

Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer
Prešernova ulica 34, 9240 Ljutomer



RAZISKOVALNA NALOGA
**PRIDOBIVANJE EKSTRAKTOV ČILIJA IN
BLAŽENJE PEKOČEGA OBČUTKA**
DRUGA PODROČJA: PREHRANA

Avtorja:

Klemen Novak

Aleks Rautar

Mentorici:

Mateja Godec, prof

asist. dr. Darija Cör

Ljutomer, 2020

Kazalo vsebine

1. UVOD	4
1.1. Raziskovalna vprašanja	5
1.2. Hipoteze	5
2. TEORETIČNE OSNOVE.....	6
2.1. Rod Capsicum.....	6
2.1.1. Capsicum annuum.....	7
2.1.2. Capsicum chinense	8
2.2. Kapsaicin v papriki	9
2.3. Kapsaicin.....	9
2.4. Jezik	11
2.4.1. TRPV1	11
2.4.2. Aktivacija TRPV1 s kapsaicinom	11
3. METODE DELO	12
3.1. Osnovni pripomočki in aparature.....	12
3.2. Ekstrakcija	13
3.2.1. Ekstrakcija s superkritičnimi fluidi.....	13
3.2.2. Ekstrakcija po Soxhletu	15
3.2.3. Maceracija.....	15
3.3. Merjenje po Scovillovi lestvici.....	16
3.3.1. Metoda HPLC (High pressure liquid chromatography).....	16
3.3.2. Scovillov organoleptični test	17
3.4. Potek dela	17
3.4.1. Zaščita.....	17
3.4.2. Čilijev prah	18
3.4.3. Ekstrakcija kapsaicina s superkritično ekstrakcijo s CO ₂	18
3.4.4. Ekstrakcija kapsaicina po Soxhletu	20
3.4.5. Ekstrakcija kapsaicina z maceracijo	21
3.4.6. Izbiranje blažilcev	21
3.4.7. Pripravljanje raztopine za ugotavljanje učinkovitosti blažilcev	22
3.4.8. Preizkušanje blažilnega učinka z razredčeno raztopino	22
3.4.9. Preizkušanje blažilnega učinka s čilijevim prahom	23
3.4.10. Priprava raztopin za Scovillov organoleptični test.....	24
3.4.11. Scovillov organoleptični test	25

4. REZULTATI	26
4.1. Rezultati izkoristka posamezne ekstrakcije	26
4.2. Rezultati preizkuševanja blažilnega učinka	27
4.2.1. Pekoč občutek pred zaužitjem blažilca	27
4.2.2. Pekoč občutek, ko je blažilec v ustih	28
4.2.3. Pekoč občutek 5 sekund po zaužitju blažilca	29
4.3. Rezultati blaženja v odvisnosti od časa pri večjem občutku pekočega s habanero prahom	30
4.4. Rezultati merjenja skovilov	32
4.4.1. Ekstrakt čilija vrste škorpijon dobljen z maceracijo	32
4.4.2. Ekstrakt čilija vrste škorpijon dobljen z ekstrakcijo superkritičnim CO ₂	33
4.4.3. Ekstrakt čilija vrste škorpijon dobljen z ekstrakcijo po Soxhletu	34
4.4.4. Ekstrakt čilija vrste habanero dobljen z ekstrakcijo po Soxhletovu	35
4.4.5 Primerjava pekočine ekstraktov z pekočino ploda	35
5. INTERPRETACIJA REZULTATOV	36
6. ZAKLJUČEK	38
VIRI	39
VIRI SLIK	40

Kazalo slik

Slika 1: Doma vzgojen čili	4
Slika 2: Navadna paprika	6
Slika 3: Manjši plodovi vrste <i>Capsicum annuum</i>	7
Slika 4: Zrel in nezrel jalapeno	7
Slika 5: Od leve proti desni: rumeni habanero, čokoladni čili in škorpijon s pripadajočimi začimbami v ozadju	8
Slika 6: Prerez najbolj pekočega čilija doslej: Carolina reaper	9
Slika 7: Molekula kapsaicina	10
Slika 8: Mletje čilija z zaščito	12
Slika 9: Tehnica in čaša	12
Slika 10: Zatesnjena ekstrakcijska posoda s čilijem	14
Slika 11: Ekstrakcija po Soxhletu	15
Slika 12: Wilbur Lincoln Scoville	16
Slika 13: Prah trinidad Moruga škorpijona	18
Slika 14: Ekstrakcijska posoda s čilijem in vato	18
Slika 15: Ekstrakcijski avtoklav, pripravljena za vodno kopel	18
Slika 17: Visokotlačna črpalka	19
Slika 16: CO ₂ v jeklenki	19
Slika 18: Gosti ekstrakt	19
Slika 19: V vodi potopljena posoda	19
Slika 20: Soxhletova aparatura	20
Slika 21: Ekstrakt čilija vrste škorpijon v plastični posodici	20
Slika 22: Ustna vodica in olivno olje	21
Slika 23: Nekaj prostovoljcev, preden smo izvedli poskus s prahom	23
Slika 24: prostovoljci pred organoleptičnim testom	25
Slika 26: rezultati po testu	25
Slika 25: pripravljen organoleptičen test	25

Kazalo grafov

Graf 1: Izkoristki ekstrakcij	26
Graf 2: stolpčni prikaz občutka pekočine pred zaužitjem blažilca	27
Graf 3: stolpčni prikaz občutka pekočine, ko je blažilec v ustih	28
Graf 4: stolpčni prikaz občutka pekočine 5 sekund po blaženju	29
Graf 5: občutek pekočega s habanero prahom, z različnimi blažilci v odvisnosti od časa	30
Graf 6: tortni prikaz, koliko preizkuševalcev je pri določeni razredčini čutilo pekoče pri ekstraktu dobljenim z maceracijo čilija vrste škorpijon.	32
Graf 7: : tortni prikaz, koliko preizkuševalcev je pri določeni razredčini čutilo pekoče pri ekstraktu dobljenim s superkritično CO ₂ ekstrakcijo iz čilija vrste škorpijon	33
Graf 8: tortni prikaz, koliko preizkuševalcev je pri določeni razredčini čutilo pekoče pri ekstraktu dobljenim z ekstrakcijo po Soxhletu iz čilija vrste škorpijon	34

Zahvala

Iskreno se zahvaljujema Mateji Godec, prof., za nepogrešljivo pomoč, koristne nasvete in vodenje pri pisanju raziskovalne naloge. Zahvaljujema se tudi asist. dr. Dariji Cör za pomoč pri izvajanju zahtevnih eksperimentov in njeno svetovanje.

Zahvalo izrekava tudi šolski laborantki Sonji Koroša, ki nama je ves čas pomagala v laboratoriju, vedno poskrbela, da sva vse dokončala ob pravem času, in je bila tudi največ časa v stiku z dražečimi molekulami, ki so bile uporabljene pri nastajanju pričujoče raziskovalne naloge. Zahvaljujema se tudi mag. Sašu Pergarju, prof., za lektoriranje besedila in seveda vsem prostovoljcem, ki so se žrtvovali za najine raziskovalne namene.

POVZETEK

Navadna paprika je ena izmed najbolj razširjenih vrst zelenjave na svetu. Zelo razširjen pa je tudi čili, ki spada v isti rod kot navadna paprika, vendar v ustih povzroča pekoči občutek. Veliko ljudi se marsikdaj preceni in pojedjo zelo močan čili, ki jih spravi v nelagodje in lahko privede tudi do želodčnih krčev. Pri raziskovanju naju je zanimalo, kako narediti najmočnejši ekstrakt čilija, katere metode poznamo in kako vplivati na večji uspeh ekstrakcije, pa tudi, kako pekoč občutek v ustih blažiti

V prvem delu sva proučila 3 vrste ekstrakcij s čilijem vrste »trinidad moruga scorpion« in sicer maceracijo, ekstrakcijo po Soxhletu in ekstrakcijo s superkritičnim CO₂.

Ekstrakcijo po Soxhletu sva ponovila z rumenim čilijem vrste habanero, ki je po Scovillovi lestvici veliko šibkejši od vrste škorpion.

Iz ekstraktov sva pripravila razredčene raztopine, ki so jih preizkušali prostovoljci. Tako sva ugotovila, kateri ekstrakt je močnejši. Zavedava se, da je metoda subjektivna, vendar meniva, da sva vključila dovolj prostovoljcev, zato so rezultati vseeno relevantni.

V drugem delu raziskave sva ugotavljala, kateri blažilec pekočega občutka je najučinkovitejši. Najprej sva pripravila srednje močno raztopino ekstrakta. Preizkuševalci so zaužili žlico takšne raztopine, da so začutili pekoč občutek, nato pa so ga blažili. Zaradi nekoliko nepričakovanih rezultatov sva preizkus ponovila, vendar tokrat s čilijevim prahom rumenega habanera, ki je bil bistveno močnejši kot raztopina, pripravljena v prvem poizkusu.

Z analizo sva ugotovila, da sva najmočnejši ekstrakt dobila pri ekstrakciji s superkritičnim CO₂ in da je za blaženje pekočega občutka najboljše mleko, ker je vedno pri roki in nima neprijetnega okusa.

SUMMARY

Regular bell pepper is one of the most extent vegetables around the world. Hot chilli peppers are the same genus but produce special alkaloids which give a burning sensation in the mouth. Pepper lovers or non- lovers overestimate themselves and eat more than they can handle, causing them a lot of discomfort in the mouth and later in the stomach. In this research we wanted to discover how to make the strongest chilli extract. Which methods do we know and how to increase the efficiency. And later on how to relieve the burning sensation.

In the first part, we learned about 3 methods of extracting capsaicin from the trinidad moruga scorpion pepper with soaking them in ethanol, Soxhlet extractor and supercritical CO₂ extraction.

We repeated the Soxhlet extraction with a yellow habanero pepper, which is much lower on the Scoville scale than the trinidad moruga scorpion pepper.

We used the extracts to make solutions which volunteers tasted to determine the heat. We do realise that this method is very subjective, but we do believe, that we had enough volunteers to make our results comparable.

In the second part we compared different spicy food remedies. First we prepared a medium solution with an extract. The testers have tasted a spoon of the solution and then tried one of the spicy remedies we had at disposal. Due to the unexpected results, we repeated the test, but with a yellow habanero powder, which was much stronger than the solution from before.

With the analysis we figured out, that we got the strongest extract wit supercritical CO₂ extraction and milk to be the best spicy remedy due to its handiness and has no unpleasant taste.

1. UVOD

Ko je eden od naju na kmetijsko-živilskem sejmu zasledil čili, sem se odločil, da ga bom gojil. Tako sem se srečeval s prvimi neprijetnimi pekočimi izkušnjami. Preizkušal sem različne vrste in vzgojil svoje prve čilije. Začel sem izdelovati začimbe in z njimi navduševal prijatelje, enega od njih sem pritegnil do tolikšne mere, da sva se lotila raziskovanja. Že dejstvo, da zdrava hrana lahko daje pekoč občutek v ustih, ne da bi človeku škodovala (TED- Ed, 2014), naju je prepričalo, da sva se lotila dela.

V raznih strokovnih in tudi poljudnih revijah, člankih in na spletnih straneh sva poiskala podatke o učinkih čilijev na zdravje. V reviji Zarja Jana je bilo navedeno: *»Ščepec čilija, malo več popra – pa bomo zadovoljni ne le zaradi kulinarčnih užitkov, marveč tudi zaradi kapsaicina, ki ga vsebujejo ostre začimbe. Ta sprošča razdraženo živčevje in spodbuja možgane k izločanju večje količine endorfina, hormona sreče. Kapsaicin tudi okrepi prekrvavitev, kar lajša bolečine. Pa še zeblo bo nas manj.«* Pomaga tudi pri delovanju prebavnem traku, tako da pospešuje metabolizem, krepi srce, lajša bolečine v sklepih, znižuje možnost nastanka več vrst raka, preprečuje nastanek bolezni in še bi lahko naštevali. (Scishow, 2018)

Verjameva v našete zdravilne učinke, a porodilo se nama je še veliko drugih vprašanj. Kako čili deluje? Kaj se zgodi, kadar pojemo preveč čilija? Kako blažimo ta dražeč, pekoč občutek? Ali lahko ustvarimo še kaj bolj pekočega, kot je čili? Odločila sva se, da vse to podrobneje raziščeva.

Po naključju smo prav tisti teden v šoli pri pouku kemije izvajali ekstrakcijo po Soxhletu in z idejo, da pripraviva ekstrakt iz čilija, se je najina raziskava začela.

Zadala sva si, da bova ugotovila, kako pridobiti najmočnejše ekstrakte čilija in kako najbolje blažimo pekoči občutek po zaužitju čilija. Upava tudi, da bova ovrgla nekaj mitov, ki krožijo med ljubitelji pekoče hrane. Ljudi želiva vzpodbuditi k uživanju čilija in jih prepričati, da je zdrav. Ker nekateri ne marajo pekočega občutka, želiva najti ustrezen nasvet za učinkovito preprečevanje tega neprijetnega občutka.



Slika 1: Doma vzgojen čili
(lasten vir)

1.1. Raziskovalna vprašanja

- Ali iz bolj pekočega čilija uspešneje ločimo kapsaicinoide?
- Katera vrsta ekstrakcije je najučinkovitejša?
- Kaj najboljše blaži pekoči občutek v ustih po zaužitju pekoče hrane?

1.2. Hipoteze

1. **HIPOTEZA:** Najbolj pekoči ekstrakt bomo dobili pri ekstrakciji s superkritičnim CO₂.

Izvedla bova 3 različne ekstrakcije, najpreprostejšo maceracijo, ekstrakcijo po Soxhletu in ekstrakcijo s superkritičnim CO₂. Sklepava, da bo ekstrakcija s superkritičnim CO₂ najučinkovitejša, torej se bo zaradi nepolarosti ogljikovega dioksida izločilo največ kapsaicinoidov.

2. **HIPOTEZA:** Ekstrakt čilija »trinidad moruga scorpion« bo bolj pekoč od ekstrakta čilija »habanero yellow«.

Izvedla bova dve ekstrakciji po Soxhletu, eno s čilijem »trinidad moruga scorpion« in drugo s čilijem »habanero«. Ker je »trinidad moruga scorpion« po Scovillovi lestvici skoraj na vrhu najbolj pekočih čilijev, »habanero« pa na sredini te lestvice, sklepava, da bova dobila bolj pekoč ekstrakt iz prahu čilija »trinidad moruga scorpion«.

3. **HIPOTEZA:** Najbolj blažilni učinek pri pekočem občutku v ustih po zaužitju raztopine bo imelo mleko.

Prostovoljci bodo okušali raztopino čilija in pekoči občutek poskušali blažiti z vodo, mlekom, ustno vodico (Listerine), olivnim oljem in kruhom. Ker je mleko najbolj priporočeno v največ različnih virih, sklepava, da bo tudi najučinkovitejše.

4. **HIPOTEZA:** Mleko bo imelo najboljši blažilni učinek tudi pri zaužitju bolj pekočega pripravka (raztopine z večjo koncentracijo ali prahu čilija).

Po lastnih izkušnjah veva, da blaženje ni enako, če zaužijemo rahlo ali zelo pekočo hrano. Zato bova z nekaj prostovoljci poskusila blažiti učinek bolj pekočega pripravka. Tudi tokrat bodo prostovoljci pekoči občutek blažili z vodo, mlekom, ustno vodico (Listerine), olivnim oljem in kruhom. Predvidevava sicer, da bo mleko vseeno najučinkovitejše.

2. TEORETIČNE OSNOVE

Zaradi neujemanja tuje in slovenske terminologije bo v tej nalogi izraz »paprika« uporabljen za plodove rodu *Capsicum*, ki ne proizvajajo pekočih alkaloidov kapsaicinoidov, torej za sladko, nepekočo papriko, izraz »čili« pa za plodove rodu *Capsicum*, ki proizvajajo te alkaloidne in so pekoči.

Navadna paprika je običajen plod, ki ga najdemo v različnih jedeh in na večini vrtov. Čilija najdemo manj, pa vendar tudi tega na vrtu goji veliko ljudi in uživa njegove plodove.

2.1. Rod *Capsicum*

Capsicum je rod dvokaličnih rastlin družine razhudnikovk (*Solanaceae*) in obsega več vrst. Med najbolj znane vrste spadajo:

- *Capsicum annuum*, ki so le rahlo pekoče ali nepekoče, zelo razširjene po Evropi;
- *Capsicum baccatum*, katere sorte so srednje pekoče in zvončaste oblike;
- *Capsicum frutescens*, katere sorte so srednje do zelo pekoče, plodovi so majhni in so lahko različne barve na isti rastlini;
- *Capsicum pubescens*, katere sorte so lahko zelo pekoče in so
- *Capsicum chinense*, katere sorte so najbolj pekoče in tudi zelo znane.



Slika 2: Navadna paprika (vir: <https://www.alibaba.com/product-detail/EXPORT-STANDARD-FARM-VIETNAM-FRESH->

Rod *Capsicum* izvira iz Mehike in Srednje Amerike in se je po kolonizacijskem obdobju začel širiti po celotni Evropi in Aziji. Raste pri temperaturah od 20 do 30 °C in v zmerni vlažnosti. Prvotno je vsaka rastlina proizvajala kapsaicin v plodu (največ v placenti). To je alkaloid, ki daje pekoč občutek. S križanjem vrste *annuum* se je razvila podvrsta, ki ne proizvaja tega alkaloida in je danes znana pod imenom navadna ali sladka paprika.

Plodovi rodu Capsicum so različnih oblik in barv (odvisno od vrste in podvrste). Najpogostejši barvi zrelih plodov sta rdeča in rumena, lahko so pa tudi rjave (pogosto z imenom čokoladna), bele, vijolične ali oranžne barve.

Večino ploda sestavlja voda, bogat pa je tudi z vitaminom C in malo manj vitamina B6. (Osvald, 1999)

Najbolj znani sta vrsti *Capsicum annuum* in *Capsicum chinense*, ki sta opisani v nadaljevanju.

2.1.1. **Capsicum annuum**

Navadna paprika je plod rastline *Capsicum annuum*. Njeni sadeži so lahko različne barve in se razlikujejo glede na genotip. Pogosto se uporablja tudi zelena, ki pa ni nič druga kot pa nezrel plod.

Rastlina zraste do višine 80 cm in ima srednje velike jajčaste liste. Koreninski sistem je dokaj plitev, cvetje je belo, rahlo rumeno ali pa redkokdaj vijolično. Plodovi so največji v celotnem rodu in gladki. Nekatere podvrste pa imajo tudi manjše plodove (slika 3). Največkrat so plodovi obrnjeni navzdol, vendar se pri tej vrsti najdejo tudi nekatere rastline, katerih plodovi štrlijo v zrak (čili ptičje oko). Vrste *annuum* so najbolj blage ali nepekoče zaradi prevlade recesivnih alelov za proizvodnjo kapsaicina.

Sveža paprika se uporablja za solate ali izdelavo omak, posušena pa se lahko zmelje v prah in uporablja kot začimba.

Najbolj znani predstavniki te vrste so:

- sladka paprika,
- jalapeno,
- čili ptičje oko (birds eye, čili cabai rawit).



Slika 3: Manjši plodovi vrste *Capsicum annuum* (vir: <https://www.aquaponicsshop.eu/en/product/chilli-peper-numex-twilight-capsicum-annuum/>)



Slika 4: Zrel in nezrel jalapeno (vir: <https://www.pepperscale.com/red-jalapeno-vs-green-jalapeno/>)

2.1.2. **Capsicum chinense**

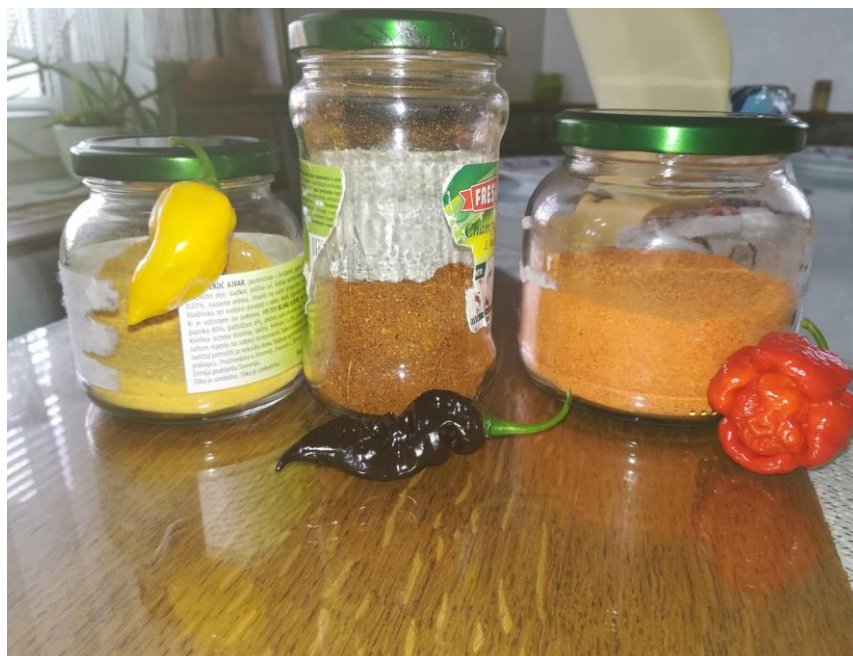
Vrsta chinense proizvaja najbolj pekoče plodove celotnega rodu. Rastlina je grmičasta in odvisno od podvrste, zraste lahko od 0,5 do 1,6 metra. Tudi velikost listov je odvisna od sorte, vendar so ti lahko večji od dlani, odvisno od pogojev, v katerih raste.

Plodovi so veliko manjši od vrste *annuum*, so pa veliko bolj pekoči. Stene teh plodov so precej tanjše od ostalih vrst in pogosto vsebujejo manj semen. Placenta je v primerjavi s plodom velika in vsebuje veliko kapsaicina. Zunanost plodov je nagubana in posebnih oblik. Nekatere bolj pekoče vrste chinense imajo repek, ki ga ljubitelji imenujejo škorpionov rep, Matildina kosa ali tudi želo.

Pekočo papriko že od nekdaj uporabljamo kot začimbo z namenom, da naredimo hrano bolj pekočo. Ljubitelji in kulinarčni strokovnjaki jo uporabljajo tudi za izdelavo sladkih, dimljenih ali fermentiranih pekočih omak.

Glavni predstavniki vrste chinense so:

- carolina reaper,
- trinidad moruga škorpion,
 - drugi najmočnejši čili po Scovillovi lestvici,
 - unikatna oblika z zelo hrapavo zunanostjo,
- habanero,
 - na sredini Scovillove lestvice,
 - nima posebne oblike z rahlo nagubano ali gladko zunanostjo. (Rakić, 2015)



Slika 5: Od leve proti desni: rumeni habanero, čokoladni čili in škorpion s pripadajočimi začimbami v ozadju (lasten vir)

2.2. Kapsaicin v papriki

Večina rastlin rodu *Capsicum* (z izjemo določenih vrst *annuum*) v placenti in plodu proizvaja kapsaicin. Nekdaj so znanstveniki verjeli, da se paprika s kapsacinom brani pred prežvekovalci, kar so zadnje raziskave ovrgle. Nekatere živali, ki rade uživajo papriko, bodo uživale tudi pekoče sadeže, le v manjšem deležu. Živali, ki za papriko nimajo posebnega interesa, pa ne uživajo nobene (ne sladke in ne pekoče). Ugotovili so, da kapsaicin dobro zavira rast plesni, ki papriko v naravi zelo ogroža, zato domnevajo, da je to glavni razlog za nastajanje kapsaicina.

Zanimivo je, da kapsaicina ne zaznavajo ptice, kar je dobro za ohranjanje vrste, saj ptiči z uživanjem pekočih sadežev prenašajo semena in tako širijo vrsto. (SciShow, 2018)

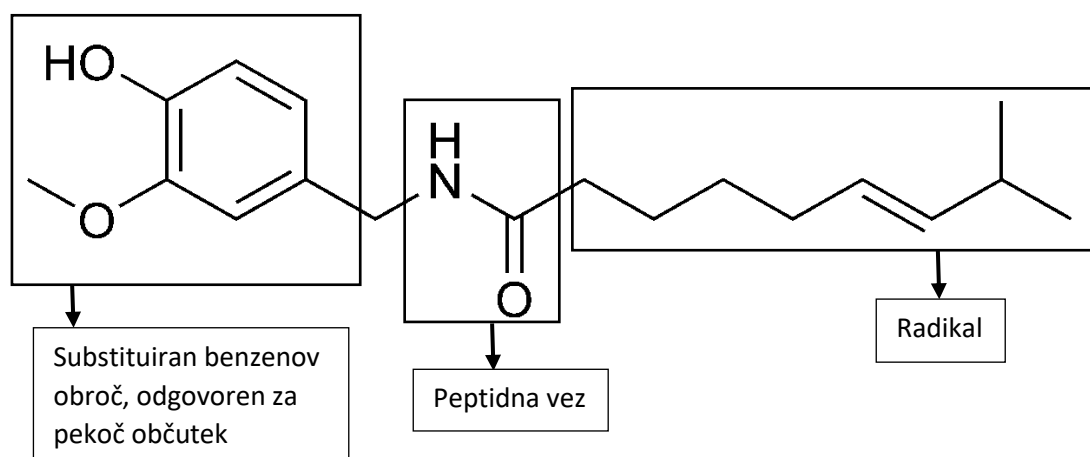


Slika 6: Prerez najbolj pekočega čilija doslej: *Carolina reaper* (vir: <https://slo-tech.com/forum/t216895/699>)

2.3. Kapsaicin

Vse prej naštetе vrste čilija vsebujejo pekočo komponento imenovano kapsaicin.

Kapsacin je organska molekula, ki jo proizvaja večina vrst paprike *Capsicum*. Molekula se veže na senzorje za zaznavanje toplote in tako brez opekline ali kemijske reakcije sproži pekoč občutek na mestu stika, kar je najpogosteje v ustih, lahko pa postane dražljiva tudi na koži ali katerem koli drugem občutljivem organu, kot so oči ali nos.



Slika 7: Molekula kapsaicina (vir: <https://pepperfreak.wordpress.com/tag/capsicum/>)

Molekulska formula: $C_{18}H_{27}NO_3$

IUPAC-ime: (6E)-N-(4-Hidroksi-3-metoksibenzil)-8-metil-6-nonamid

Molska masa: 305,412 g/mol

Tališče: od 62 do 69 °C

Vrelišče: od 210 do 220 °C

Kapsaicin je kristaliničen ali voskast nepolaren alkaloid, najbolj zastopan od ostalih kapsaicinoidov, ki se še pojavljajo v čiliju. Zaradi nepolarnosti ni topen v vodi, ampak v alkoholu in oljih.

Zaradi nekaterih lastnosti bi kapsaicin lahko uvrščali med droge. Nelagodje, ki ga povzroča molekula, telo poskuša blažiti z endorfini, ki dajejo tudi občutek zadovoljstva. Zaradi tega se nam po zaužitju večje količine pekoče hrane lahko tudi zvrsti.

Poleg kulinarike se kapsaicin uporablja tudi v medicini. Je vazodilatator, kar pomeni, da širi žile in s tem povečuje krvni pretok na mestu nanosa. Tako pomaga tudi v prebavnem traku, v katerem pospešuje presnovne procese. Na tržišču lahko najdemo »čilijeve kreme«, ki pomagajo pri bolečinah v mišicah in sklepih. S pospešeno prebavo, naporom telesa ob zaužitju in znižanjem občutka lakote lahko pomaga pri izgubi telesne teže. Nekateri viri trdijo, da pomaga pri kardiovaskularnih boleznih in preprečuje nastanek raka, vendar so za potrditev teh tez potrebne še dodatne raziskave. (Rakić, 2015)

Zaužitje večjih količin pekoče hrane ali nanos kreme s kapsaicinom lahko povzroči zelo pekoč in neprijeten občutek. Pretirano zaužitje lahko povzroči bolečine v želodcu, imenovane kapsaicinski krči. Posebej boleče in nelagodno je za ljudi, ki imajo rane ali polipe na želodcu, čeprav nekatere raziskave trdijo, da kapsaicin na mestu želodčne rane poveča prekrvavitev in tako rane zdravi, uničuje pa tudi škodljive bakterije. (Altomare, 2006)

2.4. Jezik

Jezik je prebavni organ, sestavljen iz progastih mišic, ki je z zadnjim delom pritrjen na dno ustne votline. Njegove glavne naloge so pomoč pri govorjenju, obračanje hrane med žvečenjem in okušanje hrane. Njegova površina je na zgornji strani prekrita z brbončicami, sestavljenimi iz majhnih okušalnih popkov, imenovanih jezične papile, v večini katerih se nahajajo različne okušalne čutnice oziroma receptorji. Te obdajajo živčna vlakna, ki se združujejo v okušalni živec. Ta ob vznurjenju prevaja dražljaj v možgansko središče za okus. (Hagura, 2013)

Glede na to kateri receptorji se vznurijo v brbončicah poznamo 4 osnovne vrste okusa:

- GRENKO zaznamo, kadar se ob prisotnosti grenke snovi vznuri receptor TAS2R;
- SLADKO zaznamo ob vznurjenju receptorjev TAS1R2 in TAS1R3, ki ga povzročijo sladkorji in sladila;
- SLANO zaznamo, kadar se ob stiku z natrijevimi ali drugimi alkalijskimi ioni vznuri receptor za zaznavo soli;
- KISLO zaznamo, kadar se zaradi prosto plavajočih vodikovih ionov vznurita receptorja HCN1 in HCN4.

Poleg receptorjev za osnovne vrste okusa se na jeziku nahajajo tudi mehanoreceptorji, ki zaznavajo teksturo hrane, ter termoreceptorji in kemoreceptorji, katerih skupna naloga je zaznavanje vročega in mrzlega. (Rosenbaum, 2007)

2.4.1. TRPV1

TRPV1, znan tudi kot kapsiacinski receptor ali receptor V1, je kemoreceptor ter spada v skupino receptorjev TRPV in v družino ionskih kanalčkov, ki omogočajo prehod ionov. Po kemijski sestavi je protein, njegov dedni zapis za njegovo sintezo oz. gen TRPV1 pa se nahaja na 17. kromosomu. Njegova glavna naloga je zaznava in regulacija telesne temperature. Ob vznurjenju odda signal, ki sproži občutek vročine in bolečine, prav tako pa vzpodbudi sintezo dopamina, ki povzroči občutek zadovoljstva.

Receptor se aktivira ob prisotnosti različnih zunanjih in notranjih ter fizičnih ali kemijskih stimulantov. Najpogostejši so temperatura, višja od 43 °C, pH, nižji od 5,9, kapsaicin (dražilna snov v feferonih in pekoči papriki) in alil izotiocianat (dražilna snov v wasabiju in gorčici). (Tominaga, 1998)

2.4.2. Aktivacija TRPV1 s kapsaicinom

Za aktivacijo receptorja TRPV1 sta potrebni vsaj dve molekuli kapsaicina, ker ena sama ni zadostna da bi prebila prag akcijskega potenciala. Po aktivaciji receptorja pride do priliva kalcijevih in natrijevih ionov v celico, kar povzroči depolarizacijo celice in prehod iz negativne v pozitivno napetost, pri čemer celica začne oddajati živčni dražljaj, ki povzroči pekoči občutek. (Rosenbaum, 2007)

3. METODE DELA

3.1. Osnovni pripomočki in aparature

OSNOVNI PRIPOMOČKI:

- čaše (50 ml, 500 ml in 1000 ml)
- pipeta
- merilni valj (250 ml, 500 ml in 1000 ml)
- plastične žlice
- etanol
- rokavice
- kirurška maska
- mlinček (za kavo)
- tulci za ekstrakcijo
- štoparica

APARATURE:

- Soxhletov aparat
- tehtnica (0.0001)
- aparatura za ekstrakcijo s superkritičnim CO₂



Slika 8: Mletje čilija z zaščito
(lasten vir)



Slika 9: Tehtnica in čaša (lasten vir)

3.2. Ekstrakcija

Ekstrakcija je pogosta kemijska metoda, pri kateri izoliramo komponente iz tekočih ali trdnih zmesi. Po končani ekstrakciji dobimo snov, imenovano ekstrakt. Metoda se uporablja za na primer pridobivanje olj iz plodov ali semen, pridobivanje raznih arom ter izolacijo in čiščenje organskih spojin (antibiotiki in steroidi). (Boček, 2013)

Primeri ekstrakcij:

- ekstrakcija tekoče-tekoče,
- ekstrakcija na trdni fazi (SPE),
- superkritična ekstrakcija (SFE),
- maceracija,
- ekstrakcija po Soxhletu,
- ekstrakcija z ultrazvokom,
- ekstrakcija pri povišanem tlaku. (Kovačič, 2015)
-

3.2.1. Ekstrakcija s superkritičnimi fluidi

Superkritični fluid (SCF) je katera koli snov nad svojo kritično točko, torej sta tako tlak kot temperatura nad kritično vrednostjo. Ima zanimive lastnosti, saj ga lahko stiskamo kot plin, obenem pa v njem lahko raztapljamo snovi kot v tekočini. Prav tako ima zanemarljivo površinsko napetost. Ima nižjo difuzivnost od plinov in višjo od tekočin. V naravi so superkritični fluidi le redko prisotni in se z njimi v vsakdanjem življenju ne srečujemo. Superkritično vodo lahko zasledimo v podvodnih vulkanih, v katerih sta visoka tako tlak kot temperatura. (Perva-Uzunalić, 2003)

Pri ekstrakciji s superkritičnimi fluidi lahko kot topilo uporabimo vodo, butan, propan, etilacetat, butilacetat, ogljikov dioksid, etanol, aceton in didušikov oksid. Druga topila so prepovedana ali pa se uporabljajo le za posebne ekstrakcije, ki jih ne zasledimo v farmacevtski, kozmetični ali prehrabni industriji. (Uran, 2015)

Na hitrost ekstrakcije lahko vplivamo z različnimi dejavniki:

- velikost delcev – manjši so delci, manjša je medfazna površina med topilom in topljencem, pri čemer je prenos snovi hitrejši;
- temperatura – pri višji temperaturi se topnost topljenca poveča, s čimer je reakcija posledično hitrejša;
- topilo – zaradi naraščanja koncentracije topljenca med procesom ekstrakcije je potrebno izbrati topilo nizke viskoznosti;
- mešanje fluida – mešanje prepreči sprijemanje delcev in pospeši snovni prenos med topljencem in topilom.



Slika 10: Zatesnjena ekstrakcijska posoda s čilijem (lasten vir)

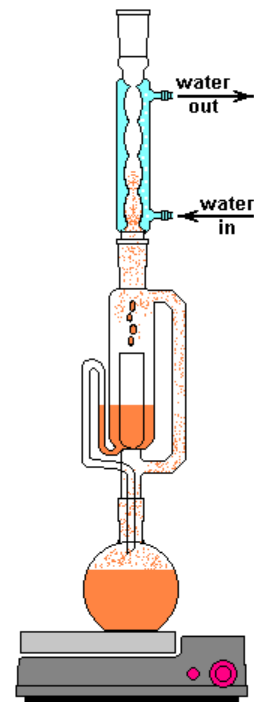
Največkrat se za ekstrakcijo uporablja ogljikov dioksid, ker ima ugodne kritične konstante ($T_c = 31,1 \text{ }^\circ\text{C}$ in $P_c = 73,8 \text{ bar}$), je brez vonja in okusa, netoksičen, nevnetljiv in poceni. Zaradi napolne molekule je odličen za raztapljanje lipofilnih snovi (na primer trigliceridov, eteričnih olj ali lipofilnih vitaminov). Ker pa je večina bioaktivnih spojin v rastlinah bolj polarnih od ogljikovega dioksida, za ekstrakcijo hidrofilnih snovi k superkritični fazi dodamo modifikatorje, kot so metanol, etanol in voda, ki pa nekoliko poslabšajo kvantitativno in kvalitativno sestavo izvlečka. (Mrvar, 2012)

Ekstrakcija s superkritičnimi fluidi je največkrat petstopenjski proces. Najprej tekoči ogljikov dioksid skozi izmenjevalec toplote črpamo v ekstrakcijsko posodo s pomočjo visokotlačne črpalke. V izmenjevalcu toplote ogljikov dioksid preide v kritično stanje, ker temperatura in tlak presegata kritično vrednost. Superkritični ogljikov dioksid nato potuje v ekstrakcijsko posodo, v kateri se nahaja suh in zdrobljen rastlinski material. Med ekstrakcijo superkritični ogljikov dioksid prehaja skozi rastlinski material in postopoma raztaplja topne spojine. Zmes topljenca in superkritičnega fluida usmerimo v odstavne posode, v katerih tlak postopoma nižamo. Superkritični ogljikov dioksid se zaradi spremembe tlaka spremeni nazaj v običajen ogljikov dioksid, pri tem pa izgubi zmožnost raztapljanja in tako izpade iz topila. Izhajajoči ogljikov dioksid recikliramo in ga s pomočjo plinskih ojačevalcev vrnemo nazaj v sistem. Postopek ima veliko prednosti, saj je selektiven, učinkovit in zanj porabimo malo časa, je energetsko varčen, dobljeni izvlečki so koncentrirani in ima možnost natančne prilagoditve dejavnikov ekstrakcije. Napravo za superkritično ekstrakcijo lahko tudi kombiniramo s kromatografskimi metodami, kot sta HPLC in GC ter njuni sklopitvi z MS. (Kramberger, 2019)

3.2.2. Ekstrakcija po Soxhletu

Soxhletov aparat se uporablja za ekstrakcijo trdnih snovi, pri čemer mora biti željena spojina dosti bolj topna v topilu kot ostale sestavine zmesi. Aparat sestavljajo bučka (ekstrahirka), ekstraktor in hladilnik. Topilo segrevamo v bučki, para pa nato po cevki potuje v hladilnik, v katerem se kondenzira, čisto topilo pa kaplja na zmes v filtrirnem papirju. Ekstrakt se zbere v ekstrakcijski komori. Ko se ta napolni do višine odtoka, ekstrakt po principu natege steče nazaj v bučko. Na koncu postopka dobimo ekstrakt v bučki in netopne snovi, ki ostanejo na filtrirnem papirju. Reakcija poteka večkrat, za celotnem postopek pa kljub temu potrebujemo malo topila. Postopek je treba ponavljati, dokler ne odteka čisto topilo.

Prednost tega tip ekstrakcije je v tem, da zmleti material vedno znova prihaja v stik s čistim topilom in da je temperatura v ekstraktorju nižja kot v bučki. To je ključno pri ekstrakciji termično občutljivih substanc. (Uran, 2015)



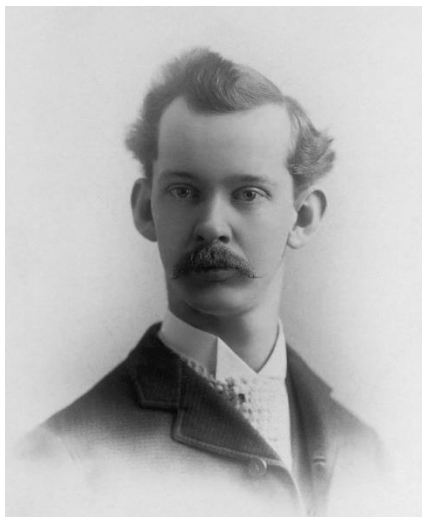
Slika 11: Ekstrakcija po Soxhletu (vir: https://en.wikipedia.org/wiki/Soxhlet_extractor)

3.2.3. Maceracija

Pri ekstrakciji trdno-tekoče ekstrakt preide v topilo. Ekstrakcija poteka v več stopnjah. Najprej snov, ki jo ekstrahiramo, pomešamo s topilom in jo pustimo, da so faze dlje časa v stiku. Sledi mehansko ločevanje faz s centrifugiranjem ali filtriranjem. Po končanem ločevanju raztopino termično ločimo v ekstrakt in topilo. To storimo s pomočjo uparjalnikov, v laboratoriju sva v ta namen uporabila rotacijski uparjalnik.

3.3. Merjenje po Scovillovi lestvici

Skovil je merska enota za merjenje pekočega občutka. Tehniko je iznašel Wilbur Lincoln Scoville leta 1920 in se imenuje Scovillov organoleptični test. Po več testiranjih in dobljenih rezultatih so podatke zbrali in jih razvrstili v Scovillovo lestvico, ki jo še danes uporabljamo za približno oceno pekočega občutka določene vrste čilija.



Slika 12: Wilbur Lincoln Scoville
(vir: https://en.wikipedia.org/wiki/Wilbur_Scoville)

Metoda je zelo subjektivna in ni bila natančna, zato dandanes uporabljamo metodo HPLC, s katero lahko zelo natančno določimo količino prisotnega kapsaicina.

3.3.1. Metoda HPLC (High pressure liquid chromatography)

Kromatografija je separacijski proces. Kromatografska analiza je postopek, pri katerem najprej ločimo posamezne komponente vzorca in jih nato z ustrezno detekcijo s ciljem kvalitativne ali kvantitativne določitve analiziramo. (Žorž)

V osnovi gre za kromatografijo, pri kateri topilo dovedemo skozi določeno substanco ali raztopino. Substanca je topljenec na stacionarni fazi. Topilo potuje po poti, imenovani mobilna faza, zraven pa s sabo vleče raztopljene delce topljenca. Ti se ob poti odlagajo, odvisno od tega, kako topni so v topilu. Na tej osnovi lahko razločimo ugotovimo, kaj vse imamo v zmesi. Tako lahko v ekstraktu natančno določimo prisotnost kapsaicinoidov. (khanacademymedicine, 2013)

Ker v šolskem laboratoriju nimamo možnosti uporabe kromatografije HPLC, sva se za ekstrakte odločila uporabiti »klasično« metodo Scovillove lestvice. Ker sva želela primerjavo različnih ekstraktov in so bili preizkuševalci vseh raztopin isti, meniva, da sva kljub subjektivnosti metode pridobila zadovoljive rezultate.

3.3.2. Scovillov organoleptični test

Scovillov organoleptični test je prvi laboratorijski poskus merjenja pekočega občutka v čilijih, ki se ga je loteval Wilbur Scoville.

Alkoholni ekstrakt kapsaicinovega olja določenega čilija raztapljamo v vodni raztopini, ki jo okušajo preizkuševalci. Redčimo ga tako dolgo, dokler preizkuševalci več ne začutijo pekočega. Enota »Skovil« pove, kolikokrat smo ekstrakt razredčili. Če ima torej ekstrakt 20.000 skovilov, smo ga 20.000-krat razredčili z vodo, da nihče ni čutil pekočega občutka. Več Scovillovih enot ima čili, bolj je pekoča.

Najprej sva za vsakega izmed ekstraktov glede na okušanje pripravljenih koncentriranih raztopin določila približen razpon vrednosti skovilov.

Ugotovila sva, da se vrednost Scovillov za vsak ekstrakt nahaja v določenem območju:

- ekstrakt po Soxhletu škorpijon: 2–3 milijone skovilov
- ekstrakt po Soksletu habanero 0,5–1,2 milijona skovilov
- ekstrakt maceracije škorpijona 1–2 milijona skovilov
- ekstrakt škorpijona pri superkritičnem CO₂:okrog 10 milijonov skovilov

Nato sva vsakega izmed razponov razdelila na 4 vrednosti. Te vrednosti sva za vsakega izmed ekstraktov posebej pripravila. Priprava je potekala tako, da sva najprej pripravila 100.000-krat razredčeno raztopino in nato iz nje vse naslednje.

Po pripravi so prostovoljci preizkušali posamezne raztopine enega izmed ekstraktov. Prostovoljec je poskusil zvrhano žlico ekstrakta, ki je bil največkrat raztopljen, in je v primeru, da je zaznal kakršen koli pekoči občutek, to označil na listku. Če ni zaznal ničesar, je isto ponovil z naslednjo raztopino. To je ponavljal vse do raztopine, pri kateri je začutil pekoč občutek. Raztopine so bile razvrščene od najbolj razredčene do najmanj razredčene. Vsak prostovoljec je preizkus lahko izvedel le enkrat na dan in za en ekstrakt.

3.4. Potek dela

3.4.1. Zaščita

Pri delu s čilijem sva uporabljala kirurške maske in rokavice ter to svetujemo tudi drugim. Ob stiku čilijevega prahu ali ekstrakta s katerim koli delom telesa lahko pride do zelo neprijetnega, pekočega in dražljivega občutka.

3.4.2. Čilijev prah

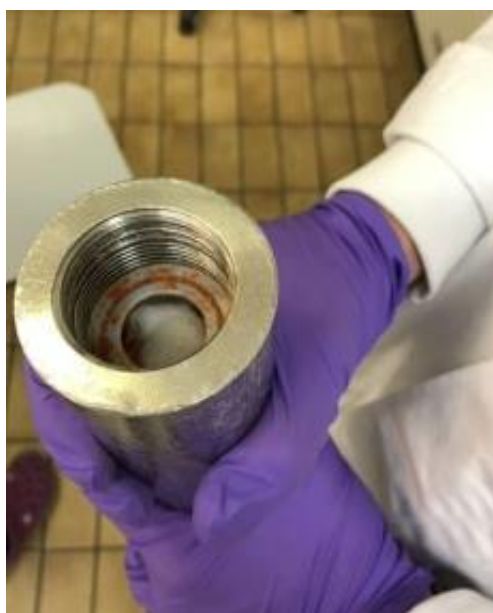
Za to nalogo sva se odločila uporabiti čilijev prah vrste »trinidad moruga škorpion« (v nadaljevanju uporabljam izraz »čili vrste škorpion«) in rumenega čilija vrste »habanero« (v nadaljevanju uporabljam izraz »čili vrste habanero«). Čili sva vzgojila in ga posušila s sušilcem hrane. Sušila sva ga na 75 °C približno 12 ur, dokler ob rahlem stisku s prsti ni bil popolnoma suh in krhek. Čili v taki obliki lahko shranimo in ga uporabimo kot začimbo, midva pa sva ga zmlela z mlinčkom za kavo in shranila v čiste kozarce za vlaganje, in sicer vsako vrsto čilija posebej.



Slika 13: Prah trinidad Moruga škorpionja (lasten vir)

3.4.3. Ekstrakcija kapsaicina s superkritično ekstrakcijo s CO₂

Najprej sva stehala epruveto (53,96 g). Odmerila sva 9,34 g prahu čilija vrste škorpion in ga prenesla v ekstrakcijsko posodo. Posodo smo tesno zatesnili in priključili superkritični aparaturi z jeklenko s CO₂.



Slika 14: Ekstrakcijska posoda s čilijem in vato (lasten vir)



Slika 15: Ekstrakcijski avtoklav, pripravljena za vodno kopel (lasten vir)



Slika 17: CO₂ v jeklenki (lasten vir)



Slika 16: Visokotlačna črpalka (lasten vir)

Posoda je bila potopljena v vodo, ki je imela konstantno temperaturo približno 40 °C (slika 20). CO₂ smo z visokotlačno črpalko stisnili na tlak 350 barov ter v kopeli segreli na 40°C. Superkritični CO₂ je tako potoval v ekstrakcijski avtoklav skozi čilijev prah in raztapljal kapsaicinoide. Ko je zapustil posodo, se je uplinil in zapustil zmes, ostal pa nam je ekstrakt kapsaicinoidov in drugih nepolarnih komponent iz čilijevega prahu, ki je pritekel v epruveto (slika 19). Epruveto z ekstraktom sva večkrat stehtala in na koncu dobila maso 54,59 g. Dobila sva približno 0,63 g ekstrakta. Izkoristek je bil le 6,7 %. Ker sva dobila veliko manjšo količino ekstrakta, kot pri ostalih ekstrakcijah in po vsej epruveti, sva jo zaprla in označila s ŠC (škorpijon – CO₂).



Slika 19: V vodi potopljena posoda (lasten vir)



Slika 18: Gosti ekstrakt (lasten vir)

3.4.4. Ekstrakcija kapsaicina po Soxhletu

Najprej sva vzela tulec za ekstrakcijo in vanj položila košček vate, da sva pokrila odprtino. Tulec z vato sva stehtala in vanj vsula 8,06 g čilijevega prahu vrste škorpijon. Tulec sva pokrila z vato in ga namestila v Soxhletov aparat. Stehtala sva bučko (130,18 g), v merilnem valju odmerila 250 ml etanola in ga nalila v bučko. Nato sva bučko namestila v vodno kopel, priključila ekstraktor in hladilnik ter prižgala grelnik. Etanol se je segreval, hlapel in tekkel skozi čilijev prah vrste škorpijon. Ekstrakcijo smo pustili potekati približno 6 ur oziroma tako dolgo, dokler ni etanol obkrožil po aparaturi vsaj 4-krat.

V bučki nam je ostala raztopina etanola, kapsaicinoidov, pigmentov in še nekaj ostalih komponent čilija. Položila sva jo na rotacijski uparjalnik in počakala, da sva dobila gosti rdeči ekstrakt. Bučko sva ponovno stehtala (133,10 g) in izračunala, da sva dobila približno 2,92 g ekstrakta. Izkoristek ekstrakcije je bil okrog 36,2 %, vendar moramo upoštevati, da so prisotne še druge komponente in nekaj neizhlapelega etanola. Ekstrakt sva prelila v majhno plastično posodico (slika 13) in jo označila s ŠS (škorpijon – Soxhlet).

Enako sva naredila s čilijem vrste habanero, ki sva ga imela 8,19 g. Po izhlapevanju etanola je bil ekstrakt bolj oranžne barve, bučka pa je tehtala 132,92 g, torej sva dobila 2,74 g ekstrakta. Prelila sva ga v plastično posodico in označila s HS (habanero – Soxhlet). V tem primeru je bil izkoristek 33,5 %



Slika 21: Ekstrakt čilija vrste škorpijon v plastični posodici (lasten vir)



Slika 20: Soxhletova aparatura (lasten vir)

3.4.5. Ekstrakcija kapsaicina z maceracijo

Najprej sva odmerila 3,5 grama čilijevega prahu vrste škorpion in v merilnem valju odmerila 250 ml etanola. Oboje sva natočila v 500-mililitrsko čašo in pokrila z aluminijevo folijo ter počakala en teden. Raztopino sva vsak dan vsaj enkrat zmešala. Po tednu dni sva topilo ločila z rotacijskim uparjalnikom. Etanol sva pustila izhlapevati, dokler ni ostal gosti rdeči ekstrakt. Masa bučke in ekstrakta po uparjanju je bila 131,15 g, torej sva dobila 0,97 g ekstrakta, ki sva ga odlila v majhno plastično posodico in jo označila s ŠM (škorpion – maceracija). Izkoristek je bil 27,7 %.

3.4.6. Izbiranje blažilcev

Sama sva že večkrat poskušala blažiti pekoči občutek na različne načine, a se je kljub temu težko odločiti, kaj je najbolj učinkovito sredstvo. Zato sva želela poskusiti s skupino prostovoljcev. Marsikdo ob zaužitju močnega čilija najprej seže po hladni vodi, ker domneva, da bo pekoči občutek tako uspešno ublažil. Veliko izkušenih jedcev pa trdi, da je najučinkovitejše blažilno sredstvo mleko. V nekaterih virih zasledimo, da bolj kot je mastna tekočina, bolj raztopimo kapsaicin in manj nas peče.

Ob iskanju podatkov in možnih načinov blaženja sva naletela na skupino »Hot pepper growing society« na družbenem omrežju Facebook. Skupina ima skoraj 30.000 članov, ki se s čilijem ukvarjajo že več let in si med sabo delijo izkušnje. Predstavil sem svoj namen, povprašal za nasvet in dobil 90 odgovorov, od tega več kot 20 različnih metod za blaženje učinkov čilija.

Na koncu sva se odločila, da bova izbrala naslednje:

- vodo (najhitrejša odločitev),
- mleko (najbolj svetovano),
- olivno olje (zaradi vsebnosti maščobe),
- ustno vodico (predlog se nama je zdel zanimiv),
- kruh (predlog se nama je zdel zanimiv).



Slika 22: Ustna vodica in olivno olje (lasten vir)

3.4.7. Pripravljanje raztopine za ugotavljanje učinkovitosti blažilcev

Ekstraktu čilija vrste škorpijon, dobljenem z ekstrakcijo po Soxhletu, sva dolila nekaj kapljic etanola in zmešala, da sva dobila manj gosto raztopino. V merilni valj sva odmerila 10 ml etanola in ga prenesla v 50-mililitrsko čašo. Nato sva v čašo z 10 ml etanola s kapalko dodala eno kapljico etanolne raztopine ekstrakta. Novo raztopino sva dobro premešala.

Zatem sva z 1000-mililitrskim merilnim valjem odmerila 500 ml vode in jo prenesla v 1000-mililitrsko čašo. V čašo sva prilila dobro zmešano raztopino in tako sva dobila približno 10.000-krat razredčen ekstrakt čilija vrste škorpijon s srednje močnim pekočim občutkom.

3.4.8. Preizkušanje blažilnega učinka z razredčeno raztopino

Pripravljeno raztopino sva v šolski jedilnici ponujala naključnim prostovoljcem, ki so zaužili zvrhana žlica pripravljene raztopine in takoj za tem ocenili pekoči občutek na subjektivni lestvici od 0 do 10, na kateri vsaka vrednost pomeni drugačno moč pekočega občutka.

- 0 → Pekočega občutka ni.
- 1–2 → Pekoči občutek je zelo rahel.
- 3–5 → Pekoči občutek je dobro zaznaven, vendar ni zelo dražeč.
- 6–8 → Pekoči občutek je močan, oseba čuti potrebo po hitrem vdihavanju zraka.
- 9 → Pekoči občutek je zelo neprijeten in dražeč, vendar se da zdržati.
- 10 → Pekoči občutek je nevzdržen, oseba postane panična in ne more mirovati.

Po zaužitju raztopine so prostovoljci preskusili enega od blažilcev pekočega občutka (kozarec mleka, kozarec vode, zvrhana žlica ustne vodice, zvrhana žlica olivnega olja ali majhen kos kruha) in ocenili pekoči občutek po isti lestvici, medtem ko je bil blažilec še v ustih in znova 5 sekund po tem ko so blažilec pogoltnili (ustno vodico in olje pa so izpljunili). Prostovoljci so lahko opravili preizkus enkrat dnevno, za le en blažilec, ker bi se lahko rezultati zaradi adaptacije receptorjev pri drugem in naslednjih okušanjih razlikovali.

V treh dneh sva zbrala 100 odgovorov in prišla do nepričakovanih rezultatov.

3.4.9. Preizkušanje blažilnega učinka s čilijevim prahom

Odločila sva se, da bova poskus ponovila s čilijevim prahom, ki je bolj pekoč kot razredčena raztopina ekstrakta. Ker je čili vrste škorpijon na vrhu Scovillove lestvice in bi lahko povzročil preveč nelagodja, sva ga izvedla s prahom čilija vrste habanero.

Prostovoljce sva opozorila, da bodo preizkušali veliko bolj pekoč vzorec. Čeprav sva prostovoljce iskala prek socialnih omrežij, nisva našla veliko pogumnih posameznikov. Zbrala sva 15 prostovoljcev, ki so bili pripravljene poskusiti. Skupaj smo določili, kateri blažilec bo kdo uporabil, tako da bil vsak blažilec uporabljen trikrat.

Zbrali smo se v učilnici in vsak prostovoljec je s plastično žlico zaužil približno 0,03 g čilijevega prahu vrste habanero. Vsakemu prostovoljcu sva pripravila tudi kozarec z 1 dl vode, vnaprej določeni blažilec, pisalo in listke s številkami 0, 1, 2, 3 in 4.

- Tisti, ki so uporabljali vodo, so imeli na voljo še prazen kozarec in 3 litre vode.
- Tisti, ki so uporabljali mleko, so imeli na voljo še prazen kozarec in 3 litre mleka.
- Tisti, ki so uporabljali olivno olje, so imeli na voljo še prazen kozarec in liter olivnega olja.
- Tisti, ki so uporabljali ustno vodico, so imeli na voljo še prazen kozarec in liter ustne vodice.
- Tisti, ki so uporabljali kruh, niso imeli na voljo ničesar drugega.

Pripravila sva si štoparico in ob istem času so vsi naenkrat zaužili čilijev prah, vendar ga niso smeli pogoltniti. Po 10 sekundah so vsi zaužili vodo in jo izpljunili nazaj v kozarec, da bi preprečili morebitne želodčne krče in smo začeli štopati. Ko so jo izpljunili, so pod številko 0 napisali, kako zaznavajo pekoči občutek. Po pretečenih 30 sekundah so pod številko 1 napisali, kako zaznavajo pekoči občutek in so lahko uporabili blažilec. Po pretečeni minuti so svoje zaznavanje zabeležili pod številko 2, po minuti in pol pod številko 3, po dveh minutah pod številko 4.

Po blaženju močnega čilija se lahko pekoči občutek po določenem času vrne. Da bi temu lažje sledila, sva se odločila meriti čas.



Slika 23: Nekaj prostovoljcev, preden smo izvedli poskus s prahom (lasten vir)

3.4.10. Priprava raztopin za Scovillov organoleptični test

Za vsak ekstrakt sva pripravila raztopine na podoben način. V čašo sva z merilnim valjem odmerila 10 ml etanola in ju stehtala. V etanol sva dodala približno 0,1 g ekstrakta. Ker je zelo težko dobiti natančno 0,1 g ekstrakta, sva ga zatehtala med 0,09 in 0,11 g. Nato sva zmes dobro premešala.

Nato sva pripravljeno raztopino z vodo razredčila do 500 ml. Tako sva v 500 ml raztopine imela približno 0,1 g ekstrakta.

Pri ekstraktu čilija vrste škorpigon sva zatehtala 0,0902 g, torej je ekstrakt bil približno 5500 krat razredčen. Raztopino sva poskusila z čisto, plastično žlico in ugotovila, da je le-ta še zelo pekoča. Ker ima po literaturi, čili vrste škorpigon okrog 1,5 milijonov skovilov, sva raztopino še redčila. Najprej sva pripravila milijon krat razredčeno raztopino, ki je še vedno bila pekoča. Postopek sva ponavljala in pri 3 milijon krat razredčeni raztopini midva nisva več zaznala pekočega občutka. Zato sva se odločila pripraviti 4 raztopine. Prva razredčena 3 milijon krat, druga 2,8 milijon krat, 2,6 in 2,4 milijon krat.

Vse razredecene raztopine sva pripravljala iz prve raztopine, ki je že bila približno 5000 krat razredčena. Če bi pripravljala raztopine iz ekstrakta, bi le-tega za 1 liter raztopine potrebovala tako malo, da ga ne bi bilo mogoče natančno zatehtati. Primer, za 2 milijon krat razredčeno raztopino v enem litru, bi rabila 0,0005 g ekstrakta. Tako sva raje redčila prvo raztopino. Kar se da natančno sva odpipetirala 2,77 ml prve raztopine in jo razredčila do 1L in tako dobila 2 milijon krat razredčeno raztopino.

Podobno sva pripravila tudi raztopine ostalih ekstraktov.

3.4.11. Scovillov organoleptični test

Prostovoljnim preizkuševalcem sva pripravila 4 postaje. V vsaki postaji sva postavila 4 raztopine posameznega ekstrakta.

Preizkuševalci so imeli pred sabo 4 pollitrške čaše s pripravljenimi raztopinami in ob njimi plastično žlico, pisalo in papir. Raztopine so bile razvrščene od leve najbolj razredčene proti desni najmanj razredčeni. Poskušali so zvrhano žlico raztopine od leve proti desni, iz vsake čaše s čisto žlico in označili, z x znakom takoj ko so začutili pekoč občutek in zaključili s pokušanjem. Ena oseba je lahko opravila test samo enkrat in na eni postaji.



Slika 24: prostovoljci pred organoleptičnim testom (lasten vir)



Slika 26: pripravljen organoleptičen test (lasten vir)



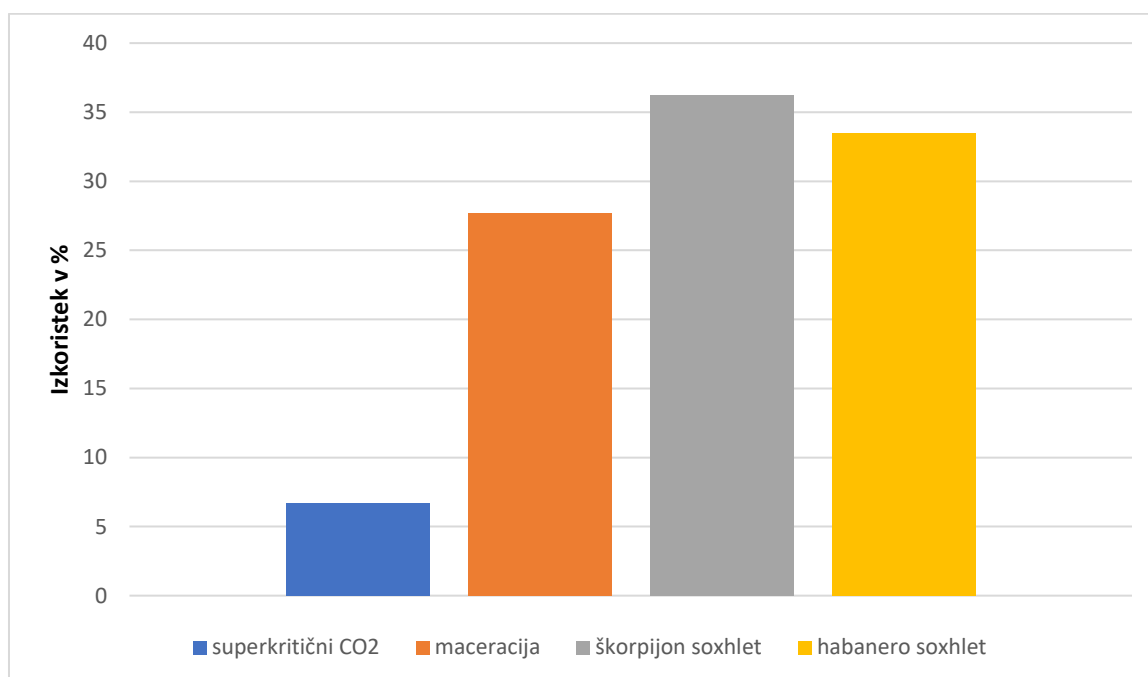
Slika 25: rezultati po testu (lasten vir)

4. REZULTATI

4.1. Rezultati izkoristka posamezne ekstrakcije

Pri svoji raziskovalni nalogi sva primerjala tri različne metode ekstrakcije, in sicer ekstrakcijo s superkritičnim CO₂, maceracijo in ekstrakcijo po Soxhletu. Le-to sva izvedla z dvema različnima vrstama čilija. S tehtanjem izhodne surovine in končnega ekstrakta sva dobila izkoristke ekstrakcij.

Graf 1: Izkoristki ekstrakcij



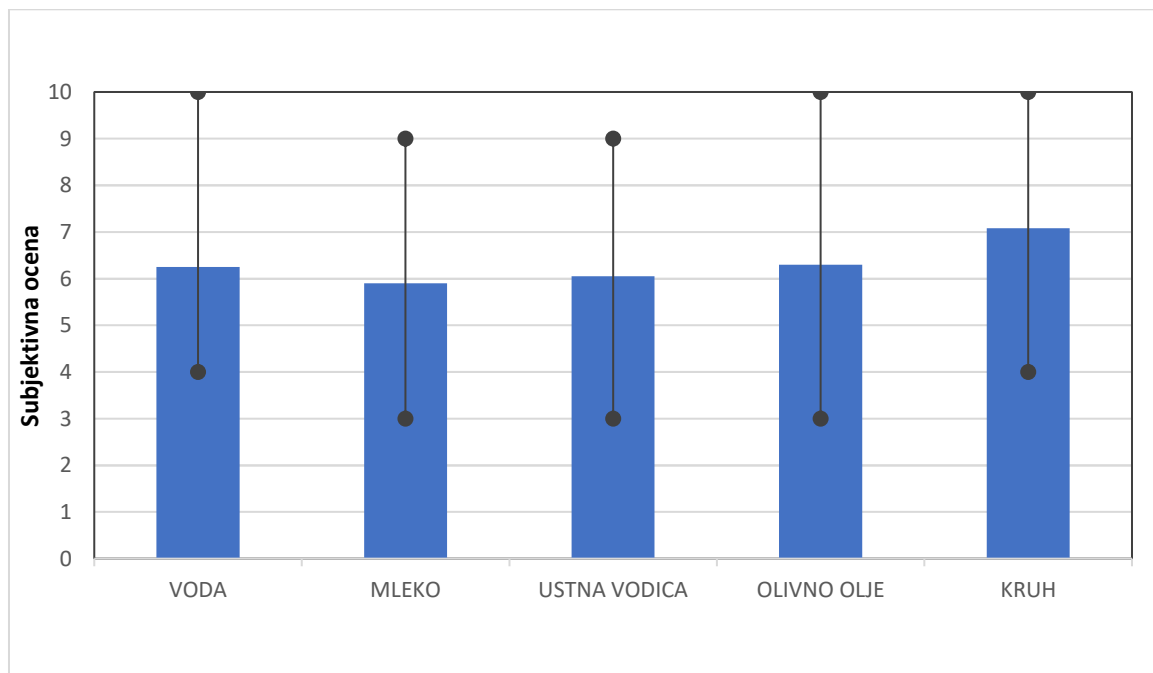
Iz grafikona 1 je razvidno, da smo glede na količino praha, ki smo ga porabili, največ ekstrakta dobili iz ekstrakcije po Soxhletu. Izgleda, da je imela najmanjši izkoristek ekstrakcija s superkritičnim CO₂, vendar to ne pomeni, da vsebuje najmanj kapsaicinoidov. Organoleptični test je namreč pokazal, da je ekstrakt, ki je nastal z ekstrakcijo s superkritičnim CO₂, daleč najmočnejši od vseh ostalih.

4.2. Rezultati preizkuševanja blažilnega učinka

Preizkusa se je skupaj udeležilo 85 prostovoljcev. Med njimi se jih je 20 odločilo za blaženje uporabiti vodo, 20 mleko, 20 ustno vodico, 13 olivno olje in 12 kruh. Rezultati so v nadaljevanju predstavljeni s pomočjo stolpčnega diagrama, na katerem je prikazana povprečna subjektivna ocena pekočega občutka za določeni blažilec ter razpon med največjo in najmanjšo vrednostjo.

4.2.1. Pekoč občutek pred zaužitjem blažilca

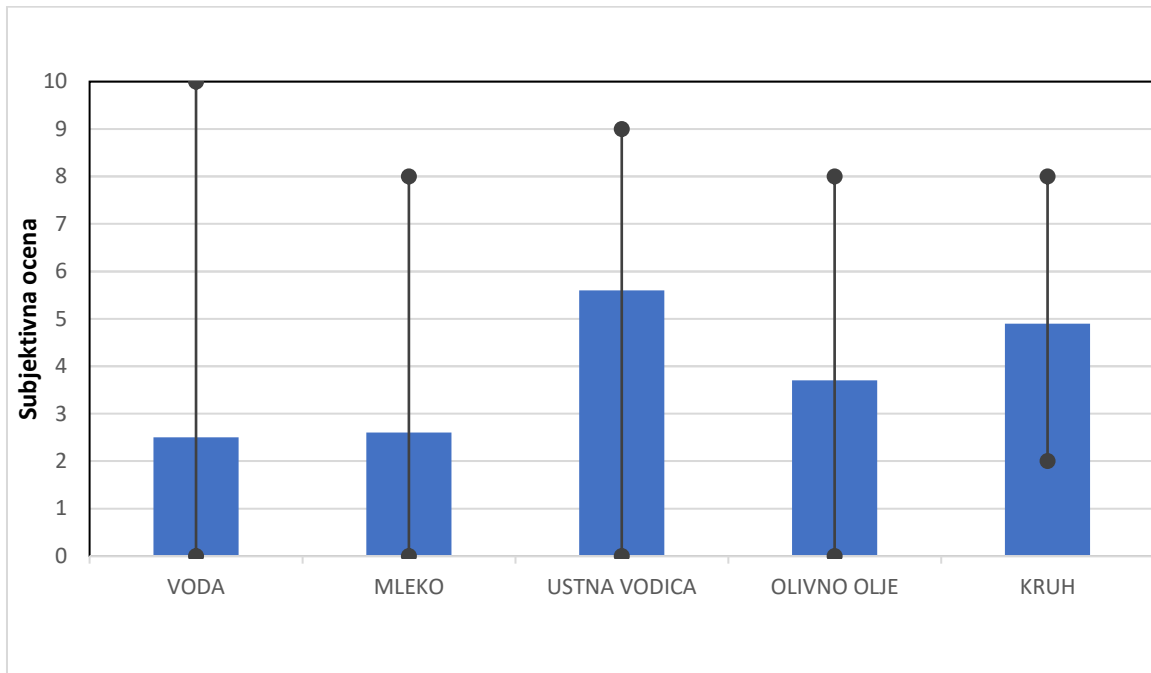
Graf 2: stolpčni prikaz občutka pekočine pred zaužitjem blažilca



Pri prvem ocenjevanjem takoj po zaužitju raztopine čilija so pekočino raztopine vsi preizkuševalci ocenili podobno, in sicer s povprečnim rezultatom 6,3. Rezultati so bili v razponu od 10 do 3, pri čemer se je povprečna vrednost med skupinami razlikovala le minimalno, kar je bilo tudi pričakovano, saj so vsi preizkušali isto raztopino.

4.2.2. Pekoč občutek, ko je blažilec v ustih

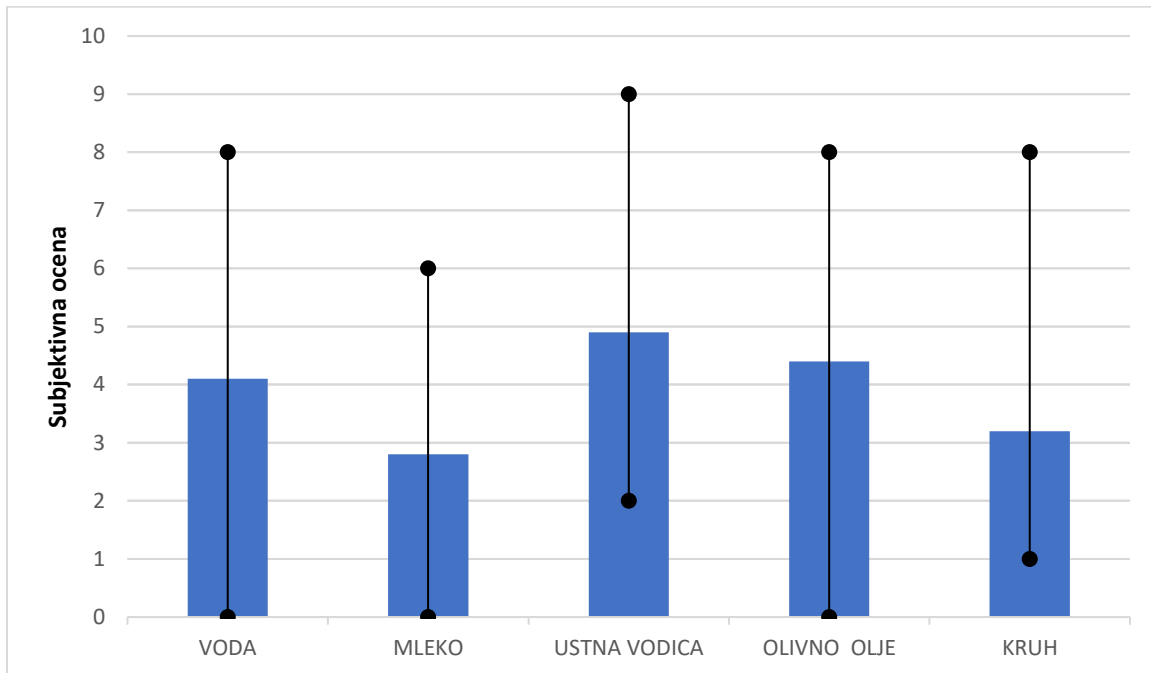
Graf 3: stolpčni prikaz občutka pekočine, ko je blažilec v ustih



Pri drugem ocenjevanju, ki je potekalo, medtem ko so imeli ocenjevalci v ustih blažilec, so se rezultati že začeli razlikovati. Testiranci so najbolje ocenili vodo in mleko, pri katerih je bila povprečna ocena 2,5. Sledila sta oljčno olje s povprečnim rezultatom 3,7 in kruh s povprečnim rezultatom 4,9. Na zadnje mesto se je uvrstila ustna vodica s povprečnim rezultatom 5,6, ki je kot edini izmed blažilcev pri 4 izmed 20 oseb pekoč občutek celo povečala.

4.2.3. Pekoč občutek 5 sekund po zaužitju blažilc

Graf 4: stolpčni prikaz občutka pekočine 5 sekund po blaženju



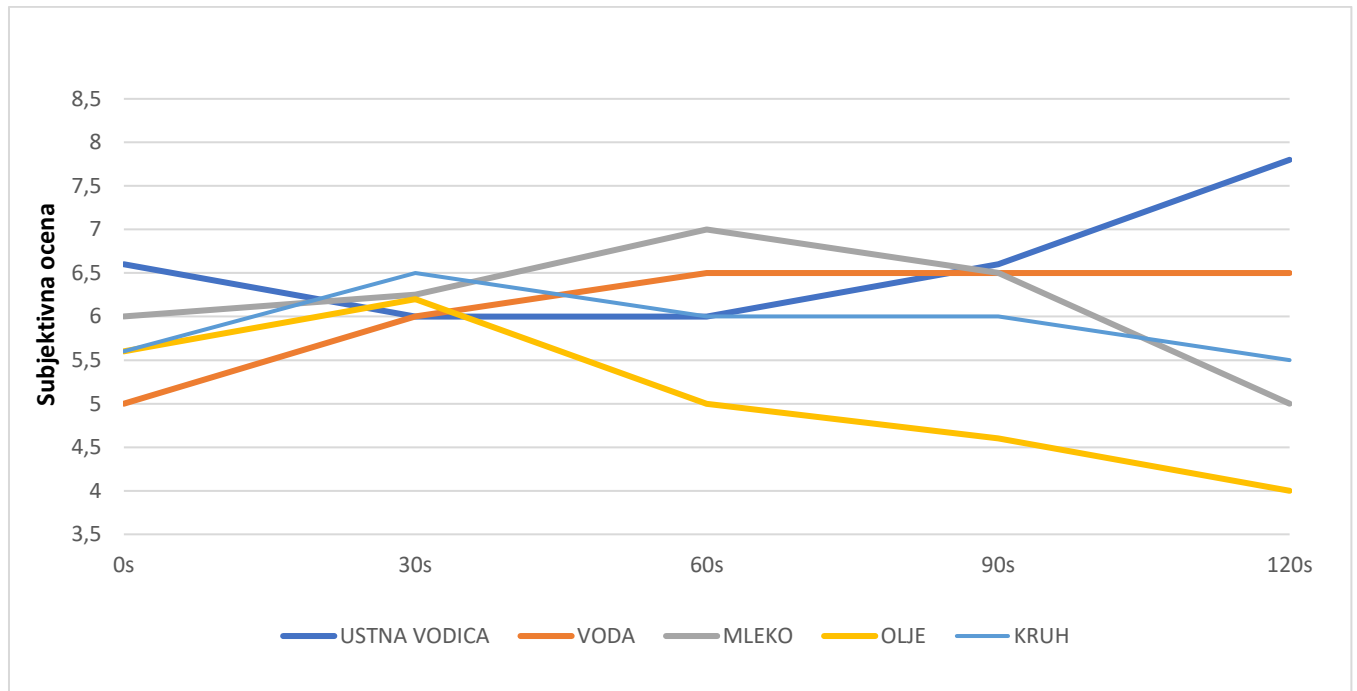
Pri zadnjem ocenjevanju, ki je potekalo 5 sekund po zaužitju blažilca, so testiranci najbolj ocenili mleko s povprečnim rezultatom 2,6. Sledili so kruh s povprečno oceno 3,2, voda s povprečno oceno 4,1 in olje s povprečno oceno 4,4. Najslabše se je tudi tukaj izkazala ustna vodica s povprečno oceno 4,9.

Iz rezultatov je razvidno, da voda pomaga le za kratek čas in še to le, dokler je v ustih, mleko pa občutek lajša zelo dobro. Ustna vodica daje še hujši občutek, olje pa je bilo manj učinkovito od vode. Kruh je pekoči občutek blažil postopoma in zelo počasi.

4.3. Rezultati blaženja v odvisnosti od časa pri večjem občutku pekočega s prahom habanero

Pri preizkusu je skupaj sodelovalo 15 ljudi. Vsakega izmed blažilcev so testirale tri osebe.

Graf 5: občutek pekočega s habanero prahom, z različnimi blažilci v odvisnosti od časa



Pri poskusu z ustno vodico je bila povprečna začetna ocena pekočega občutka 6,6. Ta vrednost se je nato med 30 in 60 sekundami po vnosu zmanjšala na 6. Proti koncu pa se je pri 90 s vrednost najprej izenačila z začetno, nato pa jo je na koncu preseгла, saj je ocena pri 120 sekundah znašala 7,8.

Pri uporabi vode je bila začetna vrednost najnižja, in sicer 5. Po 30 sekundah blaženja je vrednost narasla na 6 in nato po 60 sekundah na 6,5, na kateri je tudi ostala do konca poskusa.

Pri uporabi mleka je bila začetna vrednost 6, po 30 sekundah je narasla na 6,25 in po 60 sekundah na 7. Nato je do pretečenih 120 sekund postopoma padala do vrednosti 5.

Pri uporabi olja je bila začetna vrednost 5,6, po 30 sekundah pa je narasla na 6. Nato je do konca poskusa oziroma do pretečenih 120 sekund postopoma padala do vrednosti 4.

Pri kruhu je bila začetna vrednost 5,5, ki je po 30 sekundah narasla na 6,5 in nato padla na 6 pri 60 sekundah, kjer je tudi ostala do 90 sekund nato pa padla na vrednost 5,5 pri 120 sekundah.

Iz grafa opazimo, da je pekoči občutek naraščal. Ko je od vnosa preteklo 30 sekund, so preizkuševalci začeli uporabljati blažilec, pri čemer nobeden ni začel delovati tako hitro kot olje. Pekoči občutek je pri večini naraščal do 60 sekund po vnosu. Pri mleku je nato začel občutek zelo padati, podobno se je zgodilo tudi pri olju, voda pa na pekočino ni imela velikega vpliva. Ustna vodica je pekoči občutek na začetku rahlo blažila, ko pa so jo preizkuševalci izpljunili, je pekoči občutek začel naraščati. Kruh je sicer deloval počasi, vendar učinkovito.

Če te rezultate primerjamo s prejšnjimi, ugotovimo, da tukaj voda ni imela učinka, najbrž, ker je imel kapsaicin v raztopini vezan etanol in se je lažje raztopil. Mleko je bilo pri obeh zelo učinkovito, ustna vodica pa pri obeh neučinkovita oziroma je stanje celo poslabšala. Olivno olje je pri raztopini učinkovalo le rahlo, pri prahu pa precej močneje. Kruh je v obeh primerih deloval počasi.

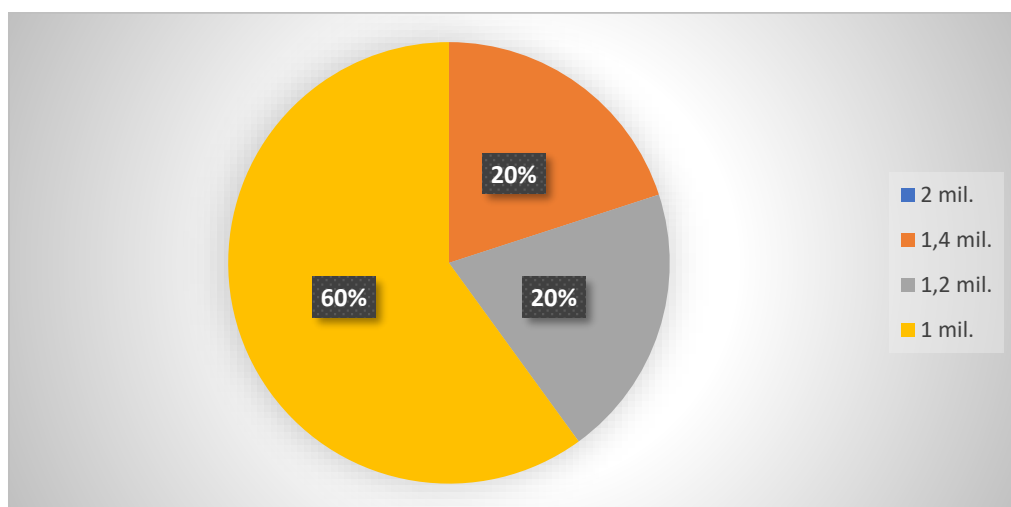
Ker sva imela pri tej meritvi v primerjavi s prejšnjo (100 oziroma 20 za vsak blažilec) zelo malo prostovoljcev (15 oziroma 3 za vsak blažilec), se zavedava, da ti rezultati niso zelo natančni in da so med temi prostovoljci le tisti, ki dobro prenašajo pekočo hrano. Sva pa kljub temu lahko še bolj potrdila učinkovitost oziroma neučinkovitost določenih blažilcev.

4.4. Rezultati merjenja skovilov

Pri določanju skovilov je sodelovalo 50 prostovoljcev. Ekstraktu čilija vrste škorpijon, pridobljenem z maceracijo, je skovile določalo 10 prostovoljcev, ekstraktoma čilija vrste škorpijon in vrste habanero, pridobljenima po Soxhletu, pa je skovile določalo 14 prostovoljcev. Ekstraktu čilija vrste škorpijon, pridobljenem z ekstrakcijo s superkritičnim CO₂, pa je skoville določalo 12 prostovoljcev. Rezultati so predstavljeni v nadaljevanju s tortnim diagramom.

4.4.1. Ekstrakt čilija vrste škorpijon pridobljen z maceracijo

Graf 6: tortni prikaz, koliko preizkuševalcev je pri določeni razredčini čutilo pekoče pri ekstraktu dobljenim z maceracijo čilija vrste škorpijon.

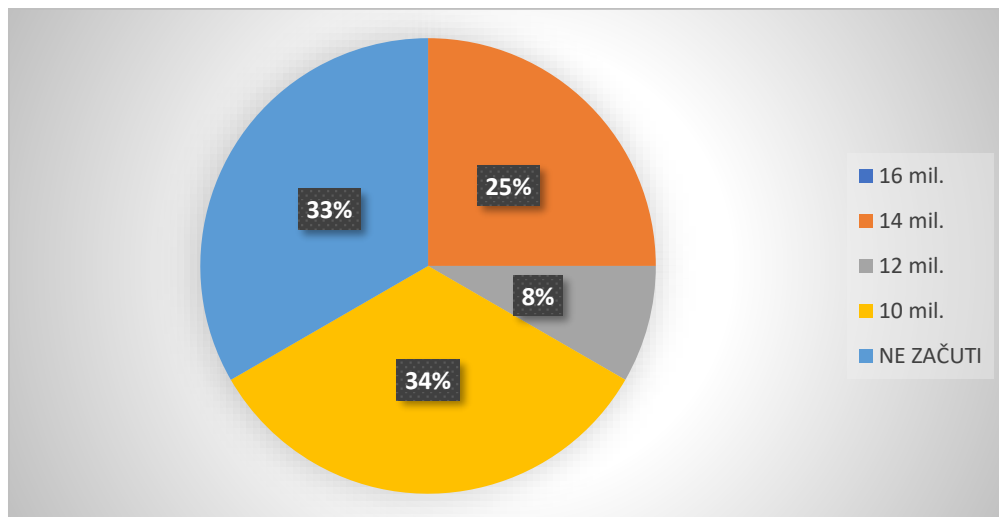


Od skupaj deset prostovoljcev sta po dva začutila pekočino pri raztopini razredčeni 1,4 in 1,2 milijon-krat. Največ in sicer šest prostovoljcev pa je pekočino začutilo pri milijon-krat razredčeni raztopini. 2 milijon-krat razredčenega vzorca ni zaznal nihče.

Po Scovillovi metodi bi temu ekstraktu pripisali med 1 do 1,2 milijona skovilov

4.4.2. Ekstrakt čilija vrste škorpijon pridobljen z ekstrakcijo superkričnim CO₂

Graf 7: : tortni prikaz, koliko preizkuševalcev je pri določeni razredčini čutilo pekoče pri ekstraktu dobljenim s superkrično CO₂ ekstrakcijo iz čilija vrste škorpijon

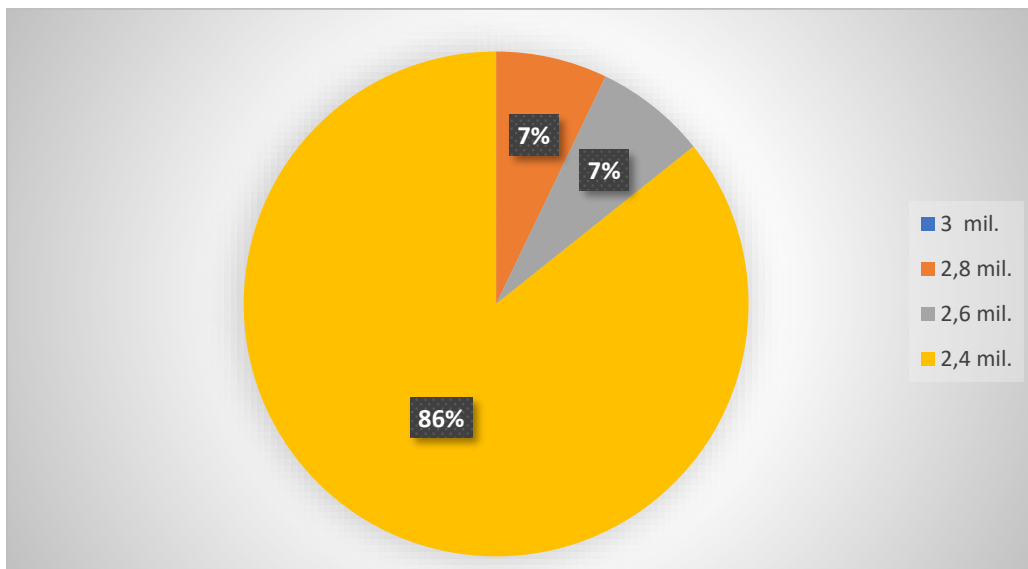


Od skupaj dvanajst testnih oseb so tri začutile pekočino že pri 14 milijon-krat razredčeni raztopini. Eden testiranec je začutil pekočino pri 12 milijon krat razredčeni raztopini. Štirje pri 10 milijon-krat razredčeni raztopini. Prav tako pa štirje testiranci niso začutili pekočine v nobenem izmed podanih vzorcev. 16 milijon-krat razredčenega vzorca ni zaznal nihče.

V tem primeru zelo težko določimo skovile. Z enakimi težavami so se srečevali v zgodovini, danes pa to zmerimo s HPLC tehniko. Za raziskovalno nalogo bo dovolj, da ocenimo vrednost skovilov na okrog 10 milijonov, saj je to veliko več kot pri ostalih metodah..

4.4.3. Ekstrakt čilija vrste škorpijon pridobljen z ekstrakcijo po Soxhletu

Graf 8: tortni prikaz, koliko preizkuševalcev je pri določeni razredčini čutilo pekoče pri ekstraktu dobljenim z ekstrakcijo po Soxhletu iz čilija vrste škorpijon

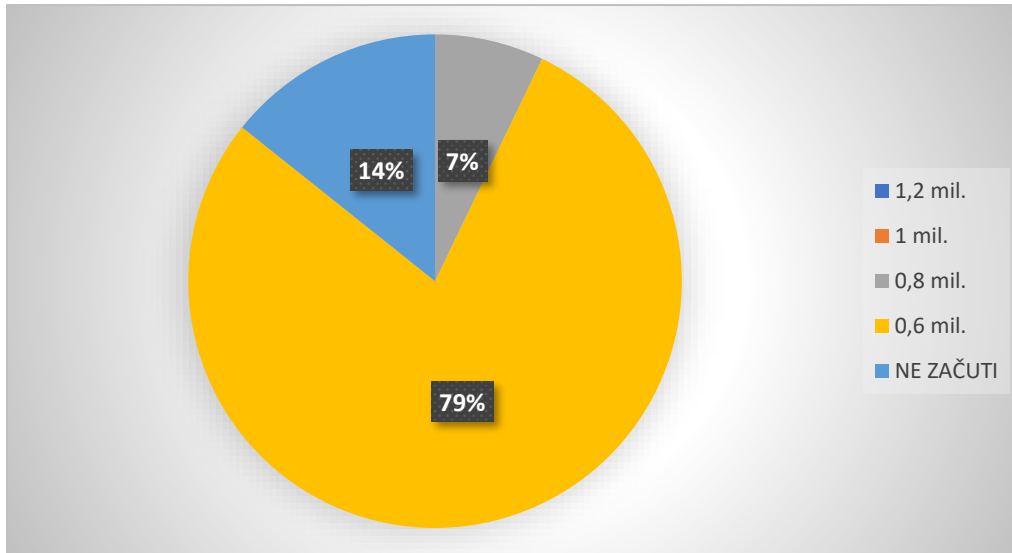


Raztopine ekstrakta čilija vrste škorpijon, pridobljenega po Soxhlet metodi je preizkusilo 14 prostovoljcev. Od tega je eden zaznal pekočino pri 2,8 milijon-krat razredčeni raztopini. Prav tako je eden zaznal pekoč občutek pri 2,6 milijon-krat razredčeni raztopini. Večina oziroma 12 preizkuševalcev je le-to zaznalo pri 2,4 milijon-krat razredčeni raztopini. 3 milijon-krat razredčenega vzorca ni zaznal nihče.

Iz diagrama lahko razberemo, da ima ekstrakt približno 2,4 milijone skovilov.

4.4.4. Ekstrakt čilija vrste habanero dobljen z ekstrakcijo po Soxhletovu

Graf 8: tortni prikaz, koliko preizkuševalcev je pri določeni raztopini čutilo pekoče pri ekstraktu dobljenim z ekstrakcijo po soxhletu iz rumenega habanera



Med 14 preizkuševalci je 1 zaznal pekoč občutek pri 0,8-milijonkrat razredčeni raztopini, enajst pa jih je pekočino zaznalo pri 0,6-milijonkrat razredčeni raztopini. 1,2-milijonkrat in 1-milijonkrat razredčena vzorca ni zaznal nihče, 2 osebi pa nista zaznala ničesar v nobenem izmed vzorcev.

Iz tega grafa lahko določimo, da ima ekstrakt približno 600 000 skovilov.

4.4.5 Primerjava pekočine ekstraktov s pekočino ploda

Pri maceraciji čilija vrste škorpigon sva dobila ekstrakt, kateremu smo določili vrednost 1,2 milijona skovilov. Ta vrednost je enaka skovilom določenim v literaturi za plodove čilija vrste škorpigon, ki znaša med 1-1,4 milijona skovilov.

Pri ekstrakciji čilija vrste škorpigon z kritičnim CO₂ sva dobila najmočnejši ekstrakt s približno 10 milijoni skovilov, kar je skorajda 10x več skovilov kot jih ima po literaturi plod samega čilija (1-1,4 milijona skovilov).

Pri ekstrakciji po Soxhletu sva dobila ekstrakt iz čilija vrste škorpigon z vrednostjo 2,4 milijona skovilov, kar je približno 2x več od samega plodu (1-1,4 milijona skovilov).

Pri ekstrakciji vrste habanero po Soxhletu sva dobila ekstrakt z vrednostjo 600 000 skovilov kar je približno 2x več skovilov od samega plodu (100 000- 350 000 skovilov). (Scishow, 2018)

5. INTERPRETACIJA REZULTATOV

Po vseh opravljenih poskusih, sva prišla do kar nekaj odgovorov na najina vprašanja, ki sva si jih zastavila v začetku. Posledično lahko ovrednotiva tudi svoje hipoteze.

1. HIPOTEZA: Najbolj pekoči ekstrakt bomo dobili pri ekstrakciji s superkritičnim CO₂

Hipotezo sva **POTRDILA**.

Ekstrakcija s superkritičnim CO₂ je bila res najučinkovitejša, saj sva ekstrakt morala razredčiti več kot 10-milijonkrat, da je pekoči občutek povsem izginil.

Pri ekstrakciji s superkritičnim CO₂ so se v CO₂ raztopile samo zelo nepolarne molekule, med katere sodi tudi kapsaicin. Tako se je iz čilijevega prahu izločil veliko večji delež kapsaicinoidov brez drugih molekul. Izkoristek ekstrakcije je bil zelo nizek (6,7 %), vendar so se izločili predvsem kapsaicinidi, ki so povzročitelji pekočega občutka.

Pri ekstrakciji po Soxhletu in pri maceraciji, ki sva ju izvedla z etanolom, sva v ekstraktu poleg kapsaicinoidov dobila tudi veliko drugih komponent. Izkoristek ekstrakcije je bil večji kot pri ekstrakciji s superkritičnim CO₂, vendar so bili ekstrakti bolj blagi. Etanol je delno polarno topilo, zato predvidevava, da se je raztopilo več drugih, v etanolu boljše topnih komponent, in manj pekoče komponente kapsaicina.

2. HIPOTEZA: Ekstrakt čilija »trinidad moruga scorpion« bo bolj pekoč od ekstrakta čilija »habanero yellow«

Hipotezo sva **POTRDILA**. Ekstrakt čilija trinidad moruga scorpion sva razredčila večkrat kot ekstrakta čilija rumeni habanero, da je pekoči občutek povsem izginil.

Čili vrste trinidad moruga scorpion je tudi v literaturi na vrhu Scovillove lestvice, habanero pa se uvršča približno na sredino, torej je res manj pekoč. Primerjala sva rezultate ekstraktov obeh vrst čilija, pridobljenih po Soxhletu, in tudi s subjektivno metodo določanja skovilov sva ekstrakt čilija vrste škorpion morala precej bolj razredčiti kot ekstrakt čilija vrste habanero, da pekočega občutka ni bilo zaznati. Po najinih meritvah je imel ekstrakt čilija habanero 600.000 skovilov, ekstrakt čilija vrste škorpion pa 2,4 milijona skovilov.

Ker sva primerjala ekstrakta, pridobljena po isti metodi, lahko trdimo, da čili z višjo koncentracijo kapsaicinoidov daje tudi bolj pekoč ekstrakt.

- 3. HIPOTEZA:** Najbolj blažilni učinek pri pekočem občutku v ustih po zaužitju raztopine, bo imelo mleko.

Hipotezo sva **POTRDILA**. Pri zaužitju blago pekoče raztopine so vsi uporabljeni »blažilci« znižali občutek pekočega, vendar se je mleko izkazalo za najbolj učinkovito.

- 4. HIPOTEZA:** Mleko bo imelo najboljši blažilni občutek tudi pri zaužitju bolj pekočega pripravka (raztopina z večjo koncentracijo ali prah čilija).

Hipotezo sva **POTRDILA**. Najbolj učinkovita sta bila mleko in olivno olje.

Pri ugotavljanju najboljšega učinka blaženja sva prišla do več možnih rešitev, ki so bile nekoliko odvisne od moči pekočega občutka.

Voda je pri rahlo pekoči raztopini pokazala dobro učinkovitost, ker smo imeli pekočo komponento raztopljeno v majhni količini etanola. Voda in etanol se dobro mešata in tako smo z vodo to raztopino še redčili oziroma spirali in pekoč občutek se je manjšal. Pri zaužitju bolj pekočega prahu pa voda ni imela učinka, saj se prah in kapsaicin v vodi ne raztapljata. Vodo kot blažilec pekočega okusa priporočava, ko nimamo na voljo ničesar drugega, vendar jo je treba v tem primeru piti konstantno.

Mleko se je pri obeh poskusih izkazalo za učinkovito sredstvo. V začetku se pekoči občutek sicer rahlo poveča, nato pa mleko neprijeten občutek učinkovito zniža. Vendar mleko žal za mnoge ni rešitev, saj ga veliko ljudi ne mara ali pa zanje pitje mleka ni priporočljivo zaradi alergij ali laktozne intolerance.

Podobno kot mleko se je dobro izkazalo tudi olivno olje. Kot sva ugotovila pri ekstrakciji, so kapsaicini dobro topni v nepolarnih topilih. Maščoba torej raztaplja kapsaicinoide in tako preprečuje njihov stik z jezikom. Sklepava, da bi katera koli maščoba imela podoben učinek. Slaba stran olja pa je, da maščoba za večino ljudi ni prijetnega okusa.

Po rezultatih je ustna vodica najslabša izbira za blaženje. Ustna vodica v ustih daje občutek hlajenja, kar privede do draženja jezika in zato postane pekoči občutek še izrazitejši.

Kruh je učinkovit v obeh primerih, vendar deluje počasi. Sklepava, da je človek pri kruhu obremenjen z več funkcijami, zato na pekoč občutek rahlo pozabi. Kruh žvečimo, začutimo sladek okus, jezik pa ga začne mehanično obdelovati. Lahko je dobra alternativa mleku ali olju, vendar deluje zelo počasi.

Dobra alternativa bi lahko bil kruh še z mlečnim ali katerim koli mastnim namazom. Za to so potrebne še dodatne raziskave.

6. ZAKLJUČEK

Po opravljenih poskusih sva ugotovila da je najučinkovitejša ekstrakcija s superkritičnim CO₂, najmanj učinkovita pa maceracija. Ugotovila sva tudi, da je ekstrakt bolj pekoč, če uporabimo močnejši čili oziroma čili, ki se nahaja na vrhu Scovillove lestvice. Pri blaženju pekočega občutka sta bili najučinkovitejši sredstvi uporaba olja in mleka.

Svoje ugotovitve sva strnila v štiri uporabne nasvete, ki jih lahko upošteva vsakdo, ki ima namen eksperimentirati s čilijem

- Za ekstrakcijo je najprimernejši najmočnejši čili.
- Če nimate dostopa do ekstrakcije po Soxhletu ali ekstrakcije s superkritičnim CO₂, je za pripravo ekstrakta primerna tudi maceracija, vendar bo ta malo manj pekoč, pridobljena količina pa bo majhna.
- Če hočete blažiti pekoči občutek, sta za to primernejša mleko in kruh.
- Za blaženje nikar ne uporabljajte ustne vodice ali podobnih tekočin. Pekočega občutka nikoli ne poskušajte blažiti z alkoholom.

Med delom so se nama že začela porajati nova vprašanja.

- Kako še bolje izolirati kapsaicin in kako ga pridobiti v kristalinični obliki?
- Ali obstaja še kateri boljši način, s katerim bi lahko blažili pekoči občutek?
- Ali na učinek blaženja morda vpliva temperatura blažilca?

Navedena vprašanja lahko predstavljajo nadaljnje smernice za nadgradnjo najine raziskave.

Najin namen je bil razširiti znanje o čiliju, saj ga imava rada in verjameva, da je uživanje čilija zdravo. Vendar je koristno poznati tudi metode, s katerimi lahko blažimo pekoči občutek, če ga zaužijemo preveliko količino. Svoje znanje bova širila med poznavalce, ki že dolga leta razpravljajo o učinkovitosti blažilcev, pa tudi med nepoznavalce. V ta namen bova napisala članek za šolski Raziskovalni reflektor in posnela prispevek za šolsko televizijsko oddajo Aktualno na GFML. Rezultate bova objavila tudi v skupini na Facebooku in upava, da bova z vsemi naštetimi načini dosegla čim širši krog ljudi.

VIRI

1. Asist. Katja Kramberger, mag. farm. in Izr. prof. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm. (2019) RASTLINSKI IZVLEČKI EKSTRAKCIJE S SUPERKRITIČNIMI TEKOČINAMI IN NJIHOVA UPORABA (online) (citirano 19.1.2020) dostop na naslovu: <http://www.sfd.si/uploads/datoteke/kramberger.pdf>
2. Sabina Uran (2015) Ekstrakcija protimikrobnega eteričnega olja iz vrtnega ognjiča (*Calendula officinalis*) s superkritičnimi fluidi, magistrsko delo 10-14 (online) (citirano 19.1.2020) dostop na naslovu: <https://dk.um.si/Dokument.php?id=82747>
3. Amra Perva-Uzunalić, Mojca Škerget, Bernd Weinreich, Željko Knez (2003) Food chemistry: Extraction of chilli pepper (var. Byedige) with supercritical CO₂: Effect of pressure and temperature on capsaicinoid and colour extraction efficiency (povzetek dostopen na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460300565X>)
4. David Kovačič, Peter Robič, Miha Hotko (2015) PRIMERJAVA RAZLIČNIH METOD EKSTRAKCIJE LUBJA BELE VRBE IN ANALIZA SESTAVE EKSTRAKTOV, raziskovalna naloga 30-33 (online) (citirano 20.1.2020) dostop na naslovu: <https://www.knjzница-celje.si/raziskovalne/4201504266.pdf#page=30&zoom=100,90,138>
5. Manca Mrvar (2012) SUPERKRITIČNE TEKOČINE, seminarsko delo (online) (citirano 20.1.2020) dostop na naslovu: http://mafija.fmf.uni-lj.si/seminar/files/2012_2013/SUPERKRITICNE_TEKOCINE.pdf
6. Teja Boček (2013) Ekstrakcija antioksidativnih komponent iz kurkumine (*Curcuma longa*), diplomska naloga 6,7,11,12,15 (online) (citirano 20.1.2020) dostop na naslovu: <https://core.ac.uk/download/pdf/67576399.pdf>
7. Nobuhiro Hagura, Harry Barber in Patrick Haggard (2013) Food vibrations: Asian spice sets lips trembling (online) (citirano 20.1.2020) dostop na naslovu: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rspb.2013.1680>
8. Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann BE, Basbaum AI, Julius D. (1998) The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli.(online) (citirano 20.2.2020) dostop na naslovu: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9768840?dopt=AbstractPlus>
9. Rakić Nikola (2015) Dva obraza pekoč paprike 9-11, (online) (citirano 6.2.2020) dostop na naslovu: https://zpm-mb.si/wp-content/uploads/2015/06/S%C5%A0_Biologija_Dva_obraza_peko%C4%8De_paprike.pdf
10. Osvald Jože (1999) Gojenje paprike, 1. natis, Šempeter pri Gorici, ISBN 961-6325-00-0 (str. 2-5)
11. SciShow (16. maj 2018). The Real Reason Peppers are Spicy (video) dostop na: https://www.youtube.com/watch?v=ZE_OlyBhr1A
12. SciShow (5. april 2018). Do Spicy Food Lovers Live Longer? (video) dostop na <https://www.youtube.com/watch?v=8C3pEzqr6J0>

13. TED- Ed (10. marec 2014). The science of spiciness- Rose Evelth (video) dostop na https://www.youtube.com/watch?v=qD0_yWgifDM
14. Khanacademymedicine (17. september 2013). Basics of chromatography | Chemical processes | MCAT | Khan Academy (video) dostop na: <https://www.youtube.com/watch?v=SnbXQTTTHGs4>
15. Altomare DF¹, Rinaldi M, La Torre F, Scardigno D, Roveran A, Canuti S, Morea G, Spazzafumo L. (julij 2006) Red hot chili pepper and hemorrhoids: the explosion of a myth: results of a prospective, randomized, placebo-controlled, crossover trial. Dostop na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16708161>
16. Tamara Rosenbaum and Sidney A. Simon (2007) TRPV1 Receptors and Signal Transduction. Dostop na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5260/>
17. Žorž Mirjan (1991) HPLC, Ljubljana: smaazaložba 22239232

VIRI SLIK

- Slika 1: Doma vzgojen čili (lasten vir)
- Slika 2: Navadna paprika (vir: https://www.alibaba.com/product-detail/EXPORT-STANDARD-FARM-VIETNAM-FRESH-CAPSICUM_62003292809.html)
- Slika 3: Manjši plodovi vrste Capsicum annum (vir: <https://www.aquaponicsshop.eu/en/product/chilli-peper-numex-twilight-capsicum-annuum/>)
- Slika 4: Zrel in nezrel jalapeno (vir: <https://www.pepperscale.com/red-jalapeno-vs-green-jalapeno/>)
- Slika 5: Od leve proti desni: rumeni habanero, čokoladni čili in škorpiljon s pripadajočimi začimbami v ozadju (lasten vir)
- Slika 6: Prerez najbolj pekočega čilija doslej: Carolina reaper (vir: <https://slo-tech.com/forum/t216895/699>)
- Slika 7: Molekula kapsaicina (vir: <https://pepperfreak.wordpress.com/tag/capsicum/>)
- Slika 8: Mletje čilija z zaščito (lasten vir)
- Slika 9: Tehnica in čaša (lasten vir)
- Slika 10: Zatesnjena ekstrakcijska posoda s čilijem (lasten vir)
- Slika 11: Ekstrakcija po Soxhletu (vir: https://en.wikipedia.org/wiki/Soxhlet_extractor)
- Slika 12: Wilbur Lincoln Scoville (vir: https://en.wikipedia.org/wiki/Wilbur_Scoville)
- Slika 13: Prah trinidad Moruga škorpiljona (lasten vir)
- Slika 14: Ekstrakcijska posoda s čilijem in vato (lasten vir)
- Slika 15: Ekstrakcijska posoda, pripravljena za vodno kopel (lasten vir)
- Slika 16: CO₂ v jeklenki (lasten vir)
- Slika 17: Visokotlačna črpalka (lasten vir)
- Slika 18: Gosti ekstrakt (lasten vir)
- Slika 19: V vodi potopljena posoda (lasten vir)
- Slika 20: Soxhletova aparatura (lasten vir)
- Slika 21: Ekstrakt čilija vrste škorpiljon v plastični posodici (lasten vir)
- Slika 22: Ustna vodica in olivno olje (lasten vir)
- Slika 23: Nekaj prostovoljcev, preden smo izvedli poskus s prahom (lasten vir)
- Slika 24: prostovoljci pred organoleptičnim testom (lasten vir)
- Slika 25: pripravljen organoleptičen test (lasten vir)
- Slika 26: rezultati po testu (lasten vir)