupnog na tržnici u Turskoj, karakteriziralo je eterično ulje sastavljeno od 1,8-cineola (25,6 %), linalola (6,4 %) i α -terpinil acetata (40,7 %), slično kao i hrvatske uzorke (Kuyumcu Savan i Küçükbay, 2013). Alam i sur. (2021) usporedili su sastav eteričnog ulja dobivenog iz plodova kardamoma uzgajanog u Indiji i Gvatemali. Ustanovljene su određene kvalitativne i kvantitativne razlike u sastavu dvaju eteričnih ulja, a gvatemalski uzorak se, s obzirom na udio glavnih spojeva α -terpinil acetata (18,71 %), 1,8-cineola (10,59 %) i linalola (5,51 %), bitno razlikovao i od uzoraka s hrvatskog tržišta koji su uglavnom istog porijekla.

Najzastupljenije sastavnice, α -terpinil acetat i 1,8-cineol, ujedno su i nositelji biološke i farmakološke aktivnosti ploda kardamoma, uključujući antimikrobni, antioksidativni, protuupalni i protutumorski učinak. 1,8-cineol je monoterpenski spoj poznat i pod nazivom eukaliptol. Dokazano je da djeluje mukolitički i spazmolitički na dišne puteve, za što postoje i klinički dokazi. Posebno se ističe terapijska djelotvornost kod upalnih bolesti dišnih putova, poput astme i kronične opstruktivne plućne bolesti. Nadalje, pokazuje snažan antioksidacijski i protuupalni učinak. Inhibira proizvodnju kisikovih radikala i brojnih citokina te drugih medijatora upale uključenih u hipersekreciju mukoze i procese upale kod respiratornih bolesti. Pokazao se učinkovit u poboljšanju osjetljivosti na lijekove korištene u liječenju navedenih bolesti, posebice inhalacijskih kortikosteroida te se može primijeniti kao dopunska terapija. Kao bioaktivna sastavnica posjeduje velik potencijal i u liječenju drugih upalnih bolesti poput upalnih bolesti crijeva (Juergens, 2014).

Monoterpenski ester, α -terpinil acetat, sekundarni je biljni metabolit kojeg pronalazimo u eteričnim uljima biljnih vrsta porodica Zingiberaceae, Apiaceae, Myrtaceae, Lamiaceae i dr. Široko se koristi kao mirisni sastojak u proizvodnji sapuna, šampona, sredstava protiv znojenja i losiona, u osvježivačima zraka i drugim proizvodima mirisne prirode. Također se upotrebljava kao dodatak prehrani u osvježavajućim pićima, bombonima i sladoledima. Pokazuje antimikrobno djelovanje, posebice na gljivice i dermatofite te nešto slabiji učinak na bakterije (Vaičiulytė i sur., 2021). Dokazano je i da djeluje antioksidacijski i neuroprotektivno

s naglaskom na antikolinesterazni i antiamiloidni učinak što ga čini obećavajućim kao potencijalni početni spoj za razvoj modulatora tijekom neurodegenerativnih bolesti poput Alzheimerove bolesti (Chowdhury i Kumar, 2020).

Ostale, manje zastupljene sastavnice poput α -terpineola, linalola i sabinena biološki su aktivni spojevi koji potencijalno doprinose ljekovitom djelovanju droge *Cardamomi fructus* u pogledu gastroprotektivnog i protuupalnog djelovanja, no značajno manje od glavnih sastavnica (Ashokkumar i sur., 2019).

Tablica 3. Rezultati GC-MS/MS analize eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovog ploda u prahu - UZORAK 1

Broj pika	Retencijsko vrijeme / min	Kovačev indeks	Spoj	Udio (%)
1	8,57	1028	limonen	0,20
2	8,68	1031	1,8-cineol	0,24
3	11,25	1101	linalol	0,81
4	14,39	1177	terpinen-4-ol	0,53
5	14,96	1190	α -terpineol	2,18
6	16,18	1219	karveol	0,29
7	17,22	1243	karvon	0,22
8	17,72	1255	linalil acetat	1,65
9	19,77	1303	karvakrol	1,32
10	20,66	1324	metil geranat	0,33
11	21,77	1351	α -terpinil acetat	56,56
12	22,76	1374	α -kopaen	0,22
13	23,19	1384	geranil acetat	0,77
14	24,53	1417	β -kariofilen	1,70
15	25,25	1435	α -terpinolen	0,23
16	27,22	1483	β -selinen	1,72
17	27,58	1492	α selinen	0,40
18	28,34	1512	γ -kadinen	0,47
19	28,73	1521	δ kadinen	0,28
20	30,34	1563	nerolidil acetat	2,42
21	30,99	1580	kariofilen oksid	0,50
22	32,67	1624	n.i.	0,15
23	32,97	1633	n.i.	0,41
24	34,21	1666	bulnesol	0,42
25	36,78	1738	n.i.	0,11
26	38,73	1793	ambrial	1,94

27	44,30	1962	palmitinska kiselina	0,45
28	44,85	1979	15,16-dinorlabda-8(17),11-dien-13-on	1,30
29	47,65	2069	15,16-dinorlabda-8(17) 12-dien-14-al	0,29
30	49,19	2115	koronarin E	20,82
31	55,73	2265	n.i.	0,63
32	57,30	2296	trikosan	0,47
UKUPNO				98,06

Tablica 4. Rezultati GC-MS/MS analize eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovog ploda u prahu - UZORAK 2

Broj pika	Retencijsko vrijeme (min)	Kovačev indeks	Spoj	Udio (%)
1	5,52	926	α -tujen	0,02
2	5,71	933	α -pinen	0,03
3	6,81	973	sabinen	0,09
4	6,91	976	β -pinen	0,04
5	7,22	988	sulkaton	0,04
6	7,32	991	mircen	0,26
7	7,71	1004	α -felandren	0,04
8	8,17	1017	α -terpinen	0,15
9	8,44	1024	p-cimen	0,09
10	8,59	1028	limonen	1,18
11	8,69	1031	1,8-cineol	3,26
12	8,91	1037	cis- β -ocimen	0,06
13	9,28	1047	trans- β -ocimen	0,11
14	9,67	1058	γ -terpinen	0,28
15	9,99	1066	cis-sabinen hidrat	0,30
16	10,19	1072	cis-linalol oksid	0,11
17	10,78	1088	terpinolen	0,37

18	11,32	1102	linalol	5,50
19	12,10	1121	p-ment-2-en-1-ol	0,09
20	12,66	1135	n.i.	0,03
21	12,84	1139	n.i.	0,05
22	13,42	1153	menton	0,05
23	13,98	1166	borneol	0,30
24	14,41	1177	terpinen-4-ol	1,63
25	14,79	1186	p-cimen-8-ol	0,03
26	15,05	1192	α terpineol	5,95
27	15,13	1194	oktil-izobutanoat	0,05
28	15,30	1199	metil kavikol	0,08
29	16,19	1219	trans-karveol	0,09
30	16,60	1229	nerol	0,14
31	17,04	1239	kumin aldehid	0,03
32	17,12	1241	neral	0,19
33	17,22	1243	karvon	0,24
34	17,81	1257	Linalil acetat	3,94
35	18,40	1271	geranial	0,30
36	19,01	1285	trans-anetol	0,79
37	19,64	1300	n.i.	0,02
38	19,77	1303	n.i.	0,09
39	20,19	1313	karvakrol	0,07
40	20,36	1317	δ -terpinil acetat	0,27
41	20,70	1325	metil geranat	0,21
42	22,12	1359	α -terpinil acetat	60,46
43	22,21	1361	eugenol	0,72
44	22,43	1366	neril-acetat	0,26
45	22,69	1373	metil-2-dekanoat	0,04
46	22,84	1376	α -kopaen	0,04
47	23,22	1385	geranil acetat	0,82
48	23,39	1389	dekahidro naftalen	0,05

49	23,49	1391	β -elemen	0,04
50	24,56	1417	β -kariofilen	0,27
51	25,16	1432	γ -elemen	0,02
52	25,27	1435	terpinolen	0,40
53	25,75	1447	γ -murolen	0,06
54	25,92	1451	α -humulen	0,06
55	25,99	1453	geranil aceton	0,05
56	27,03	1479	germakren D	0,09
57	27,23	1483	β -selinen	0,50
58	27,59	1492	α -selinen	0,16
59	27,72	1496	2-tridekanon	0,04
60	28,09	1505	δ -amorfen	0,04
61	28,35	1512	γ -kadinen	0,36
62	28,74	1522	δ -kadinen	0,10
63	29,01	1529	murola-3,5-dien	0,03
64	29,97	1554	germakren B	0,17
65	30,21	1560	n.i.	0,02
66	30,41	1565	trans-nerolidol	5,10
67	30,76	1574	kariofilen oksid	0,05
68	30,93	1579	farnezil acetat	0,36
69	31,19	1585	globulol	0,12
70	32,43	1618	n.i.	0,07
71	32,68	1625	3-butenal	0,08
72	32,74	1627	n.i.	0,06
73	32,97	1633	n.i.	0,05
74	34,22	1666	bulnesol	0,12
75	35,93	1714	farnezol (2E, 6Z)	0,11
76	36,19	1721	farnezol (2Z, 6E)	0,16
77	36,78	1738	8-drimen-11-al	0,10
78	36,89	1741	farnesal (2E, 6E)	0,15
79	38,73	1793	13,14,15,16-tetranorlabda-8(17)-en-	0,49

12-al				
80	40,32	1841	farnezil-acetat (2E, 6E)	0,10
81	43,11	1925	metil palmitat	0,03
82	44,35	1964	palmitinska kiselina	0,16
83	44,85	1979	15,16-dinorlabda-8(17)-diene-13-on	0,35
84	46,32	2026	geranil linalol	0,05
85	47,65	2069	ambrial	0,03
86	48,54	2097	metil oleat	0,06
87	49,16	2114	koronarin A	0,77
88	49,82	2132	n.i.	0,11
UKUPNO				99,17

Tablica 5. Rezultati GC-MS/MS analize eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovog ploda u prahu - UZORAK 3

Broj pika	Retencijsko vrijeme (min)	Kovačev indeks	Spoj	Udio (%)
1	5,70	933	α -pinen	0,11
2	6,80	973	sabinen	0,51
3	6,91	976	β -pinen	0,14
4	7,32	991	mircen	0,44
5	8,17	1017	α -terpinen	0,18
6	8,44	1024	p-cimen	0,12
7	8,58	1028	limonen	2,02
8	8,68	1030	1,8-cineol	11,99
9	9,28	1047	trans- β -ocimen	0,14
10	9,66	1058	γ -terpinen	0,38
11	9,99	1066	cis-sabinen hidrat	0,33
12	10,78	1088	terpinolen	0,42
13	11,25	1101	linalol	6,39
14	14,39	1177	terpinen-4-ol	1,94
15	14,97	1190	α -terpineol	4,71
16	17,77	1256	linalil acetat	3,72
17	20,35	1317	δ -terpinil acetat	0,23
18	21,79	1351	α -terpinil acetat	62,28
19	22,39	1365	neril acetat	0,21
20	23,20	1384	geranil acetat	1,40
21	24,53	1417	β -kariofilen	0,19
22	27,22	1483	β -selinen	0,27
23	28,72	1521	miristicin	0,36
24	30,35	1563	trans-nerolidol	1,54
			UKUPNO	100,00

Tablica 6. Rezultati GC-MS/MS analize eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovog ploda u prahu - UZORAK 4

Broj pika	Retencijsko vrijeme (min)	Kovačev indeks	Spoj	Udio (%)
1	5,52	926	α -tujen	0,12
2	5,70	933	α -pinen	0,67
3	6,81	973	sabinen	2,12
4	6,91	976	β -pinen	0,23
5	7,32	991	mircen	1,25
6	8,17	1017	α -terpinen	0,17
7	8,44	1024	p-cimen	0,30
8	8,58	1028	limonen	1,87
9	8,69	1031	1,8-cineol	26,25
10	9,66	1058	γ -terpinen	0,38
11	9,99	1067	cis-sabinen hidrat	0,29
12	10,79	1088	terpinolen	0,28
13	11,25	1101	linalol	7,25
14	13,98	1167	trans-ocimenol	0,18
15	14,40	1177	terpinen-4-ol	1,96
16	14,99	1191	α -terpineol	16,75
17	17,15	1242	neral	0,18
18	17,78	1256	linalil acetat	1,49
19	18,42	1271	geranial	0,24
20	20,35	1317	δ -terpinil acetat	0,16
21	21,75	1350	α -terpinil acetat	35,99
22	23,20	1385	geranil-acetat	0,27
23	27,22	1483	β -selinen	0,18
24	30,34	1563	trans-nerolidol	1,44
UKUPNO				100,00

Tablica 7. Rezultati GC-MS/MS analize eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovog ploda in toto - UZORAK 5

Broj pika	Retencijsko vrijeme (min)	Kovačev indeks	Spoj	Udio (%)
1	5,51	926	α -tujen	0,12
2	5,70	933	α -pinen	0,92
3	6,80	973	sabinen	2,90
4	6,91	976	β -pinen	0,30
5	7,32	991	mircen	1,54
6	8,44	1024	p-cimen	0,60
7	8,58	1028	limonen	2,42
8	8,69	1031	1,8-cineol	29,05
9	9,67	1058	γ -terpinen	0,19
10	9,99	1067	cis-sabinen hidrat	0,29
11	10,78	1088	terpinolen	0,18
12	11,25	1101	linalol	4,98
13	14,39	1177	terpinen-4-ol	1,83
14	14,96	1190	α -terpineol	3,03
15	17,77	1256	linalil acetat	4,57
16	18,41	1271	geranial	0,30
17	20,34	1318	δ -terpinil acetat	0,17
18	21,76	1350	α -terpinil acetat	44,66
19	23,19	1384	geranil acetat	0,72
20	27,22	1483	β -selinen	0,27
21	30,34	1563	trans-nerolidol	0,94
UKUPNO				100,00

Tablica 8. Rezultati GC-MS/MS analize eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovog ploda in toto - UZORAK 6

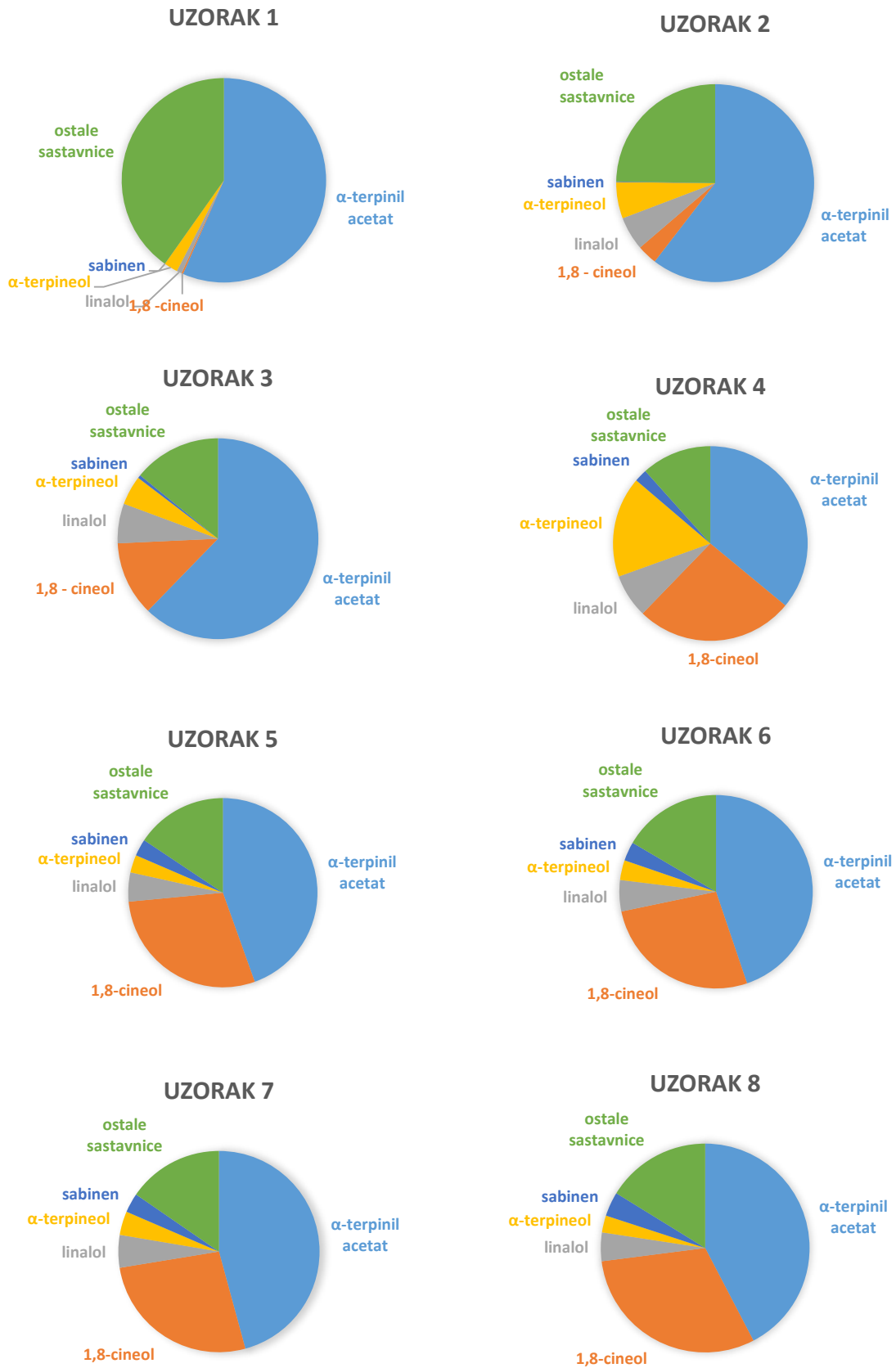
Broj pika	Retencijsko vrijeme (min)	Kovačev indeks	Spoj	Udio (%)
1	5,52	926	α -tujen	0,13
2	5,70	933	α -pinen	1,01
3	6,80	973	sabinen	3,17
4	6,91	976	β -pinen	0,32
5	7,32	991	mircen	1,62
6	8,17	1017	α -terpinen	0,22
7	8,44	1024	p-cimen	0,10
8	8,58	1028	limonen	2,28
9	8,69	1031	1,8-cineol	26,92
10	9,66	1058	γ -terpinen	0,45
11	9,99	1066	cis-sabinen hidrat	0,38
12	10,78	1088	terpinolen	0,24
13	11,25	1101	linalol	5,23
14	14,39	1177	terpinen-4-ol	1,67
15	14,96	1190	α -terpineol	3,32
16	17,14	1241	neral	0,17
17	17,77	1256	linalil acetat	4,67
18	18,41	1271	geranial	0,53
19	20,34	1317	δ -terpinil acetat	0,16
20	21,77	1351	α -terpinil acetat	44,80
21	23,19	1384	geranil acetat	0,66
22	27,22	1483	β -selinen	0,24
23	28,35	1512	γ -kadinen	0,16
24	30,34	1563	trans-nerolidol	1,29
25	49,16	2114	koronarin E	0,28
			UKUPNO	100,00

Tablica 9. Rezultati GC-MS/MS analize eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovog ploda in toto - UZORAK 7

Broj pika	Retencijsko vrijeme (min)	Kovačev indeks	Spoj	Udio (%)
1	5,52	926	α -tujen	0,11
2	5,70	933	α -pinen	0,87
3	6,80	973	sabinen	3,12
4	6,90	976	β -pinen	0,31
5	7,32	991	mircen	1,69
6	8,17	1017	α -terpinen	0,13
7	8,44	1024	p-cimen	0,41
8	8,58	1028	limonen	2,75
9	8,69	1031	1,8-cineol	26,67
10	9,66	1058	γ -terpinen	0,32
11	9,99	1066	cis-sabinen hidrat	0,38
12	10,78	1088	terpinolen	0,26
13	11,25	1101	linalol	5,25
14	14,39	1177	terpinen-4-ol	1,83
15	14,96	1190	α -terpineol	3,82
16	17,14	1241	neral	0,40
17	17,77	1256	linalil acetat	3,37
18	18,40	1271	geranial	0,67
19	21,77	1350	α -terpinil acetat	45,79
20	23,20	1384	geranil acetat	0,56
21	30,34	1563	trans-nerolidol	1,26
UKUPNO				100,00

Tablica 10. Rezultati GC-MS/MS analize eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovog ploda in toto - UZORAK 8

Broj pika	Retencijsko vrijeme (min)	Kovačev indeks	Spoj	Udio (%)
1	5,52	926	α -tujen	0,16
2	5,70	933	α -pinen	1,32
3	6,81	973	sabinen	3,76
4	6,91	976	β -pinen	0,39
5	7,32	991	mircen	1,87
6	8,44	1024	p-cimen	0,48
7	8,59	1028	limonen	2,92
8	8,69	1031	1,8-cineol	30,62
9	9,67	1058	γ -terpinen	0,24
10	9,99	1067	cis-sabinen hidrat	0,34
11	10,79	1088	terpinolen	0,21
12	11,25	1101	linalol	4,43
13	14,39	1177	terpinen-4-ol	1,61
14	14,96	1190	α -terpineol	2,63
15	17,15	1242	neral	0,22
16	17,77	1256	linalil acetat	4,28
17	18,41	1273	geranial	0,36
18	20,35	1317	δ -terpinil acetat	0,17
19	21,76	1350	α -terpinil acetat	42,35
20	23,19	1384	geranil acetat	0,85
21	30,34	1563	trans-nerolidol	0,81
			UKUPNO	100,00



Slika 12. Udio glavnih sastavnica u uzorcima kardamomovog ploda in pulvere (uzorci 1-4) i in toto (uzorci 5-8)

5. ZAKLJUČCI

U okviru ovog diplomskog rada određen je sadržaj i sastava eteričnog ulja izoliranog iz kardamomovih plodova u svrhu utvrđivanja kakvoće uzoraka biljne droge dostupne na hrvatskom tržištu. Destilacijom pomoću vodene pare određen je sadržaj eteričnog ulja u osam analiziranih uzoraka te su uočene značajne razlike u korist cjelovitog ploda. Dok je kod *in toto* plodova ustanovljen relativno ujednačen sadržaj eteričnog ulja (44 mL/kg - 56 mL/kg), među uzorcima kardamomovog ploda u praha zapažene su velike razlike, od 4 mL do 40 mL eteričnog ulja/kg. Sva četiri uzorka *in toto* droge te samo dva praškasta uzorka su s obzirom na udio eteričnog ulja udovoljavala relevantnim zahtjevima farmaceutske kakvoće (najmanje 3,3% odnosno 4% eteričnog ulja). S obzirom da su eterična ulja smjesa većeg broja hlapljivih spojeva, njihov je udio vrlo promjenjiv jer na njega utječu brojni čimbenici, od varijeteta vrste, geografsko-pedoloških uvjeta, roka sakupljanja, načina sušenja, uvjeta skladištenja, metode izolacije eteričnog ulja i dr. Do gubitaka lakohlapljivih sastavnica eteričnog ulja može doći tijekom nepravilnog i/ili dugog skladištenja kao i postupka usitnjavanja droge. Svi navedeni čimbenici, a posebice potonji mogu biti razlogom relativno niskog udjela eteričnog ulja u uzorcima droge koje na tržište nalazimo u obliku praha. Značajne razlike u sadržaju eteričnog ulja među cjelovitim i praškasto usitnjenim plodovima upućuju na zaključak da je, uz gore navedene brojne vanjske i unutrašnje čimbenici koji mogu utjecati na sadržaj i kvalitetu eteričnog ulja, potrebno voditi računa i o vremenskom periodu od trenutka sabiranja ploda, preko obrade u praškasti oblik i njegova skladištenja do dolaska kranjem korisniku.

Metodom plinske kromatografije spregnute s tandemskom spektrometrijom masa (GC MS/MS) u uzorcima eteričnog ulja kardamoma identificirano je od 21 do 88 sastavnica te su među njima također uočene značajne kvalitativne i kvantitativne razlike. Glavne sastavnice kardamomovog eteričnog ulja su oksigenirani ciklički monoterpenski spojevi, među kojima dominiraju α -terpinil acetat (35,99-62,28 %) i 1,8-cineol (0,24-30,62 %). Ostali manje zastupljeni su α -terpineol (2,18-16,75 %), linalol (0,81-7,25 %) i sabinen (0-3,76 %). Rezultati provedenih istraživanja sugeriraju superiorniju kvalitetu cjelovitog ploda kardamoma u odnosu na plod komercijalno dostupan u obliku praha, što upućuje na nužnost korištenja *in toto* droge u farmaceutske svrhe. Utvrđene značajne razlike u sadržaju i sastavu eteričnog ulja kao temeljnog nositelja biološkog i farmakološkog djelovanja kardamomovog ploda upućuju na značaj kontrole kakvoće i važnost postojanja strožih regulatornih propisa za stavljanje na tržište biljnih droga koje se koriste u fitoterapiji.

6. LITERATURA

- Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream, Allured, 2007.
- Alam A, Rehman NU, Ansari MN, Palla AH. Effects of essential oils of *Elettaria cardamomum* grown in India and Guatemala on Gram-negative bacteria and gastrointestinal disorders. *Molecules*, 2021, 26(9), 2546.
- Anwar F, Abbas A, Alkharfy KM, Gilani AH. Cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton) Oils. U: Essential oils in food preservation, flavor and safety. Preedy VR, urednik, London, Academic Press, 2016, str. 295-301.
- Ashokkumar K, Murugan M, Dhanya MK, Warkentin TD. Botany, traditional uses, phytochemistry and biological activities of cardamom [*Elettaria cardamomum* (L.) Maton] – A critical review. *J Ethnopharmacol*, 2019, 246, 112244.
- Ashokkumar K, Murugan M, Dhanya MK, Raj S, Kamaraj D. Phytochemical variations among four distinct varieties of Indian cardamom *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Nat Prod Res*, 2020, 34, 1–4.
- Chowdhury S, Kumar S. Alpha-terpinyl acetate: A natural monoterpene from *Elettaria cardamomum* as multi-target directed ligand in Alzheimer's disease. *J Funct Foods*, 2020, 68, 103892.
- EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care). European Pharmacopoeia, 10. izd., Strasbourg, Council of Europe, 2019, str. 307-308.
- Hashim S, Aboobaker VS, Madhubala R, Bhattacharya RK, Rao AR. Modulatory effects of essential oils from spices on the formation of DNA adduct by aflatoxin B1 *in vitro*. *Nutr Cancer*, 1994, 21(2), 169–175.
- Jamal A, Javed K, Aslam M, Jafri MA. Gastroprotective effect of cardamom, *Elettaria cardamomum* Maton. fruits in rats. *J Ethnopharmacol*, 2006, 103(2), 149–153.
- Juergens U. Anti-inflammatory properties of the monoterpene 1,8-cineole: Current evidence for co-medication in inflammatory airway diseases. *Drug Res*, 2014, 12, 638–646.
- Kalođera Z, Blažević N, Salopek N, Jurišić R. Eterična ulja (aetherolea). *Farm Glas*, 1998, 54, 195-210.

- Kumar A, Tandon, S, Ahmad J, Yadav A, Kahol AP. Essential oil composition of seed and fruit coat of *Elettaria cardamomum* from South India. *J Essent Oil-Bear Plants*, 2005, 8, 204-207.
- Kuyumcu Savan E, Küçükbay FZ. Essential oil composition of *Elettaria cardamomum* Maton. *J Appl Biol*, 2013, 7 (3), 42-45.
- Missouri Botanical Garden, <http://www.missouribotanicalgarden.org/> pristupljeno 12. 8. 2021.
- Monti D, Chetoni P, Burgalassi S, Najarro M, Saettone MF, Boldrini E. Effect of different terpenecontaining essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. *Int J Pharm*, 2002, 26, 209-214.
- Noumi E, Snoussi M, Alreshidi MM., Punchappady-Devasya R, Saptami K, Caputo L, De Martino L, Souza LF, Msaada K, Mancini E, Flamini G, Al-sieni A, De Feo V. Chemical and biological evaluation of essential oils from cardamom species, *Molecules*, 2018, 23, 2818.
- Parthasarathy VA, Prasath D. Cardamom. U: Handbook of herbs and spices. Peter KV, urednik, Cambridge, Woodhead, 2012, str. 131-170.
- Plants of the World Online, 2017., <http://www.plantsoftheworldonline.org/> pristupljeno 10. 8. 2021.
- Sengottuvelu S. Cardamom (*Elettaria cardamomum* Linn. Maton) seeds in health. U: Nuts and seeds in health and disease prevention, Preedy VR., Watson RR., urednici, Oxford, Academic press, 2011, str. 285-291.
- Singh G, Kiran S, Marimuthu P, Isidorov V, Vinogorova V. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and various oleoresins of *Elettaria cardamomum* (seeds and pods). *J Sci Food Agric*, 2008, 88, 280-289.
- Suneetha WJ, Krishnakantha TP. Cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation. *Phytother Res*, 2005, 19(5), 437-440.
- The Ayurvedic Pharmacopoeia of India, Government of India, Ministry of Health and Family New Delhi, Welfare, 1989, str. 136-137.

Tisserand R, Young R. Essential oils composition. U: Essential oils safety. Williamson EM, urednik, London, Churchill Livingstone, 2014, str. 5-22.

Vaičiulytė V, Ložienė K, Švedienė J, Raudonienė V, Paškevičius A. α -Terpinyl Acetate: occurrence in essential oils bearing thymus pulegioides, phytotoxicity, and antimicrobial Effects. *Molecules*, 2021, 24, 1065.

Vladimir-Knežević S. Farmakognozija I, Eterična ulja. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2016.

WHO (World Health Organization). WHO monographs on selected medicinal plants, Volume 4, Semen cardamomi. Geneva, World Health Organization, 2009, str. 61-70.

7. SAŽETAK / SUMMARY

Kardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) je aromatična, zeljasta trajnica koja pripada porodici đumbirovki (*Zingiberaceae*). Plodovi kardamoma cijenjeni su i naširoko korišteni kao začini i aroma u hrani i napitcima no poznato je i njihovo blagotvorno djelovanje na zdravlje. Ljekarnička droga *Cardamomi fructus* (*Cardamomi semen*) ima dugu povijest primjene u Ajurvedi, tradicionalnoj indijskoj medicini, gdje se koristi uglavnom u liječenju gastrointestinalnih i respiratornih tegoba. Ljekovito djelovanje kardamoma temelji se poglavito na sadržaju eteričnog ulja no, s obzirom da se radi o egzotičnoj i relativno skupoj biljnoj drogi te da je njeno farmakološko i kliničko djelovanje još uvijek nedovoljno istraženo, u suvremenoj europskoj fitoterapiji rijetko se koristi. U okviru ovog diplomskog rada provedena je fitokemijska analiza temeljena na određivanju sadržaja i sastava eteričnog ulja u osam komercijalno dostupnih uzoraka kardamomovog ploda s hrvatskog tržišta. Farmakopejskom metodom destilacije pomoću vodene pare utvrđeno je da uzorci biljne droge dostupni u obliku praha sadrže 4-40 mL eteričnog ulja/kg, dok je udio eteričnog ulja u *in toto* plodovima bio značajno viši i kretao se u rasponu 44-56 mL eteričnog ulja/kg. Analiza provedena metodom plinske kromatografije spregnute s tandemskom spektrometrijom masa (GC-MS/MS) pokazala je da su glavne sastavnice eteričnog ulja kardamoma α -terpinil acetat (35,99-62,28 %) i 1,8-cineol (0,24-30,62 %). Među ostalim manje zastupljenim spojevima ističu se α -terpineol (2,18-16,75 %), linalol (0,81-7,25 %) i sabinen (0-3,76 %). Dobiveni rezultati upućuju na značajne razlike u sadržaju i sastavu eteričnog ulja kao glavnog pokazatelja kakvoće kardamomovog ploda i nositelja ljekovitog djelovanja te ističu superiorniju farmaceutsku kakvoću cjelovite droge u odnosu na onu komercijalno dostupnu u obliku praha.

Cardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) is an aromatic, herbaceous perennial, plant belonging to the ginger family (Zingiberaceae). Cardamom fruits are valued and widely used as a spice and aroma in food and beverages, but their beneficial effects on human health are also well-known. The herbal drug Cardamomi fructus (Cardamomi semen) has a long history of usage in Ayurveda, traditional Indian medicine, where it is used mainly in treating gastrointestinal and respiratory ailments. The healing effect of cardamom is based mainly on the content of essential oil, since it is an exotic and relatively expensive herbal drug and its pharmacological and clinical effects are still insufficiently researched, it is rarely used in modern phytotherapy in Europe. As part of this thesis, a phytochemical analysis based on the determination of the content and composition of essential oil in eight commercially available samples of cardamom fruit from the Croatian market was performed. The pharmacopoeial method of steam distillation showed that samples of herbal drugs available in powder form contained 4-40 mL of essential oil/kg, while the content of essential oil in *in toto* fruits was significantly higher and ranged from 44 to 56 mL essential oil/kg. Analysis by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) showed that the main components of cardamom essential oil were α -terpinyl acetate (35.99-62.28%) and 1,8-cineole (0.24 -30.62%). Other less common components include α -terpineol (2.18-16.75%), linalool (0.81-7.25%) and sabinene (0-3.76%). The obtained results indicate significant differences in the content and composition of essential oil as the main indicator of the quality of cardamom fruit and basis of medicinal effects and also emphasize the superior pharmaceutical quality of the whole drug compared to commercially available powder.

**8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC
DOCUMENTATION CARD**

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmakognoziju
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Određivanje sadržaja i sastava eteričnog ulja kardamoma (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton)

Lara Čiča

SAŽETAK

Kardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) je aromatična, zeljasta trajnica koja pripada porodici đumbirovki (Zingiberaceae). Plodovi kardamoma cijenjeni su i naširoko korišteni kao začini i aroma u hrani i napitcima no poznato je i njihovo blagotvorno djelovanje na zdravlje. Ljekarnička droga *Cardamomi fructus* (*Cardamomi semen*) ima dugu povijest primjene u Ajurvedi, tradicionalnoj indijskoj medicini, gdje se koristi uglavnom u liječenju gastrointestinalnih i respiratornih tegoba. Ljekovito djelovanje kardamoma temelji se poglavito na sadržaju eteričnog ulja no, s obzirom da se radi o egzotičnoj i relativno skupoj biljnoj drogi te da je njeno farmakološko i kliničko djelovanje još uvijek nedovoljno istraženo, u suvremenoj europskoj fitoterapiji rijetko se koristi. U okviru ovog diplomskog rada provedena je fitokemijska analiza temeljena na određivanju sadržaja i sastava eteričnog ulja u osam komercijalno dostupnih uzoraka kardamomovog ploda s hrvatskog tržišta. Farmakopejskom metodom destilacije pomoću vodene pare utvrđeno je da uzorci biljne droge dostupni u obliku praha sadrže 4-40 mL eteričnog ulja/kg, dok je udio eteričnog ulja u *in toto* plodovima bio značajno viši i kretao se u rasponu 44-56 mL eteričnog ulja/kg. Analiza provedena metodom plinske kromatografije spregnute s tandemskom spektrometrijom masa (GC-MS/MS) pokazala je da su glavne sastavnice eteričnog ulja kardamoma α -terpinil acetat (35,99-62,28 %) i 1,8-cineol (0,24-30,62 %). Među ostalim manje zastupljenim spojevima ističu se α -terpineol (2,18-16,75 %), linalol (0,81-7,25 %) i sabinen (0-3,76 %). Dobiveni rezultati upućuju na značajne razlike u sadržaju i sastavu eteričnog ulja kao glavog pokazatelja kakvoće kardamomovog ploda i nositelja ljekovitog djelovanja te ističu superiorniju farmaceutsku kakvoću cjelovite droge u odnosu na onu komercijalno dostupnu u obliku praha.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 39 stranica, 12 grafičkih prikaza, 10 tablica i 26 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: kardamom, *Cardamomi fructus*, eterično ulje, GC-MS, α -terpinil acetat, 1,8-cineol

Mentor: **Dr. sc. Biljana Blažeković**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Biljana Blažeković**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Maja Bival Štefan, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: 1. travnja 2022.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmacognosy
Trg Marka Marulića 20, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Determination of essential oil content and composition in cardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton)

Lara Čiča

SUMMARY

Cardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) is an aromatic, herbaceous perennial, plant belonging to the ginger family (Zingiberaceae). Cardamom fruits are valued and widely used as a spice and aroma in food and beverages, but their beneficial effects on human health are also well-known. The herbal drug Cardamomi fructus (Cardamomi semen) has a long history of usage in Ayurveda, traditional Indian medicine, where it is used mainly in treating gastrointestinal and respiratory ailments. The healing effect of cardamom is based mainly on the content of essential oil, since it is an exotic and relatively expensive herbal drug and its pharmacological and clinical effects are still insufficiently researched, it is rarely used in modern phytotherapy in Europe. As part of this thesis, a phytochemical analysis based on the determination of the content and composition of essential oil in eight commercially available samples of cardamom fruit from the Croatian market was performed. The pharmacopoeial method of steam distillation showed that samples of herbal drugs available in powder form contained 4-40 mL of essential oil/kg, while the content of essential oil in *in toto* fruits was significantly higher and ranged from 44 to 56 mL essential oil/kg. Analysis by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) showed that the main components of cardamom essential oil were α -terpinyl acetate (35.99-62.28%) and 1,8-cineole (0.24 - 30.62%). Other less common components include α -terpineol (2.18-16.75%), linalool (0.81-7.25%) and sabinene (0-3.76%). The obtained results indicate significant differences in the content and composition of essential oil as the main indicator of the quality of cardamom fruit and basis of medicinal effects and also emphasize the superior pharmaceutical quality of the whole drug compared to commercially available powder.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 39 pages, 12 figures, 10 tables and 26 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Cardamom, Cardamomi fructus, essential oil, GC-MS, α -terpinyl acetate, 1,8-cineole

Mentor: **Biljana Blažeković, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Biljana Blažeković, Ph. D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Maja Bival Štefan, Ph.D. Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Dubravka Vitali Čepo, Ph.D. Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: April 1st, 2022.