

Suvremena proizvodnja i ljekovita svojstva hrena (*Armoracia rusticana*)

Galičić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:187641>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Ana Galičić

Diplomski studij Biljna proizvodnja

SUVREMENA PROIZVODNJA I LJEKOVITA SVOJSTVA HRENA

(Armoracia rusticana L.)

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Ana Galičić

Diplomski studij Biljna proizvodnja

SUVREMENA PROIZVODNJA I LJEKOVITA SVOJSTVA HRENA

(Armoracia rusticana L.)

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Dr.sc. Monika Tkalec, predsjednik
2. Izv.prof.dr.sc. Tomislav Vinković, mentor
3. Izv.prof.dr.sc. Miro Stošić, član

Osijek, 2020.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. KLASIFIKACIJA I MORFOLOGIJA HRENA | 2 |
| 2.1. Klasifikacija hrena | 2 |
| 2.2. Srodne vrste hrena | 3 |
| 2.3. Morfologija hrena | 3 |
| 3. NUTRITIVNA VRIJEDNOST HRENA | 5 |
| 3.1. Nutritivna i zdravstvena vrijednost | 5 |
| 4. SUVREMENA PROIZDOVNJA HRENA | 7 |
| 4.1. Agroekološki uvjeti uzgoja | 7 |
| 4.2. Agrotehničke mjere uzgoja | 7 |
| 4.2.1. Plodored i gnojidba tla | 7 |
| 4.2.2. Obrada tla | 8 |
| 4.3. Sadnja i uzgoj hrena | 8 |
| 4.3.1. Izbor kultivara | 8 |
| 4.3.2. Priprema reznica hrena | 9 |
| 4.3.3. Priprema tla za sadnju | 9 |
| 4.3.4. Vrijeme i način sadnje | 9 |
| 4.3.5. Njega nasada i zaštita od korova | 10 |
| 4.4. Berba i skladištenje hrena | 10 |
| 5. KEMIJSKI SASTAV I LJEKOVITA SVOJSTVA HRENA | 12 |
| 5.1. Glukozinolati | 12 |
| 5.2. Mirozinaza | 16 |
| 5.3. Izotiocijanati | 17 |
| 5.4. Ostali sastojci | 17 |
| 6. FARMAKOLOŠKA ISPITIVANJA IZOTIOCIJANATA U HRENU | 19 |
| 6.1. Usvajanje i metabolizam izotiocijanata | 19 |
| 6.2. Izotiocijanat kao antikancerogeno sredstvo | 19 |
| 6.2.1. Inhibicija enzima koji aktiviraju i poticanje enzima koji deaktiviraju kancerogene tvari | 20 |
| 6.2.2. Pokretanje apoptoze | 20 |
| 6.3. Izotiocijanat kao antibakterijsko sredstvo | 21 |
| 6.4. Izotiocijanat kao kancerogen i oksidans | 21 |
| 7. TRADICIONALNA UPOTREBA HRENA | 22 |
| 8. ZAKLJUČAK | 24 |

| | |
|---------------------------------------|----|
| 9. POPIS LITERATURE | 25 |
| 10. SAŽETAK | 29 |
| 11. SUMMARY | 30 |
| 12. POPIS TABLICA..... | 31 |
| 13. POPIS SLIKA..... | 32 |
| TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA..... | 33 |
| BASIC DOCUMENTATION CARD..... | 34 |

1. UVOD

Hren se dugi niz godina koristi kao narodna ljekovita biljka i kao biljka velike nutritivne vrijednosti. Danas se uzgaja zbog mesnatog, zadebljanog podanka koji ima intenzivan miris i okus te zbog nježnog lišća koje služi za pripremu salata (Slika 1.). Hren se i danas koristi kao prirodni, narodni lijek. Sadrži veliki broj bioaktivnih spojeva kao što su glukozinolati i njihovi produkti. Sinigrin je najvažniji glukozinolat u korijenu i listovima hrena. Porastom interesa za navedene sekundarne metabolite, povezane s dugom tradicijom upotrebe u konzerviranju hrane i kao začina u mnogim dijelovima svijeta, otkrivaju se nove primjene hrena u agro-industrijskim i farmaceutskim industrijama te se potiče intenzivnije korištenje korijena i listova u hrani i lijekovima (Nguyen i sur., 2013.).



Slika 1. Biljka hrena

Izvor:

<https://www.freepik.com/search?dates=any&format=search&page=1&query=horseradish&sort=popular>

2. KLASIFIKACIJA I MORFOLOGIJA HRENA

2.1. Klasifikacija hrena

Hren (*Armoracia rusticana*) je trajna biljka iz porodice kupusnjača (lat. *Brassicaceae*) (Tablica 1.). Kupusnjače se uzgajaju diljem svijeta, najviše u Europi i Sjevernoj Americi.

Tablica 1. Znanstvena klasifikacija

| Kategorija | Naziv |
|------------|----------------------------|
| Carstvo | Plantae |
| Koljeno | Tracheophyta |
| Razred | Magnoliopsida |
| Red | Brassicales |
| Porodica | Brassicaceae |
| Rod | <i>Armoracia</i> |
| Vrsta | <i>Armoracia rusticana</i> |

Izvor: Agneta i sur. (2013.)

Hren je kupusnjača koja potječe iz jugoistočne Europe, južne Rusije i Ukrajine, odakle se proširuje diljem Europe. Raste na svježim do umjereno vlažnim tlima bogatim dušikom. Povoljan je uzgoj na sunčanim mjestima, od nizina do planinskog pojasa. U Europi se najviše uzgaja u Austriji, Češkoj, Mađarskoj, Poljskoj i Rusiji, te u Americi u dolini rijeke Mississippi (Lešić i sur., 2002.).

2.2. Srodne vrste hrena

Sampliner i Miller (2009.) navode kako su divlje vrste hrena izumrle ili potječu od srodnih vrsta kao što su *Armoracia macrocarpa* i *Armoracia sisymbroides*.

Armoracia macrocarpa potječe iz Istočne Europe, naročito u močvarnom dijelu središnjeg slijeva Dunava, npr. u Mađarskoj, Republici Češkoj, Rumunjskog i Bugarskoj, dok je Sibir zemlja porijekla *Armoracie sisymbroides*.

2.3. Morfologija hrena

Armoracia rusticana, *Cochlearia armoracia* i *Armoracia laphifolia* znanstvena su imena koja se odnose na višegodišnju biljku hrena. Hren pripada porodici kupusnjača koja se sastoji od 350 rodova s oko 300 vrsta. Biljka može rasti u visinu do 120 cm. Ima gotovo голу stabljiku iz koje proizlaze valoviti rubni listovi prateći okrugli oblik centralne rozete. List hrena dugačak je od 30 do 100 cm te se sastoji od srcolike baze i duge peteljke. Donji i vršni se listovi oblikom razlikuju. Kraća peteljka, oblik režnja i glatki ili nazubljeni rub karakteristike su donjih listova, dok gornji (vršni) listovi imaju uzak centralni dio, tupi vrh te su duguljastog oblika (Mohlenbrock, 1980.). Hren ima bijeli, četvrtasti cvijet u obliku grozda i glatki, smeđi plod – plod koji sadrži vrlo malo ili niti jedno sjeme (Sampliner i Miller, 2009.). Za razmnožavanje se koristi isključivo korijenje (Slika 2.). Korijen je hrena bijele boje, cilindričnog ili šiljastog oblika. Može doseći dubinu od 60 cm na rastresitim tlima te se sastojati od više bočnog korijenja (Shehata i Mulwa, 2009.). Poznate su tri vrste hrena koje se uzgajaju – „uobičajeni“ (poznat i kao „maliner hren“), „boemski“ i „veliki zapadni vrh“ – koji se uglavnom svrstavaju ovisno o kutu i obliku baze lista i kvaliteti korijena (Bratsch, 2009.). Široko, zgužvano lišće srcolike (kut između peteljke i baze lista je manji od 60°) baze i razvijeno korijenje karakteristike su „uobičajenog“ hrena. Za „boemski“ je hren karakteristično lišće srednje veličine okruglog ili srcolikog oblika (69-90°) baze lista te glatko, dobro razvijeno korijenje. „Veliki zapadni vrh“ predstavlja hren s glatkim, velikim, uspravnim listovima s konusnom bazom i čvrstim, razvijenim korijenjem (Bratsch, 2009.).



Slika 2. Zadebljani podanak hrena

Izvor:

<https://www.freepik.com/search?dates=any&format=search&page=1&query=horseradish&sort=popular>

3. NUTRITIVNA VRIJEDNOST HRENA

3.1. Nutritivna i zdravstvena vrijednost

Hren se zbog svojega specifičnoga okusa koristi u prehrani kao začin. Oštar okus daje mu gorušičino ulje (128 mg/100 g), koje ima i antibiotsko djelovanje. Uz to, hren sadrži i glikozide, glukonastrucin, sinigrin, asparagin, glutamin, oksidaze i peroksidaze. Iako se koristi u maloj količini, sadrži mnogo hranjivih sastojaka (Tablica 2.) (Lešić i sur., 2002.).

Tablica 2. Hranjivi sastojci hrena

| | |
|---------------------|-----------|
| Voda | 71,8-76,6 |
| Sirove bjelančevine | 1,6-3,73 |
| Sirove masti | 0,3-0,35 |
| Ugljikohidrati | 15,3-15,9 |
| Vlakna | 2,78-2,80 |
| Minerali | 2,2 |

Izvor: Lešić i sur. (2002.)

Hren je važna sirovina za izdvajanje peroksidaze, koja ima višestruku upotrebu. U svijetu se 1991. godine proizvodilo 30 milijardi kilojedinica hrenove peroksidaze u deset tvornica, najviše u Americi. Očekuje se da će se do 2010. godine proizvodnja udvostručiti. Oko 82 % navedene peroksidaze koristi se za reagense za određivanje šećera i kolesterola u krvi. Hrenova peroksidaza koristi se i u biotehnologiji, citokemiji, pripremi DNA proba i slično. U industriji se pak koristi za bioizbjeljivanje, pripremu drvene pulpe za gorivo i uklanjanje kancerogenih sastojaka iz industrijskih otpadnih voda (Lešić i sur., 2002.).

Tablica 3. Minerali i vitamini u biljci hrena

| | |
|------------|-------------|
| Natrij | 1-32 |
| Kalij | 420-686 |
| Magnezij | 29-37 |
| Kalcij | 92-140 |
| Fosfor | 56,7-70,7 |
| Željezo | 1,4 |
| Karoten | 0,013-0,028 |
| Vitamin B1 | 0,025-0,21 |
| Vitamin B2 | 0,78-0,15 |
| Vitamin B3 | 0,40-0,70 |
| Vitamin B6 | 0,13-0,27 |
| Vitamin C | 76-260 |

Izvor: Lešić i sur. (2002.)

Hren ima višestruko zdravstveno djelovanje zbog velike količine vitamina C te zbog antibiotskih svojstava (Tablica 3.) (Lešić i sur., 2002.).

4. SUVREMENA PROIZDOVNJA HRENA

Sadnja se hrena obavlja u proljeće ili jesen, reznicama na ravnu površinu, u gredice ili grebene. Sadnja se obavlja u vertikalnom, horizontalnom ili kosom položaju. Vertikalna se sadnja obavlja reznicama dugim oko 15 cm pomoću strojeva. Horizontalna sadnja podrazumijeva polijeganje reznica u otvorene brazde na dubinu 2-6 cm, ovisno o tipu tla. Reznice se pri horizontalnoj sadnji postavljaju na razmak 60-80 cm x 30-50 cm. Kod kose sadnje reznice ručno ili strojno polažemo u otvorene brazde tako da je vrh ukopan 10 cm ispod površine tla (Lešić i sur., 2002.).

4.1. Agroekološki uvjeti uzgoja

Duboka, vlažna ilovasta tla s dobrim drenažnim sustavom i umjerenom klimom najpovoljnija su za uzgoj jednogodišnjeg i višegodišnjeg hrena. Kod komercijalne se proizvodnje najčešće uzgaja jednogodišnji hren čiju sadnju započinjemo u rano proljeće zbog potrebe hrena za visokim ljetnim temperaturama (15-27 °C) i nižim temperaturama pred kraj ljeta i u jesen (11-22 °C) kako bi se korijen što bolje razvio. Najčešće se sav korijen vadi. U slučaju višegodišnjeg uzgoja, podzemni se izdanci koji su izrasli iz glavnog korijena vade, dok se glavni korijen ostavlja u tlu radi obnove (Bratsch, 2009.). Zemlje koje su najveći uzgajali hrena su Sjedinjene Američke Države i Mađarska. Hren potječe iz istočnoeuropskih zemalja kao što su Rumunjska i Ukrajina, danas se uzgaja diljem Europe na farmama i u vrtovima, a možemo ga pronaći i na jarcima uz cestu (Sampliner, 2009.). Sampliner i Miller navode kako su divlje vrste izumrle ili potječu od srodnih vrsta kao što su *Armoracia macrocarpa* i *Armoracia sisymbroides* (Sampliner, 2009.). Mogućnost hrena da se širi rizomima, što je način regeneracije hrenova korijena u višegodišnjoj proizvodnji, može značiti da je problematična trava, iako postoji mogućnost da će se divlja populacija hrena tek pronaći.

4.2. Agrotehničke mjere uzgoja

4.2.1. Plodored i gnojidba tla

Uzgoj hrena na istoj površini moguć je nakon 3-4 godine. Na mineralnim tlima siromašnim humusom sadi se nakon jesenske gnojidbe organskim gnojivima. Nakon

jednogodišnjeg uzgoja hrena preporuča se uzgoj okopavina, čijom se međurednom obradom unište biljke hrena (Lešić i sur., 2002.).

Pri prinosu od 10 t/ha iznose se hraniva u sljedećoj količini: 217 kg N, 66 kg P₂O₅, 345 kg K₂O, 546 kg CaO i 102 kg S po hektaru. Od toga je u lisnoj masi na polju ostalo: 61 kg N, 16 kg P₂O₅, 161 kg K₂O, 486 kg CaO i 54 kg S po hektaru. Iz pokusa s različitim količinama dušika, od 20 do 400 kg/ha i 2, 3 i 4 bilj./m² autori izvode preporuke za gnojidbu stajskim gnojem u količini 30-50 t/ha, što se tijekom vegetacije hrena može računati s izdvajanjem dušika 100-150 kg/ha. Na tlima srednje opskrbljenim fosforom koristimo 15-25 mg/100 g tla P₂O₅, dovoljno je dodati količinu koja se očekuje iznošenjem prinosom hrena. Na tlima srednje opskrbljenim kalijem 15-30 mg K₂O/100 g tla preporučuje se 140-170 kg K₂O/ha i 80-120 kg N/ha u mineralnom obliku. Pretpostavlja se da će na neutralnim tlima biti dovoljno kalcija i sumpora u tlu, a na slabo kiselim tlima biti će potrebno dodavanje određene količine kalcija. Vidljivo je da se kalcij najvećim dijelom akumulira u lišću (Lešić i sur., 2002.).

4.2.2. Obrada tla

Potrebno je obaviti zaoravanje organskog gnojiva u jesen, nakon čega slijedi zimsko oranje na 30 cm dubine. U proljeće se tlo površinski obradi i izravna. Neposredno prije sadnje otvaraju se brazde od oko 15 cm dubine s razmakom 60-80 cm. Predsjetvenom pripremom u proljeće tanjuranjem i frezanjem u tlo je potrebno unijeti 150 kg/ha uree. Plitkom međurednom obradom poboljšava se vodozračni režim te se uništavaju korovi sve dok lisna rozeta ne zatvori redove. Uz međurednu se kultivaciju prema potrebi obavlja i prihrana dušičnim gnojivom. Ukoliko se u ljetnom razdoblju pojavi duži period suše, potrebno je obaviti 2-3 navodnjavanja kišenjem (Lešić i sur., 2002.).

4.3. Sadnja i uzgoj hrena

4.3.1. Izbor kultivara

Budući da se hren razmnožava vegetativno, najčešće se uzgajaju ekotipovi dobiveni klonskom selekcijom. U istraživačkim se radovima spominju ekotipovi s imenom područja iz kojega potječu. Tako su Moshab i sur. (1999.) godine ispitivali 30 ekotipova iz različitih područja SAD-a, Kanade, Češke, Mađarske, Poljske, Rusije, Hrvatske, Srbije i BiH s naglaskom na aktivnost peroksidaze i koncentracije proteina. Po

aktivnosti peroksidaze vodećih je osam država upravo iz Europe, a prosječna im je aktivnost bila 13,50 $\mu\text{mol min g}$ svježe tvari te je bila 2,52 puta veća od devet ekotipova sa slabijom aktivnošću. Stoga zaključujemo da je vrlo važna selekcija na navedeno svojstvo za industrijsku preradu. Kod nas se selekcija hrena još uvijek ne prakticira, niti su poznati autohtoni ekotipovi domaćeg hrena (Lešić i sur., 2002.).

4.3.2. Priprema reznica hrena

Reznice se za sadnju uglavnom uzimaju od bujnih i zdravih biljaka s dobro razvijenim glavnim podankom. Kada biljka kasno u jesen uđe u fazu mirovanja, izabiru se biljke za reprodukciju te se s donjeg dijela njihova podanka režu sekundarni izboji. Najprikladnije su ravne i glatke reznice od 1,5 do 2 cm promjera te 20 do 25 cm dužine, a prihvatljive su i one debljine od 0,8 cm. Od jedne se biljke dobiju dvije do tri reznice koje se na gornjem dijelu režu ravno, a na donjem koso kako bi se izbjegle pogreške pri sadnji. Nakon toga se sortiraju po veličini i slažu u snopove, nakon čega ih se stavlja u zemlju ili pijesak kako bi izbjegle smrzavanje. Navedeni način pripreme reznica primjenjuju proizvođači koji redovno uzgajaju hren za preradu ili za tržište (Lešić i sur., 2002.).

4.3.3. Priprema tla za sadnju

Za sadnju hrena najpovoljnije je zimsko oranje na dubini od 30cm koje obavljamo nakon zaoravanja organskog gnojiva. Nakon što se u proljeće zemlja osuši, površinski se obrađuje i ravna. Neposredno do sadnje otvaraju se plitke brazde dubine oko 15 cm s razmakom od 60 do 80 cm (Lešić i sur., 2002.).

4.3.4. Vrijeme i način sadnje

Hren se u kontinentalnom području sadi od kraja ožujka do sredine travnja, no moguća je sadnja i u jesen, pri čemu se mora obratiti pozornost na dobro ukorjenjivanje reznica kako bi dobro prezimile kritičan period. Navedenim se načinom produžuje razdoblje vegetativnoga rasta i nakupljanja asimilata čime dobivamo veće prinose. No, pri jesenskoj sadnji određeni broj biljaka može već u proljeće potjerati cvjetnu stabljiku koja iscrpljuje hraniva iz podanka, pa ju je poželjno što ranije ukloniti. Prije sadnje

reznice se ponovno sortiraju te se oštećene i bolesne izdvajaju. Duž cijele reznice odstranjuju se spavajući pupovi, osim donjih na dužini od 2 do 3 cm i gornjih na dužini od 1 do 1,5 cm. Poželjno je da se iz gornjeg dijela razvije samo jedna rozeta lišća, a iz donjega 2 do 3 izboja s apsorpcijskim korijenjem. Kako bi se sama rezidba spavajućih pupova pojednostavila, preporuča se prekrivanje reznica vlažnim pijeskom dva tjedna prije sadnje i stavljanje istih u prostoriju s temperaturom od oko 15 °C, čime dobivamo ravne i glatke podanke. Prilikom sadnje hrena parcela se dijeli na nekoliko dijelova s jednakim brojem redova te se otvaraju plitke brazde s razmakom od 60 do 80 cm. Reznice se polažu koso u smjeru redova tako da pri zagrtanju gornji dio bude prekriven sa 3 do 4 cm tla. Nagib je sadnje u svakom dijelu suprotan od susjednog, što olakšava međurednu obradu. Razmak reznica u redu ovisi o dužini i debljini reznica (30 do 50 cm). U otvorene se brazde najčešće sadnja obavlja ručno, dok se donji dio reznice nogom lagano potiskuje u tlo. Reznice se naposljetku zatvore odgovarajućim ratilom (Lešić i sur., 2002.).

4.3.5. Njega nasada i zaštita od korova

Za razvoj je podanka neophodna dobra površinska struktura tla. Plitkom se međurednom obradom održava vodo-zračni režim i uništava korov sve dok rozeta lišća ne zatvori redove. Uz međurednu se obradu po potrebi primjenjuje i dušična gnojidba. U ljetnim mjesecima, kada nastupi duže sušno razdoblje, potrebno je obaviti navodnjavanje kišenjem 2 do tri puta po 25 do 30 mm. Hren najčešće napada bijela hrđa (*Albugo candida*) i pjegavost lišća (*Cercospora armoracia*). Biljke koje su prilikom same pojave lišća već zaražene bijelom hrđom treba što prije iskopati i uništiti. Obje se bolesti mogu suzbiti sredstvima na bazi bakra. Od štetnika se najčešće pojavljuju hrenova zlatica i buhači (Lešić i sur., 2002.).

4.4. Berba i skladištenje hrena

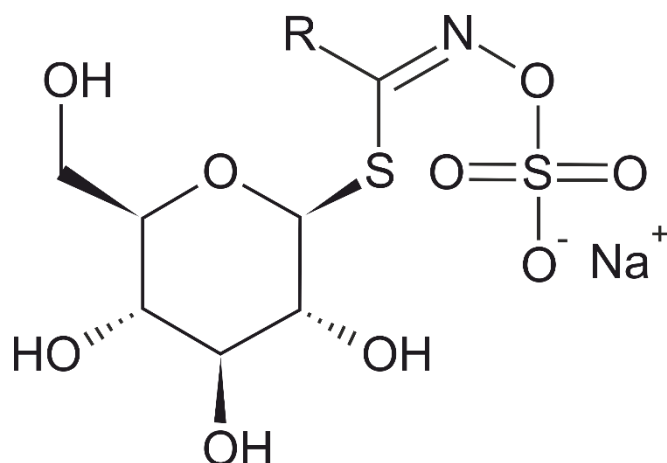
U jednogodišnjem se uzgoju biljka hrena vadi u jesen, kada lišće požuti i biljka je u stadiju mirovanja. Vađenje je u povoljnim uvjetima moguće i u proljeće i zimu. Ukoliko podanci zbog nepovoljnih uvjeta nisu postigli dostatne veličine, usjev se na tlu ostavlja još jednu godinu. Iskapanje se obavlja raznim prilagođenim iskapačima koji se postavljaju dovoljno duboko da bi mogli izvaditi biljku u cijelosti. Ukoliko u tlu

zaostanu manji dijelovi podanka, isti sljedeće godine mogu predstavljati težak korov. Iskapanje hrena provodi se suprotno od nagiba podanka u vrijeme sadnje. Izvađeni hren pokupi se i odvozi na sabirno mjesto, gdje se sortira i doručuje prema potrebi. Prinos tržnog hrena kreće se od 7 do 10 t/ha. Za preradu se koriste tanji izboji čime se ostvaruje veći ukupni prinos. Sekundarni su izboji bolji za preradu jer sadrže manje vlakana i daju svjetliju boju gotovog proizvoda. Nakon vađenja hren se sortira i prema potrebi doručuje. Podanci se čiste od zemlje, dok se listovi, sekundarni izdanci, sitni korjenčići i pupovi režu. Pakiranje se obavlja u letvarice, PE vreće, kutije ili u vakumirano pakiranje. Nedoručeni se hren skladišti u podrumima i trapovima uz dobru zaštitu od smrzavanja, dok se doručeni može skladištiti do 6 mjeseci na 0-1 °C pri relativnoj vlazi zraka od 95 °C (Lešić i sur., 2002.).

5. KEMIJSKI SASTAV I LJEKOVITA SVOJSTVA HRENA

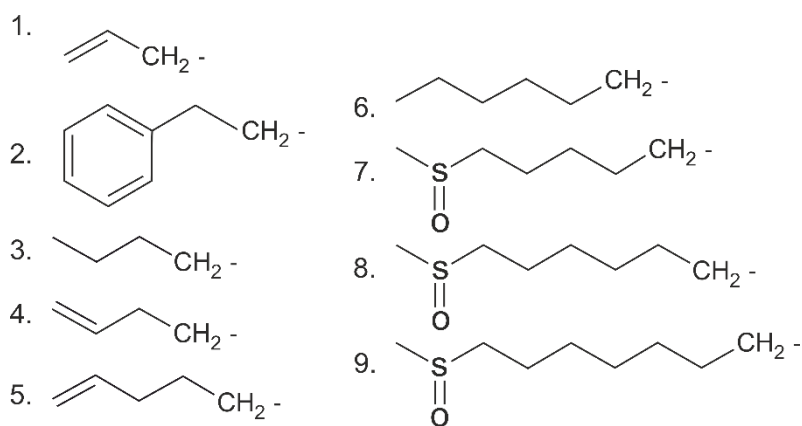
5.1. Glukozinolati

Armoracia rusticana bogata je glukozinolatima, sekundarnim produktima koji imaju važnu ulogu u obrambenom sustavu biljke. Struktura glukozinolata sastoji se od β -tioglukozid N-hidroksisulfata s bočnim lancem (R) i polovine β -D-glukopiranoze (Slika 3.). Na temelju strukture, naročito izmjenom ili vrstom bočnog lanca, glukozinolati mogu biti raspoređeni u razne grupe, a najčešći su alifatski, ω -metiltoalkil, aromatski i heterociklički glukozinolati (Slika 4.). Glukozinolati su pronađeni i u mnogim drugim biljkama iz porodice *Brassicaceae* kao i kod porodice *Moringaceae*, *Rasaceae* i *Tropaeolaceae*, no ne postoje informacije o njihovoj točnoj količini (Fahey i Zalcmann, 2000.).



Slika 3. Struktura glukozinolata

Izvor: Nguyen i sur. (2013.)



Slika 4. Struktura izotiocijanata – glavnih nusprodukata razgradnje glukozinolata

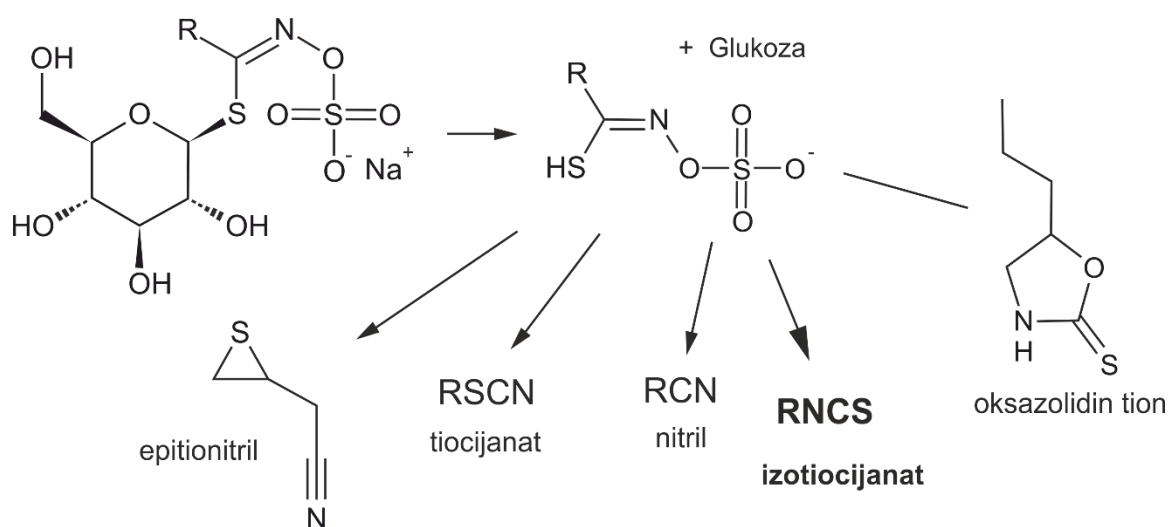
Izvor: Nguyen i sur. (2013.)

Pretpostavlja se da biljka sintetizira glukozinolate u tri koraka: produženje bočnog lanca; biosinteza glukona - jezgra glukozinolata te izmjena bočnog lanca, koja omogućuje izmjenu glukozinolata. U biosintezi se glukona brojne aminokiseline proteina kao što su alanin, metionin, valin, leucin i izoleucin pretvaraju u alifatske glukozinolate dok su fenilalanin i tirozin izvor aromatskih glukozinolata, a triptofan za indolne glukozinolate. Produženje lanca aminokiselina dovodi do pretvorbe u aldoksim, koji je kataliziran sa citokrom P450 enzimima. Aldoksim se tada pretvara u tihidroksamske kiseline, uz uvođenje tioglukoziida sumpora iz cisteina, te dolazi do prijenosa S-glikozila iz uridin difosfat glukoze kako bi se stvorili desulfo glukozinolati. Na kraju, glukozinolati su sintetizirani nakon sulfacije desulfo-glukozinolata univerzalnim visokoenergetskim donatorom sulfata, 3'-fosfoadenozin-5'-fosfosulfat desulfo pomoću desulfoglukozinolat sulfotransferaze (Kjaer i Olesen Larsen, 1973.), (Mithen i sur., 2000.), (Du i Halkier, 1998.), (Halkier i Du, 1997.).

Glukozinolat je organski anion koji je stabilan i topiv u vodi. Nestabilan je na temperaturi iznad 100 °C. Indolni su glukozinolati pri temperaturi ispod 110 °C nestabilniji od alifatskih glukozinolata (Oerlemans i sur., 2006.). Količina i kvaliteta glukozinolata u biljci uvelike ovise o starosti biljke i uvjetima okoliša kao što su plodnost tla, napad patogena i slično (Bjorkman i sur., 2011.). U hrenu je pronađeno osam različitih glukozinolata, (Shehata i sur., 2009.), gdje se sinigrin (2-propenil) i glukonasturtin nalaze u većim koncentracijama u usporedbi s ostalima. Sinigrin je glavni glukozinolat koji se u hrenu nalazi u koncentraciji od oko 74 % od ukupne

količine svih glukozinolata (Li, 2005.). Kao što je prethodno spomenuto, glukozinolati kao što je sinigrin od velike su važnosti za obrambeni mehanizam biljke. Aktivne supstance su izotiocijanati koji se formiraju hidrolizom glukozinolata.

Do razgradnje glukozinolata dolazi pri oštećenju biljke. Navedena reakcija zahtjeva prisustvo enzima mirozinaze, koji je u normalnim uvjetima odvojen kako bi izbjegao kontakt s glukozinolatom. Kada dođe do hidrolize, mirozinaza se oslobađa i u dodiru s glukozinolatom stvara nestabilan aglukon tihidroksimat O-sulfonat, koji tada stvara različite produkte ovisno o uvjetima reakcije i sudjelovanju ostalih faktora (Slika 5.). Na primjer, pri temperaturi 37-45 °C i pH reakciji 7 te pod utjecajem mirozinaze, produkti raspadanja glukozinolata su uglavnom izotiocijanati. Nitril i epitionitril su završni proizvodi ukoliko je pH 3 i 6, uz prisustvo Fe⁺ iona. Faktor koji tiocijanat daje u reakciji rezultira stvaranjem tiocijanata (Zhang, 2010.). Izotiocijanati, tiocijanati, nitril i epitionitril su mogući produkti raspadanja glukozinolata (Li, 2005.), od kojih se izotiocijanati promatra u istraživanjima jer postoji mogućnost da djeluje kao antikancerogeno sredstvo (Vig i sur., 2009.).



Slika 5. Glavni putevi razgradnje glukozinolata

Izvor: Nguyen i sur. (2013.)

Tablica 4. Hlapljivi organski spojevi pronađeni u svježem korijenu hrena i rezu korijena čuvanih na 5°C tijekom 12h

| Spoj | Sobna temp. (min) | Svježi (ppm) | 5°C nakon 12h (ppm) |
|-----------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------------|
| Tiobis metan | 1.76 | 0.8 ±0.2 | 1.4±0.1 |
| Ugljikov disulfid | 1.81. | 0.8±0.2 | - |
| 3-butenitril | 2.38 | 7.8±0.1 | - |
| 3-metilbutanal | 2.73 | 0.4±0.2 | 0.6±0.1 |
| 2-etilfuran | 2.78 | 1.2±0.1 | 5.8±0.3 |
| 3-metil-1-butanol | 3.16 | - | 1.4±0.1 |
| Toluen | 3.69 | - | 0.8±0.1 |
| Heksanal | 4.32 | 4.5±0.1 | 3±0.3 |
| E-2-heksanal | 5.42 | 1.6±0.1 | 3±0.2 |
| Heptanal | 6.45 | - | 0.3±0.1 |
| Alil izotiocijanat | 6.64 | 3,300±2.0 | 175±2.0 |
| Benzaldehid | 7.78 | - | 0.5±0.1 |
| Izobutil izocijanat | 7.85 | 15±0.3 | - |
| 4-izotiocijanat-1-buten | 8.45 | 63±1.0 | - |
| 2-pentilfuran | 8.45 | - | 3±0.3 |
| Butil izotiocijanat | 8.74 | 13±0.3 | - |
| 2-etil-1-heksanol | 9.24 | - | 1.8±0.2 |
| Bromfenilacetaldehid | 9.60 | - | 0.3±0.1 |
| 3-metilbutil izotiocijanat | 9.98 | 8.6±0.2 | - |
| Pentil izotiocijanat | 10.78 | 3.7±0.2 | - |
| Nonanal | 10.85 | 1.6±0.2 | 1.4±0.2 |
| 4-etilbenzaldehid | 12.01 | - | 0.4±0.1 |
| 4-metilpentil izotiocijanat | 12.02 | 0.4±0.1 | - |
| L-(-)-mentol | 12.20 | - | 0.2±0.1 |
| Naftalin | 12.43 | - | 0.2±0.1 |
| Dekanal | 12.76 | - | 0.5±0.1 |
| Trans,trans-nona-2,4-dienal | 12.95 | - | 0.2±0.1 |
| Benzenopropanitril | 13.49 | 0.8±0.1 | 0.2±0.1 |
| Benzil izotiocijanat | 15.67 | 14±0.2 | 8.8±2.0 |
| Junipen | 16.43 | - | 0.2±0.1 |
| Italicene | 17.24 | - | 0.8±0.1 |
| 2-feniletil izotiocijanat | 17.44 | 400±1.0 | 432±3.0 |

Izvor: Grdo, 1980.

Međutim, treba napomenuti da se tijekom hidrolize i daljnjeg raspadanja podanka hrena tijekom dužeg vremena mogu povećati koncentracije ostalih te štetnih organskih spojeva pa je skladištenje hrena i njegova daljnja prerada vrlo važna za optimalno očuvanje svih pozitivnih svojstava. Npr. prilikom čuvanja hrena na 5°C tijekom 12h, pronađen je veliki broj hlapljivih organskih spojeva u korijenu istoga (Tablica 4.).

5.2. Mirozinaza

U porodici *Brassicaceae*, mirozinaza se općenito klasificira na temelju mjesta na kojemu se nalazi u biljci. Postoje tri podgrupe ovog enzima, mirozinaza A, mirozinaza B i mirozinaza C (MA, MB i MC). MA i MC su mirozinaze koje se mogu pronaći samo u tkivu sjemena, dok se MB pronalaze u svim biljnim tkivima (Li, 2005.). S obzirom na to, mirozinaza hrena trebala bi pripadati u MB podgrupu, no klasifikacija nije toliko jednostavna jer je mirozinaza hrena topljiva u vodi, dok MB mirozinaza nije. Tako dolazimo do hipoteze da mirozinaza hrena pripada u podgrupu mirozinaza koja još uvijek nije definirana (Li, 2005.).

Mirozinaza nije supstrat specifična. Mirozinaza hrena ne samo da katalizira hidrolizu glukozinolata pronađenih u hrenu, kao što je sinigrin, već katalizira hidrolizu glukozinolata pronađenih u drugim vrsta, s količinom ovisno o supstratu. Ovakvu nespecifičnost možemo uočiti u pročišćenoj mirozinazi hrena koja hidrolizira glukozinolate pronađene u brokuli (Li, 2005.).

Optimalni su uvjeti za aktivnost mirozinaze hrena kada se temperatura reakcije spusti na 37-45 °C, a pri pH 5-8. Aktivnost mirozinaze hrena se povećava na 23 °C, ostaje pri visokoj aktivnosti (više od 80 % od maksimuma) na 37 °C te je maksimalno aktivna pri 45 °C. Smanjuje se pri temperaturi većoj od 50 °C, a neaktivna je pri temperaturama iznad 70 °C. Kod pH reakcije 3-4 uočena je povećana aktivnost mirozinaze, do maksimuma dolazi pri pH 5.7 i zadržava visoku aktivnost (više od 80 % od maksimuma) pri pH 5-8 (Bones i Rossiter, 2006.). Utrvrđeno je i da 0.5 mM askorbinske kiseline može uvelike potaknuti proces mirozinaze hrena. Vjeruje se da do navedenoga dolazi prilikom promjene ustrojstva u enzimima, što dovodi do povećanja afiniteta supstrata mirozinaze hrena i brzine reakcije (Bones i Rossiter, 2006.). Smanjenje endogene askorbinske kiseline također dovodi do smanjenja aktivnosti mirozinaze hrena (Depree i sur., 1999.).

U drugom je istraživanju mirozinaze odvojene od hrena u Kini utvrđeno da su najbolji uvjeti za aktivnost mirozinaze pri temperaturi od 65 °C i pri pH 4.0, s dodatkom askorbinske kiseline (2 mg/g korijena u prahu) i inkubacije u trajanju od 120 min (Jiang i sur., 1995.). Nedostatak sličnosti između dva prethodno navedena istraživanja je vjerojatno posljedica razlike u geografskoj regiji uzgoja hrena. No, utvrđena je sličnost u temperaturi, pH reakciji te količini askorbinske kiseline koji imaju glavni utjecaj na aktivnost enzima.

5.3. Izotiocijanati

Najčešći produkt dobiven hidrolizom glukozinolata je izotiocijanat kojega čini –NCS grupa i –R bočni lanac. Zbog –NCS grupe, naročito ugljikova atoma, izotiocijanati imaju elektrofilna svojstva. Oni preferiraju reagirati s nukleofilnim molekulama, koje su prisutne u obliku peptida i aminokiselina što dovodi do mogućih farmakoloških učinaka. Elektrofilnost je prisutna zbog –R bočnog lanca u molekuli što može izazvati steričku prepreku na elektrofilnom C atomu. Nadalje, bočni lanac utječe i na lipofilnost molekule (Zhang, 2004.).

Izotiocijanat je stabilniji u kiselim, nego u alkalnim ili neutralnim uvjetima zbog reakcije s OH- ionom iz vode (Ohta i sur., 1995.). Organska otapala kao što su heksan, aceton i etil acetat su pogodnija za pohranu od vodenih otopina, gdje raspad izotiocijanata uvjetuje temperatura. Brzina je raspadanja veća pri 37 °C (Jiang i sur., 2006.), dok brzina pada ili reakcija prestaje prilikom pada temperature na -5 °C. Mogućnost reagiranja s etanolom čini izotiocijanat nestabilnim u alkoholnim otopinama. Dodajući limunsku kiselinu, estere šećera ili ulje iz povrća moguće je stabilizirati otopinu izotiocijanata (Ina i sur., 1981.).

5.4. Ostali sastojci

Uz mirozinazu, hren sadrži još jedan enzim za kojim se povećao interes, a to je hrenova peroksidaza. Peroksidaza se koristi prilikom kontrole tj. za testove kontrole glukoze i kolesterola u krvi. (Hamid i Rehman, 2009.). Koristi se i prilikom procjene razine ostalih enzima (Akhavan-Tafti i sur., 1994.) te u pročišćavanju DNA probi (Cercek i Roby, 1995.). Bisfenol A je molekula donor vodika te je poznata kao endokrini disruptor, oponašajući aktivnost estrogena što dovodi do negativnih posljedica na zdravstveno stanje. Utvrđeno je kako se aktivnost bisfenola A može smanjiti enzimatskom oksidacijom bisfenola A hrenovom peroksidazom (Sakuyama i sur., 2003). Stabilizacija hrenove peroksidaze postiže se pomoću metalnih iona, proteina, šećera i polimera, modifikacijom proteina ili vezanjem na nositelje polimera (Sakuyama i sur., 2003). Aktivnost hrenove peroksidaze promatrana je u različitim biljnim tkivima i u ovisnosti od drugih tvari. U glavnom je korijenu uočena aktivnost od oko 49 %, u postranom korijenu oko 37 % i 14 % u lisnoj peteljci (Slika 6.). Aktivnost hrenove peroksidaze nije zamijećena na listu (Kushad i sur., 1999.). Povećanje enzimatske

aktivnosti uočeno je uz prisustvo drugih tvari kao što je kanamicin (Cornea i sur., 2006.).

U hrenu su pronađeni i kumarini, fenolne kiseline, askorbinske kiseline, asparagin, smola i mnoge druge tvari (Shehata i sur., 2009.). Glavne tvari u 100 g hrena su: 33,3 g dijetalna vlakna, 11,29 g ugljikohidrata, 56 mg kalcija, 314 mg natrija, 246 mg kalija, 27 mg magnezija, 31 mg fosfora i 24,9 mg vitamina C.



Slika 6. Koriijen i lisna peteljka hrena

Izvor: <https://www.freepik.com/>

6. FARMAKOLOŠKA ISPITIVANJA IZOTIOCIJANATA U HRENU

6.1. Usvajanje i metabolizam izotiocijanata

Odmah nakon usvajanja, izotiocijanat se širi u stanice gdje se spaja s unutarstaničnim tiolom (glutation), javlja se u –NCS grupi molekule. Spajanje s glukozinolatom, koje se može poboljšati glutacion S-transferazom (GST), doprinosi difuziji tj. povećanju koncentracije izotiocijanata u stanici. Farmakološki efekt izotiocijanata uvelike ovisi o njegovoj unutarstaničnoj koncentraciji (Bruggeman i sur., 1986.).

Kroz kisele puteve merkaptana, spojeni dijelovi izotiocijanata prolaze kroz enzimatsku izmjenu te potiču rast izotiocijanatnih metabolita kao što su N-acetilcistein, cistein, cisteinilglicin te drugih spojeva, koji se izlučuju iz tijela putem mokraćne (Conoway i sur., 2001.) te je kod miševa i štakora utvrđeno da se 80 % od primijenjene oralne doze (2.48 mg/kg tjelesne težine) alil izotiocijanata nađe u mokraći. Utvrđeno je da je koncentracija alil izotiocijanata 14-79 puta veća u tkivu mokraćnog mjehura od koncentracije u ostalim tkivima te da je deset puta veća u urinu od koncentracije istog u krvi (Bollard i sur., 1997.). Velika koncentracija u mokraćnom mjehuru uzrokovana je pohrani izotiocijanatnih metabolita za izlučivanje. Također, nestabilni metaboliti mogu disociirati te se transformirati u početnu molekulu izotiocijanata (Bruggeman i sur. 1986.), (Zhang i sur., 2003.). U drugom su istraživanju oralnu dozu 49-50 µm alil izotiocijanata dobrovoljno primili ljudi, gdje je najmanje 42-54 % doze utvrđeno u urinu nakon 10-12h, ukazujući na brz metabolizam izotiocijanata u tijelu (Shapiro i sur., 1998.), (Jiao i sur., 1994.).

6.2. Izotiocijanat kao antikancerogeno sredstvo

Izotiocijanat bi mogao postati važno antikancerogeno sredstvo jer, osim što sprječava razvoj novih, uništava postojeće kancerogene stanice (Zhang, 2004.). I dalje je nepoznat mehanizam rada izotiocijanata, iako su postavljene brojne pretpostavke na temelju promatranja životinjskih i ljudskih stanica. Ne postoje klinička istraživanja o izotiocijanatu, kao niti o njegovome prethodniku glukozinolatu (Valgimigli i Iori, 2009.).

6.2.1. Inhibicija enzima koji aktiviraju i poticanje enzima koji deaktiviraju kancerogene tvari

Stanični enzimi koji pripadaju citokom P450 skupini enzima su poznati kao enzimi koji aktiviraju kancerogene tvari zbog mogućnosti pretvorbe prokarcinogena u karcinogen, odnosno aktivnog oblika koji može biti štetan za stanicu. Izotiocijanat sprječava ili umanjuje djelovanje tih enzima. U istraživanju gdje su životinje tretirane nitrozoaminom, uočeno je da izotiocijanat, a naročito arilalkil izotiocijanat sprječava citokrom enzime koji su neophodni za aktivaciju nitrozoamina (Hecht, 2002.).

Enzimi faze II kao što su kinon reduktaza 1, glutation-S-transferaza i hem oksigenaza imaju važnu ulogu u obrambenom sustavu stanice protiv oksidanata i karcinogena, te su poznati kao karcinogen-detoksikacijski enzimi. Poticanje transkripcije gena ovih enzima se smatralo jednim od antikancerogenih strategija pomoću izotiocijanata. Modulacija enzima faze II posljedica je međudjelovanja izotiocijanata i kompleksa koji se sastoji od nuklearnog transkripcijskog faktora i proteina vezanih za citoskelet aktina. Vezivanje izotiocijanata za kompleks uključuje reakciju izotiocijanata i ostatka proteina sulfhidrila citoskelet aktina, što dovodi do razdvajanja kompleksa na citoskelet aktin i nuklearni transkripcijski faktor. Utvrđeno je da je koncentracija nuklearnog transkripcijskog faktora značajno povećana kod tretiranja HepG2 stanica s 25 μ m alil izotiocijanata (Jeong i sur., 2005.). Slobodni se nuklearni transkripcijski faktor translocira u jezgru gdje zajedno s ostalim transkripcijskim faktorima djeluje s antioksidacijskim elementom što rezultira aktivacijom transkripcije gena za karcinogen-detoksikacijske enzime (Dinkova-Kostova i sur., 2002.).

6.2.2. Pokretanje apoptoze

Apoptoza koja se očituje kod Hela stanica raka grlića maternice tretirane s 10 mikromola 2-fenil-letil-izotiocijanatom ili alil izotiocijanatom (u istoj ili većoj koncentraciji) (Yu i sur., 1998.), otvorila je pitanje o sposobnosti izazivanja apoptoze i vezu s antikancerogenim djelovanjem izotiocijanata. Apoptoza ili „programirana smrt stanice“ uzrokovana je raspadanjem specifičnih staničnih supstrata, što je uzrokovano aktivnošću aspartat-specifičnom cisteinskom proteazom poznatom kao kaspaza. Glavni signali koji dovode do aktiviranja kaspaze dolaze putem „receptora smrti“, kao što su faktori tumorske nekroze te putem mitohondrija. Utvrđeno je da 10 mikromolarni

izotiocijanat aktivira kaspazu 9 (put mitohondrija), kaspazu 8 (put „receptora smrti“) i kaspazu 12 (put estrogenih receptora) u spajanju s kaspazom 3 kod čovjeka u stanicama leukemije HL60 (Zhang i sur., 2003.). Zabilježena je i apoptoza HeLa stanica raka vrata maternice tretiranih s 10 μm alil izotiocijanata. Ovo nam ukazuje na sposobnost navedenih komponenti koje izazivaju apoptozu i imaju moguće antikancerogeno djelovanje.

6.3. Izotiocijanat kao antibakterijsko sredstvo

Izotiocijanat ima antibakterijski učinak na nekoliko bakterija koji može biti povezan s antikancerogenim učinkom kao što je *Helicobacter pylori*, jednim od uzroka karcinoma želuca. Postoji još nekoliko predloženih mogućnosti antibakterijskog djelovanja izotiocijanata.

Alil izotiocijanat može uzrokovati oksidativni stres, oštećenje DNA i poticanje rasta stanica kod bakterija a potrebno je provesti daljnja istraživanja kako bi se utvrdio mehanizam kojim izotiocijanat djeluje kao antibakterijsko sredstvo.

Osim antibakterijskog, izotiocijanat posjeduje i antiprotozoalne i antifungalne aktivnosti čiji se mehanizmi djelovanja također istražuju (Nielsen i Rios, 2000.).

6.4. Izotiocijanat kao kancerogen i oksidans

Iako se izotiocijanat smatra oksidansom, doze koje uzrokuju navedene efekte su u puno većoj koncentraciji (najmanje 200-400 mikrograma/kg tjelesne težine u istraživanjima na životinjama pokazuju djelovanje izotiocijanata kao oksidansa) (Valgimigli i Iori, 2009.) od normalnih doza za ljude s prosječnom količinom od manje od 1mg/dan u slučaju izotiocijanata (Zhang, 2010.), (Guo i sur., 1992.).

-N=C=S grupa alil izotiocijanata reagira s Cu i hidrogen peroksidom, gdje kao rezultat dobivamo superoksid (Murata i sur., 2000.), koji može oštetiti DNA i tako potaknuti formiranje 8-okso-7,8-dihidro-2-dezoksigvanozina, velikog produkta u oksidaciji DNA (Murata i sur., 2000.), koji se nalazi u stanicama leukemije kod čovjeka tretiranih alil izotiocijaninom.

Kao što je prethodno spomenuto, reakcija spajanja s glukozinolatom događa se tijekom difuzije izotiocijanata u stanicu što smanjuje unutarstanični tiol. Navedene činjenice mogu rezultirati iscrpljivanjem unutarstaničnog tiola što može utjecati na normalno funkcioniranje stanice ili potaknuti apoptozu zdravih stanica (Valgimigli i Iori, 2009.).

7. TRADICIONALNA UPOTREBA HRENA

Upotreba hrena kao hrane ili ljekovite biljke proširila se s istočnih mediteranskih područja prema sjeveru i zapadu. Smatra se da je kao začim postao popularan u staroj Europi gdje je njegov intenzivan okus prikrivao okus pokvarenoga mesa zbog neimanja hladnjaka (Shehata i sur., 2009.). U Bugarskoj, Rumunjskoj i Rusiji cijeli korijen, mljeveni korijen ili komad korijena i dalje se koristi za aromatiziranje te u procesu fermentacije. Listovi se također režu i koriste za zimmicu (Sampliner i Miller, 2009.).

Hren su europski Židovi koristili kao simboličnu hranu u obrednom obroku kao gorku biljku pashu jer je sama gorčina podsjećala na patnju predaka prognanika iz Egipta. Krajem 1600.-ih godina Englezi dodaju hren govedini, a u proljeće se njegovo nježno lišće koristilo pomiješano sa drugim divljim biljkama. Hren se često konzumirao prokuhan. Prvo bi se biljka hrena prokuhala, zatim bi se voda ocijedila te bi uslijedilo drugo prokuhavanje kako bi se uklonile gorke i štetne tvari prije konzumacije (Shehata i sur., 2009.).

Glavni se dijelovi hrena i danas koriste za pripremu tradicionalnih jela u mnogim zemljama širom svijeta. Korijenje i lišće se koristi kao konzervans: korijen se koristi kao začim, s kiselim krastavcima, mljeven uz kuhana jaja, u juhama ili mesnim jelima. Listovi se mogu stavljati ispod kruha prilikom pečenja. Na taj se način sprječava lijepljenje kruha i on dobiva posebnu aromu. Stari su Grci hren koristili kao afrodisijak i za ublažavanje bolova u leđima. Biljka se preporuča svježe mljevena za probavu nakon težeg obroka jer se smatra dobrim diuretikom. Za liječenje plućnih bolesti hren se miješa s toplom lozom ili vodom, dok se za liječenje srčanih bolesti koristi suhi hren pomiješan sa *Alpinia galangom*, kineskom biljkom koja se često koristi kao stimulans i lijek. Postoje tvrdnje da hren ublažava dišne probleme i reumu ublažavajući protok krvi u upalnim zglobovima. Mljeveni je korijen hrena uz med i toplu vodu dobar lijek protiv gripe. Indijanci su hren koristili za liječenje zubobolje, bubrežnih kamenaca, kao probavno sredstvo za poboljšanje probave te respiratorno sredstvo za liječenje astme, kašlja i bronhitisa. Tradicionalna se upotreba hrena u ljekovite svrhe i danas primjenjuje u Bugarskoj, Rumunjskoj i nekim dijelovima Rusije. Naribani se korijen ili lišće stavlja u krpu (ponekad s alkoholom ili octom) i nanosi se na kožu za ublažavanje bolova. Koristi se i kao pasta od korijena koja se nanosi na grlo kako bi se olakšali problemi s disanjem. Mješavina hrena s octom, soli i šećerom i danas se koristi za spuštavanje krvnoga tlaka (Sampliner i Miller, 2009.).



Slika 7. Naribani hren

Izvor:

<https://www.freepik.com/search?dates=any&format=search&page=1&query=horseradish&sort=popular>

8. ZAKLJUČAK

Hren se godinama koristi kao začin i kao prirodni lijek. Ima intenzivan miris i okus te se i danas konzumira u mnogim zemljama. Pročišćuje dišne puteve, ublažava bolove u leđima, regulira probavu i slično. No, osim ljekovitih svojstava poznatih iz davnina, hren ima i antikancerogeni te antibakterijski učinak. Iako su postavljene brojne pretpostavke na temelju promatranja životinjskih i ljudskih ćelija, i dalje je nepoznat mehanizam rada izotiocijanata koji je antikancerogeno sredstvo. Ne postoje klinička istraživanja o izotiocijanatu, kao niti o njegovome prethodniku glukozinolatu, no porastom interesa za hrenom postoji vjerojatnost utvrđivanja pretpostavki o njegovoj važnosti za zdravlje čovjeka.

9. POPIS LITERATURE

1. Agneta R., Möllers C., Rivelli A.R. (2013.): Horseradish (*Armoracia rusticana*), a neglected medical and condiment species with a relevant glucosinolate profile.
2. Akhavan-Tafti H., Schapp A., Arghavani Z., DeSilva R., Eickholt R., Handley R., Schoenfelener B., Sugioka K., Sugioka Y. (1994.): CCD camera imagery for the chemiluminescent detection of enzymes using new ultrasensitive reagents. *J. Biolumines, Chemilumines*, 9: 155-164.
3. Bjorkman M., Klingen I., Birch A.N.E., Bones A.M., Bruce T.J.A., Johansen, T.J., Meadow R., Molmann J., Seljasen R., Smart L.E., Stewart D. (2011.): Phytochemicals of *Brassicaceae* in plant protection and human health – Influences of climate, environment and agronomic practice. *Phytochemistry*, 72: 538-556.
4. Bollard M., Stribbling S., Mitchell S., Caldwell J. (2006.): The disposition of allyl isothiocyanate in the rat and mouse. *Food., Chem., Toxicol.*, 35: 933-943.
5. Bones A.M., Rossiter J.T. (2006.): The enzymatic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry*, 67: 1053-1067.
6. Bratsch A. (2009.): Specialty Crop Profile: Horseradish. Virginia Cooperative, Danville, VA, 438-104.
7. Bruggeman I.M., Temmink J.H., van Bladeren P.J. (1986.): Glutathione- and cysteine-mediated cytotoxicity of allyl and benzyl isothiocyanate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 83: 349-359.
8. Cercek B., Roby K., Siaw M. (1995.): A reagent for both visualization and chemiluminescent detection of horseradish peroxidase-tagged DNA probes. *Anal., Biochem.*, 232: 143-144.
9. Conoway C.C., Krzeminski, J., Amin S., Chung F.L. (2001.): Decomposition rates of isothiocyanate conjugates determine their activity as inhibitors of cytochrome P40 enzymes. *Chem. Res. Toxicol.*, 14: 1170-1176.
10. Cornea C.P., Dragos S., Rosu A., Guidea S., Israel, F. (2006.): Peroxidase production in *Armoracia* species transformed hairy roots. *Roum. Biotechnol. Lett.*, 11: 2619-2625.
11. Depree J.A., Howard T.M., Savage G.P. (1999.): Flavor and pharmaceutical properties of the volatile sulphur compounds of wasabi (*Wasabi japonica*). *Food Res.Int.*, 31: 329-337.

12. Dinkova-Kostova A.T., Holtzclaw W.D., Cole R.N., Itoh K., Wakabayashi N., Katoh Y., Yamamoto M., Talalay P (2002.): Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 99: 11908-11913.
13. Du L.C, Halkier B.A (1998.): Biosynthesis of glucosinolates in the developing silique walls and seeds of *Sinapis alba*. *Phytochemistry*, 48: 1145-1150.
14. Fahey W., Zalcmann A.T., Talalay P. (2000.): The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56: 5-51.
15. Grdo K., Matile (1980): Capillary GC of glucosinolate-derived horseradish constituents, *Phytochemistry*.
16. Guo Z., Smith T.J., Wang E., Sadrieh N., Ma Q., Thomas P.E., Yang C.S. (1992.): Effects of phenethyl isothiocyanate, a carcinogenesis inhibitor, on xenobiotic-metabolizing enzymes and nitrosamine metabolisms in rats. *Carcinogenesis*, 13: 2205-2210.
17. Halkier B.S, Du L.C. (1997.): The biosynthesis of glucosinolates. *Trends Plant Sci.*, 2: 425-431.
18. Hamid M., Rehman, K. (2009.): Potential application of peroxidases. *Food Chem.*, 115: 1177-1186.
19. Hecht S.S. (2000.): Inhibition of carcinogenesis by isothiocyanates. *Drug Metab. Rev.*, 32: 395-411.
20. Ina K., Ina H., Ueda M., Yagi A., Kishima I. (1981.): Studies on volatile components of wasabi and horseradish – stability of allyl isothiocyanate. *J. Japn. Soc. Food Sci. Technol.*, 28: 627-631.
21. Ioannou Y.M., Burka L.T., Matthews H.B (1984.): Allyl isothiocyanate: Comparative disposition in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 75: 173-181.
22. Jeong W.S., Keum Y.S., Chen C., Jain M.R., Shen G., Kim J.H., Li W., Kong A. (2005.): Differential expression and stability of endogenous nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) by natural chemopreventive compounds in HepG2 human hepatoma cells. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 31: 167-176.
23. Jiang Z., Zhang Q., Tian H., Li R. (1995.): The reaction of Allyl Lsothiocyanate in aqueous solution. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59: 102-103.

24. Jiao D., Ho C.T., Foiles P., Chung F.L. (1994.): Identification and quantification of the N-acetylcysteine conjugate of allyl isothiocyanate in human urine after ingestion of mustard. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent.*, 3: 487-492.
25. Kjaer A., Olesen Larsen P. (1973.): *Non-protein Amino Acids, Cyanogenic Glucosides And Glucosinolates*. The Chemical Society: London, 71-105.
26. Kushad M.M., Guidera M., Bratsch A.D. (1999.): Distribution of horseradish peroxidase activity in horseradish plants. *HortScience*, 34: 127-129.
27. Lešić R., Boršić J., Buturac I., Čustić M., Poljak M., Romić D. (2002.): Povrćarstvo
28. Li X., Kushad M.M. (2005.): Purification and characterization of myrosinase from horseradish (*Armoracia rusticana*) roots. *Plant Physiol. Biochem.*, 43: 503-511.
29. Mithen R.F., Decker M., Verkerk R., Rabot S., Johanson T.T. (2000.): The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *J. Sci. Food Agric.*, 80: 967-984.
30. Mohlenbrock R.H. (1980.): *The Illustrated Flora of Illinois-Flowering Plants Willows to Mustards*; Southern Illinois University Press: Carbondale, IL, p 181.
31. Murata M., Yamashita N., Inoue S., Kawanishi S. (2000.): Mechanism of oxidative DNA damage induced by carcinogenic allyl isothiocyanate. *Free Radic. Biol. Med.*, 28: 797-805.
32. Nguyen N. M., Gonda S., Vasas G. (2013.): A Review on the Phytochemical Composition and Potential Medicinal Uses of Horseradish (*Armoracia rusticana*) Root.
33. Nielsen P.S., Rios R. (2000.): Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.*, 60: 219–229.
34. Oerlemans K., Barrett D.M., Bosch Suades C., Verkerk R., Dekker M. (2006.): Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chem.*, 95: 19-29.
35. Ohta Y., Takatani K., Kawakishi S. (1995.): Decomposition rate of allyl isothiocyanate in aqueous solution. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59: 102-103.
36. Sakuyama H., Endo Y., Fujimoto K., Hatano Y. (2003.): Oxidative degradation of alkylphenols by horseradish peroxidase. *J. Biosci. Bioeng.*, 96: 227-231.

37. Sampliner D., Miller A. (2009.): Ethnobotany of horseradish (*Armoracia rusticana*, Brassicaceae) and its wild relatives. *Econ. Bot.*, 63: 303-313.
38. Shapiro T.A., Fahey J.W., Wade K.L., Stephenson K.K., Talalay P. (1998.): Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent.*, 7: 1091-1100.
39. Shehata A., Mulwa R.M.S., Babadoost M., Uchanski M., Norton M.A., Skirvin R., Walters S.A. (2009.): Horseradish: Botany, horticulture and breeding. *Horticult. Rev.*, 35: 222-261.
40. Valgimigli L., Iori R. (2009.): Antioxidant and pro-antioxidant capacities of ITCs. *Environ. Mol. Mutagen.*, 50: 222-237.
41. Vig. A.P., Rampal G., Singh Thind T.S., Arora S. (2009.): Bio-protective effects of glucosinolates. *LWT Food Sci. Technol.*, 42: 1561-1572.
42. Yu R., Mandlekar S., Harvey K.J., Ucker D.S., Kong A.N. (1998.): Chemopreventive isothiocyanates induce apoptosis and caspase-3-like protease activity. *Cancer Res.*, 58: 402-408.
43. Zhang Y. (2010.): Allyl isothiocyanate as cancer chemopreventive phytochemical. *Mol. Nutr. Food Res.*, 54: 127-135.
44. Zhang Y. (2004.): Cancer-preventive isothiocyanates: Measurement of human exposure and mechanism of action. *Mutat. Res.*, 555: 173-190.
45. Zhang Y., Tang L., Gonzalez V. (2003.): Selected isothiocyanates rapidly induce growth inhibition of cancer cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2: 1045-1052.

10. SAŽETAK

Duboka, vlažna ilovasta tla s dobrim drenažnim sustavom i umjerenom klimom najpovoljnija su za uzgoj jednogodišnjeg i višegodišnjeg hrena, a zemlje koje su najveći uzgajivači hrena su Sjedinjene Američke Države i Mađarska. Hren se zbog svojega specifičnoga okusa koristi u prehrani kao začim te ima višestruko zdravstveno djelovanje zbog velike količine vitamina C te zbog antibiotskih svojstava. Važna je sirovina za izdvajanje peroksidaze koja se koristi za reagense pri određivanju šećera i kolesterola u krvi. Hren je bogat glukozinolatima, sekundarnim produktima koji imaju važnu ulogu u obrambenom sustavu biljke. Uz glukozinolate, važno je istaknuti i izotiocijanat koji bi mogao postati važno antikancerogeno sredstvo jer, osim što sprječava razvoj novih, uništava postojeće kancerogene stanice. Uz antibakterijske, izotiocijanat posjeduje i antiprotozoalne i antifungalne aktivnosti. Upravo je zbog hranjivih vrijednosti, ljekovitih svojstava i specifičnog okusa i mirisa preporučljiva konzumacija hrena u različitim oblicima.

Ključne riječi: ljekovita svojstva, glukozinolati, izotiocijanat, antikancerogeno sredstvo

11. SUMMARY

Deep, moist, loamy soils with good drainage systems and temperate climates are best suited for growing horseradish and the countries that are the largest horseradish producers are the United States of America and Hungary. Due to its specific taste, horseradish is used in the diet as a spice and has multiple health effects due to its high amount of vitamin C and its antibiotic properties. An important raw material obtained from horseradish is peroxidase which is used for tests in the determination of blood sugar and cholesterol. Horseradish is rich in glucosinolates, secondary products that play an important role in the plant's defense system. In addition to glucosinolates, it is also important to highlight isothiocyanate, which could become an important anticarcinogenic agent because, in addition to preventing the development of new ones, it destroys existing cancer cells. In addition to antibacterials, isothiocyanate also possess antiprotozoal and antifungal activities. Due to its nutritional value, medicinal properties, specific taste and aroma, it is advisable to consume horseradish in various forms.

Key words: medicinal properties, glucosinolates, isothiocyanate, anticarcinogenic agent

12. POPIS TABLICA

| | | |
|-------------------|---|----------|
| Tablica 1. | Znanstvena klasifikacija | 2. str. |
| Tablica 2. | Hranjivi sastojci hrena | 4.str. |
| Tablica 3. | Minerali i vitamini u biljci hrena | 6. str. |
| Tablica 4. | Hlapljivi organski spojevi pronađeni u svježem korijenu hrena i rezu korijena čuvanih pri 5°C tijekom 12h | 15. str. |

13. POPIS SLIKA

| | | |
|-----------------|--|----------|
| Slika 1. | Biljka hrena | 1.str. |
| Slika 2. | Korijen hrena | 4.str. |
| Slika 3. | Struktura glukozinolata | 12. str. |
| Slika 4. | Hlapljivi organski spojevi pronađeni u svježem korijenu hrena i rezu korijena zadržanih na 5°C tijekom 12h | 13. str. |
| Slika 5. | Glavni putevi razgradnje glukozinolata | 14. str. |
| Slika 6. | Korijen i lisna peteljka hrena | 18.str. |
| Slika 7. | Naribani hren | 23. str. |

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Sveučilišni diplomski studij, smjer Biljna proizvodnja

Suvremena proizvodnja i ljekovita svojstva hrena (*Armoracia rusticana*)

Ana Galičić

Sažetak: Duboka, vlažna ilovasta tla s dobrim drenažnim sustavom i umjerenom klimom najpovoljnija su za uzgoj jednogodišnjeg i višegodišnjeg hrena, a zemlje koje su najveći uzgajali hrena su Sjedinjene Američke Države i Mađarska. Hren se zbog svojega specifičnoga okusa koristi u prehrani kao začim te ima višestruko zdravstveno djelovanje zbog velike količine vitamina C te zbog antibiotskih svojstava. Važna je sirovina za izdvajanje peroksidaze koja se koristi za reagense pri određivanju šećera i kolesterola u krvi. Hren je bogat glukozinolatima, sekundarnim produktima koji imaju važnu ulogu u obrambenom sustavu biljke. Uz glukozinolate, važno je istaknuti i izotiocijanati koji bi mogao postati važno antikancerogeno sredstvo jer, osim što sprječava razvoj novih, uništava postojeće kancerogene stanice. Uz antibakterijske, izotiocijanati posjeduju i antiprototozalne i antifungalne aktivnosti. Upravo je zbog hranjivih vrijednosti, ljekovitih svojstava i specifičnog okusa i mirisa preporučljiva konzumacija hrena u različitim oblicima.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: izv.prof.dr.sc. Tomislav Vinković

Broj stranica: 32

Broj grafikona i slika: 7

Broj tablica: 4

Broj literaturnih navoda: 45

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: ljekovita svojstva, glukozinolati, izotiocijanati, antikancerogeno sredstvo

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Dr.sc. Monika Tkalec, predsjednik
2. Izv.prof.dr.sc. Tomislav Vinković, mentor
3. Izv.prof.dr.sc. Miro Stošić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, sveučilište u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
University Graduate Studies, Plant production

Graduate thesis

Modern production technology and medicinal properties of horseradish

(*Armoracia rusticana*)

Ana Galičić

Deep, moist, loamy soils with good drainage systems and temperate climates are best suited for growing horseradish and the countries that are the largest horseradish producers are the United States of America and Hungary. Due to its specific taste, horseradish is used in the diet as a spice and has multiple health effects due to its high amount of vitamin C and its antibiotic properties. An important raw material obtained from horseradish is peroxidase which is used for tests in the determination of blood sugar and cholesterol. Horseradish is rich in glucosinolates, secondary products that play an important role in the plant's defense system. In addition to glucosinolates, it is also important to highlight isothiocyanate, which could become an important anticarcinogenic agent because, in addition to preventing the development of new ones, it destroys existing cancer cells. In addition to antibacterials, isothiocyanate also possess antiprotozoal and antifungal activities. Due to its nutritional value, medicinal properties, specific taste and aroma, it is advisable to consume horseradish in various forms.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: izv.prof.dr.sc. Tomislav Vinković

Number of pages: 32

Number of figures: 7

Number of tables: 4

Number of references: 45

Number of appendices: 0

Original in: Croatia

Key words: medicinal properties, glucosinolates, isothiocyanate, anticarcinogenic agent

Thesis defended on date:

Reviewers:

- 1.PhD. Monika Tkalec- chair member
- 2.PhD. Tomislav Vinković, associate professor- mentor
- 3.PhD. Miro Stošić, associate professor – member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.