

Određivanje količine fenolnih spojeva u listovima velike crnjuše - *Erica arborea* L.

Maleš, Željani; Hazler Pilepić, Kroata; Bojić, Mirza; Jebrini, Samy

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2009, 65, 217 - 223**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:182705>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-01**



Repository / Repozitorij:

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



Određivanje količine fenolnih spojeva u listovima velike crnjuše - *Erica arborea* L.

ŽELJAN MALEŠ¹, KROATA HAZLER PILEPIĆ¹, MIRZA BOJIĆ², SAMY JEBRINI¹

¹Zavod za farmaceutsku botaniku i ²Zavod za farmaceutsku kemiju
Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Determination of the content of phenolic compounds in the leaves of tree heath - *Erica arborea* L.

A b s t r a c t – In this work determination of the content of phenolic acids, flavonoids, total polyphenols, nontannic polyphenols and tannins was carried out in the leaves of *Erica arborea* collected from different localities of Dalmatian islands. The content of investigated compounds was determined using spectrophotometric methods. Results of quantitative analysis showed significant differences in the quantities of studied compounds, which are depended on locality, climatic and pedological factors. Leaves from Mljet contained the highest quantity of all polyphenolic compounds – phenolic acids (3.51%), flavonoids (0.91%), total polyphenols (21.56%), nontannic polyphenols (7.97%) and tannins (13.59%). Leaves collected at Badija contained the lowest quantity of total polyphenols (11.13%) and tannins (6.28%), while the leaves from Pakleni otoci contained the lowest amount of phenolic acids (1.41%), flavonoids (0.52%) and nontannic polyphenols (4.32%). Variations in the content of polyphenols were confirmed using statistical analysis.

(¹Department of Pharmaceutical Botany and ²Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia)

UVOD

Velika crnjuša – *Erica arborea* L., vazdazeleni je grm ili drvo visine 1–4 m koje pripada porodici *Ericaceae*. Mlade grančice prekrivene su gustim, kratkim, bijelim dlakama. Listovi su igličasti, dolaze u pršljenu po 3–4 zajedno, dužine 3–5 mm, tamnozeleni i bez dlaka. Cvjetovi su bijeli, 2–4 mm dugi; vjenčić se sastoji od 5 sraslih latica, zvonastog je oblika, s uzdignutim režnjevima. Grančice pri vrhovima nose mnoštvo cvjetova skupljenih u grozdaste cvatove (slika 1.). Plod je tobolac sa 4 pretinca i 4 zaklopca (1, 2).

Vrsta *E. arborea* (velika crnjuša) raširena je u Primorju i Dalmaciji, dok u našim kontinentalnim krajevima raste vrsta *E. carnea* L. – proljetna crnjuša, maleni vazdazeleni grm s igličastim listovima i ružičastim, rjeđe bjelkastim, cvjetovima (3).



Slika 1. *Erica arborea* L. – velika crnjuša

Listovi i cvjetovi vrste *E. arborea* upotrebljavali su se u narodnoj medicini kao diuretici, uroantiseptici i protiv zatvora. Ova biljka također se primjenjivala i kod zmijskih ugriza (4, 5).

U listovima i cvjetovima velike crnjuše dokazana je prisutnost fenolnih kiselina i flavonoida. Izolirani su derivati flavonoida: (-)-epikatehin te flavonolski heterozid kvercitrin (5).

Ispitan je i antioksidativni učinak etilacetatnog ekstrakta listova i cvjetova vrste *E. arborea* na modelu β – karoten – linoleinska kiselina. Pokazalo se da ekstrakt ima snažan antioksidativni učinak što se pripisuje visokom sadržaju polifenola. Isti ekstrakt pokazao je i snažan utjecaj na slobodne radikale i superoksidni anion, snažniji čak i od L-askorbinske kiseline. Također je istražen i potvrđen kelirajući učinak na metale etilacetatnog ekstrakta listova i cvjetova ove biljke (5).

Korijenje velike crnjuše predstavlja najbolji materijal za izradu lula, jer zbog sadržaja silicijeve kiseline vrlo teško izgara, dok se vrlo tvrdo i teško drvo upotrebljava za izradu rezbarija (4).

Cilj ovoga rada bilo je spektrofotometrijsko određivanje količine fenolnih kiselina, flavonoida, ukupnih polifenola, netaninskih polifenola i trjeslovina u listovima biljke *E. arborea* skupljene s različitih nalazišta te statistička analiza dobivenih rezultata.

EKSPERIMENTALNI DIO

Materijal za istraživanje

Materijal za istraživanje sastojao se od usitnjenih listova velike crnjuše – *E. arborea* skupljenih s različitih nalazišta dalmatinskih otoka: Badija (24.07.2007.), Lastovo (25.07.2007.), Mljet (28.07.2007.) i Pakleni otoci (13.08.2007.).

1. Identifikacija biljnog materijala

Identitet istražene biljne vrste izvršen je u Zavodu za farmaceutsku botaniku Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i potvrđen je ispitivanjem vanjske i unutarnje građe skupljenih uzoraka (6).

2. Određivanje količine fenolnih spojeva

Kvantitativna analiza fenolnih kiselina provedena je spektrofotometrijskom metodom prema propisu Europske farmakopeje (7). Za određivanje količine flavonoida primjenjena je spektrofotometrijska metoda prema Christu i Mülleru (8), dok je kvantitativna analiza ukupnih polifenola, netaninskih polifenola i trjeslovina provedena kombinacijom kolorimetrijske metode i metode kožnog praška (9).

Količine fenolnih spojeva u svim uzorcima određene su tri puta, a iz dobivenih rezultata izračunate su srednje vrijednosti i standardne devijacije (9–14).

Za mjerenje apsorbancija pri određivanju svih navedenih fenolnih spojeva uporabljen je UV-VIS spektrofotometar Varian Cary 50 Bio (proizvod tvrtke Varian Inc., SAD) Zavoda za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Za usporedbu količine fenolnih spojeva između listova biljke *E. arborea* skupljene s različitih nalazišta primjenjen je Studentov *t*-test – program Statistica 6.0, Copyright© Statsoft, Inc. 1984–2001.

REZULTATI I RASPRAVA

1. Kvantitativna analiza fenolnih kiselina

Rezultati kvantitativne analize fenolnih kiselina u listovima biljke *E. arborea* prikazani su u tablici 1. i na slici 2.

Tablica 1. Sadržaj fenolnih kiselina (%)^a u ispitivanim uzorcima

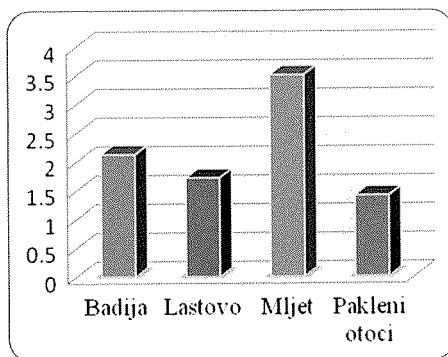
Uzorak	Nalazište	Datum skupljanja	Sadržaj fenolnih kiselina (%) ^a
1	Badija	24.07.2007.	2,13 ± 0,07 ^{b,c,d}
2	Lastovo	25.07.2007.	1,72 ± 0,05 ^{b,e,f}
3	Mljet	28.07.2007.	3,51 ± 0,11 ^{c,e,g}
4	Pakleni otoci	13.08.2007.	1,41 ± 0,04 ^{d,f,g}

a = $\bar{x} \pm SD$ (n = 3)

Statistički značajna razlika između listova biljke *E. arborea* sa

signifikantnošću: ^{b,d} *p* < 0,02, ^c *p* < 0,01, ^e *p* < 0,005, ^f *p* < 0,05, ^g *p* < 0,001.

Istraživanje je pokazalo da su listovi istraživane biljne vrste sadržavali 1,41–3,51% fenolnih kiselina. Najveću količinu fenolnih kiselina (3,51%) sadržavali su listovi s Mljeta, dok je najmanja količina određena u listovima skupljenim na Paklenim otocima (1,41%). Ova značajna razlika u sadržaju fenolnih kiselina potvrđena je Studentovim *t*-testom s



Slika 2. Grafički prikaz sadržaja fenolnih kiselina u listovima biljke *E. arborea*

visokom signifikantnošću ($p < 0,001$). Statističkom analizom potvrđena je i značajna razlika u sadržaju fenolnih kiselina između svih ostalih uzoraka.

2. Kvantitativna analiza flavonoida

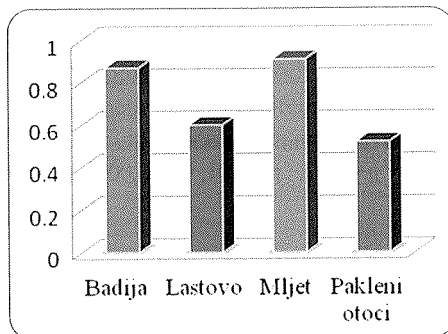
Rezultati kvantitativne analize flavonoida prikazani su u tablici 2. i na slici 3.

Tablica 2. Sadržaj flavonoida (%)^a u ispitivanim uzorcima

Uzorak	Nalazište	Datum skupljanja	Sadržaj flavonoida (%) ^a
1	Badija	24.07.2007.	$0,87 \pm 0,01$ ^{b,c}
2	Lastovo	25.07.2007.	$0,60 \pm 0,00$ ^{b,d,e}
3	Mljet	28.07.2007.	$0,91 \pm 0,01$ ^{d,f}
4	Pakleni otoci	13.08.2007.	$0,52 \pm 0,00$ ^{c,e,f}

a = $\bar{x} \pm SD$ (n = 3)

Statistički značajna razlika između listova biljke *E. arborea* sa signifikantnošću: ^{b,d,e} $p < 0,05$, ^{c,f} $p < 0,02$.



Slika 3. Grafički prikaz sadržaja flavonoida u listovima biljke *E. arborea*

Istraživanje je pokazalo da su listovi biljke *E. arborea* sadržavali 0,52–0,91% flavonoida. Najveću količinu flavonoida (0,91%) sadržavali su listovi skupljeni na Mljetu, a najmanju listovi skupljeni na Paklenim otocima (0,52%). Listovi s Badije sadržavali su 0,87% flavonoida, što je vrlo blizu količini flavonoida u listovima skupljenim na Mljetu, dok su listovi skupljeni na Lastovu sa sadržajem od 0,60% flavonoida bliži količini flavonoida u listovima s Paklenih otoka. Studentovim t-testom utvrđeno je da nema značajne razlike u sadržaju flavonoida između listova skupljenih na Badiji i Mljetu. Statistički je potvrđena značajna razlika s visokom signifikantnošću ($p < 0,02$, $p < 0,05$) u sadržaju flavonoida između svih ostalih uzoraka.

3. Kvantitativna analiza ukupnih polifenola, netaninskih polifenola i trjeslovina

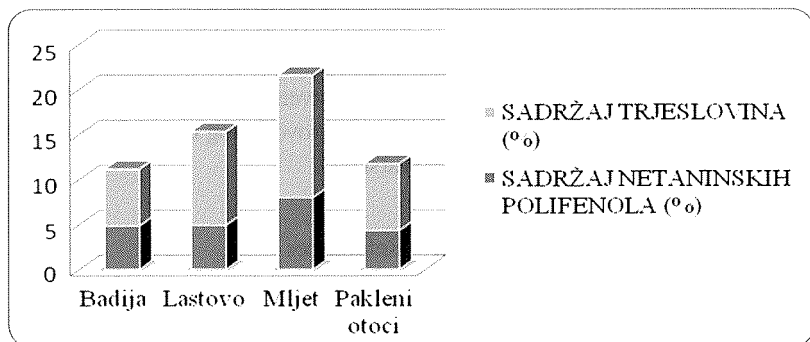
Rezultati kvantitativne analize ukupnih polifenola, netaninskih polifenola i trjeslovina prikazani su u tablici 3. i na slici 4.

Tablica 3. Sadržaj ukupnih polifenola, netaninskih polifenola i trjeslovina (%)^a u ispitivanim uzorcima

Uzorak	Nalazište	Datum skupljanja	Sadržaj ukupnih polifenola (%) ^a	Sadržaj netaninskih polifenola (%) ^a	Sadržaj trjeslovina (%) ^a
1	Badija	24.07.2007.	11,13 ± 0,08 ^{b,c,d}	4,85 ± 0,09 ^{b,i}	6,28 ± 0,01 ^{l,m,n}
2	Lastovo	25.07.2007.	15,30 ± 0,07 ^{b,e,f}	4,91 ± 0,09 ^j	10,39 ± 0,02 ^{l,o,p}
3	Mljet	28.07.2007.	21,56 ± 0,14 ^{c,e,g}	7,97 ± 0,11 ^{b,j,k}	13,59 ± 0,03 ^{m,o,r}
4	Pakleni otoci	13.08.2007.	11,73 ± 0,11 ^{d,f,g}	4,32 ± 0,12 ^{i,k}	7,41 ± 0,01 ^{n,p,r}

a = $\bar{x} \pm SD$ (n = 3)

Statistički značajna razlika između listova biljke *E. arborea* sa signifikantnošću: ^{b,c,g,h,k,m,o,r} $p < 0,005$, ^{d,i,j} $p < 0,05$, ^{e,f,n,p} $p < 0,01$.



Slika 4. Grafički prikaz udjela trjeslovina i netaninskih polifenola u sadržaju ukupnih polifenola u listovima biljke *E. arborea*

Istraživanje je pokazalo da su listovi sadržavali 11,13–21,56% ukupnih polifenola. Najveću količinu ukupnih polifenola (21,56%) sadržavali su listovi skupljeni na Mljetu, a najmanju listovi s Badije (11,13%). Sadržaj netaninskih polifenola u uzorcima listova kretao se od 4,32 do 7,97%. Najveću količinu netaninskih polifenola (7,97%) sadržavali su listovi skupljeni na Mljetu, dok je najmanja količina određena u listovima skupljenim na Paklenim otocima (4,32%). Listovi skupljeni na Badiji i Lastovu sadržavali su vrlo sličnu količinu netaninskih polifenola (4,85%, odnosno 4,91%), koja je nešto viša od količine netaninskih polifenola u listovima skupljenim na Paklenim otocima. Sadržaj trjeslovina u uzorcima listova kretao se od 6,28 do 13,59%. Najveću količinu trjeslovina (13,59%) sadržavali su listovi skupljeni na Mljetu, a najmanju listovi s Badije (6,28%). Studentovim *t*-testom utvrđeno je da nema značajne razlike u sadržaju netaninskih polifenola između listova s Badije i onih skupljenih na Lastovu te između listova skupljenih na Lastovu i onih skupljenih na Paklenim otocima. Statistički je potvrđena značajna razlika s visokom signifikantnošću ($p < 0,005$, $p < 0,01$, $p < 0,05$) u sadržaju ukupnih polifenola, netaninskih polifenola i trjeslovina između svih ostalih uzoraka.

Istraživana biljna vrsta sadrži visoku količinu polifenola kao biološki vrlo aktivnih spojeva te bi mogla naći primjenu u suvremenoj fitoterapiji.

ZAKLJUČAK

U ovom radu spektrofotometrijskim metodama određena je količina polifenolnih spojeva u listovima biljke *E. arborea* te je napravljena statistička usporedba njihovih količina.

Dobiveni rezultati pokazuju da listovi biljke *E. arborea* skupljeni na Mljetu sadrže najveće količine fenolnih kiselina, flavonoida, ukupnih polifenola, netaninskih polifenola i trjeslovina, odnosno svih polifenolnih sastavnica. Listovi skupljeni na Badiji sadrže najmanju količinu ukupnih polifenola i trjeslovina, dok listovi s Paklenih otoka sadrže najmanje količine fenolnih kiselina, flavonoida i netaninskih polifenola.

Takve različitosti u sastavu uvjetovane su klimatološkim i pedološkim razlikama pojedinih nalazišta, a potvrđene su statističkom analizom.

Zahvala. – »Prikazani rezultati proizašli su iz znanstvenog projekta (Farmakobotanička i kemijska karakterizacija cvjetnica hrvatske flore), provođenog uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.«

Literatura – References

1. M. Blamey, C. Grey-Wilson, Mediterranean wild flowers, Domino Books Ltd, Jersey 1993, 166.
2. O. Polunin, Flowers of Greece and the Balkans, Oxford University Press, New York 1997, 355.
3. K. Dubravec, Botanika, Sveučilišna naklada d.o.o., Zagreb 1991, 417.

4. T. Petauer, Leksikon rastlinskih bogastev, Tehniška založba Slovenije, Ljubljana 1993, 198.
5. M. Ay, F. Bahadori, M. Öztürk, U. Kolak, G. Topçu, Fitoterapia **78** (2007) 571.
6. R. Domac Flora Hrvatske – Priručnik za određivanje bilja (II. izdanje), Školska knjiga, Zagreb 2002, 251.
7. European Pharmacopoeia, Fifth Edition (Eur. Ph. 5.0), Vol. **2**, Council of Europe, Strasbourg Cedex, 2004, 1990.
8. B. Christ, K. H. Müller, Arch. Pharm. **293** (1960) 1033.
9. Ž. Males, V. Bilušić Vundać, M. Plazibat, D. Lazić, I. Gregov, Farm. Glas. **63** (2007) 155.
10. Ž. Males, Acta Pharm. **48** (1998) 215.
11. Ž. Males, I. Žuntar, B. Nigović, M. Plazibat, V. Bilušić Vundać, Acta Pharm. **53** (2003) 139.
12. Ž. Males, M. Plazibat, I. Gregov, Farm. Glas. **64** (2008) 1.
13. Ž. Males, M. Babac, K. Hazler Pilepić, M. Zovko, Farm. Glas. **64** (2008) 169.
14. Ž. Males, F. Šarić, Farm. Glas. **65** (2009) 143.

Primljeno 10. veljače 2009.