

# Istraživanje kemijskog sastava patuljaste sviline - *Zostera noltii* Hornem.

---

Maleš, Željani; Plazibat, Miško

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2000, 56, 109 - 118**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:482722>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-03**



Repository / Repozitorij:

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



## Istraživanje kemijskog sastava patuljaste sviline – *Zostera noltii* Hornem.

ŽELJAN MALEŠ<sup>1</sup> i MIŠKO PLAZIBAT<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zavod za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb i <sup>2</sup>Botanički zavod Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

### Investigation of chemical composition of *Zostera noltii* Hornem.

*S u m m a r y* – Luteolin-7-O-glucoside, caffeic acid, chlorogenic acid and rosmarinic acid were identified in the methanolic extract of the leaves of *Zostera noltii* Hornem. Pyrogallol tannins were proved in the aqueous extract upon the colours and precipitates with metallic salts and gelatine. The results of the spectrometric determination showed that leaves contain 0.27% flavonoids, 4.25% total polyphenols and 0.85% tannins. The content of ash was found to be 29.66%.

(Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia, and Department of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia).

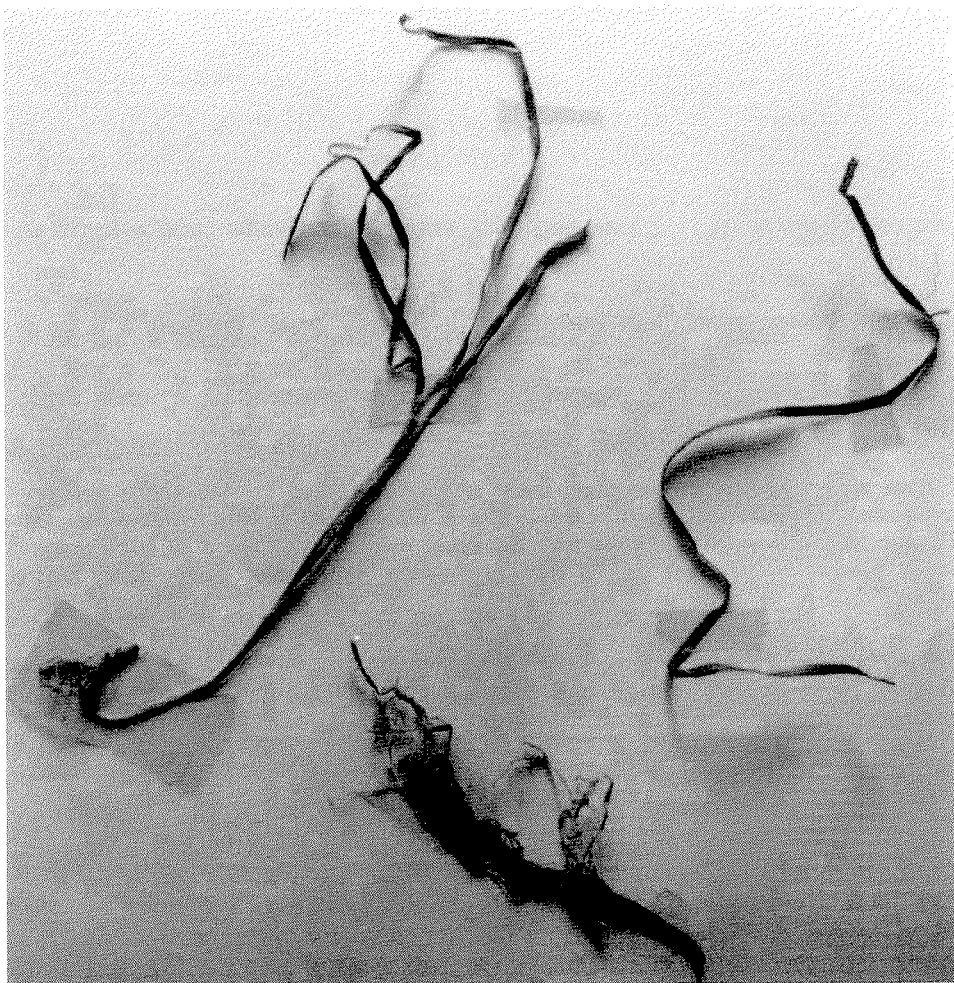
### UVOD

*Zostera noltii* Hornem. (syn. *Z. minor* Nolte ex Rchb., *Z. nana* Mertens) – patuljasta svilina je morska, zeljasta trajnica iz porodice *Zosteraceae* reda *Najdales*, razreda *Liliatae* (1,2). U Njemačkoj je poznata pod nazivom Zwerg-Seegras, a engleski, francuski i talijanski nazivi za ovu biljnu vrstu su: dwarf grass-wrack, zostère naine i piccola aliga (3,4).

*Z. noltii* raste na pješčanom ili muljevitom morskom dnu, do 10 m dubine. Višegodišnja je zeljasta biljka s podankom na kojem se nalazi adventivno korijenje i jednostavni, nerazdijeljeni listovi koji su uski, linealno vrpčasti, kao u trava, s jednom središnjom i dvije postrane žile, dugački 5–60 cm, a široki 0,5–3,0 mm (Slika 1.).

Cvjetne stapke mogu biti do 10 cm dugačke, a na njima se u ožujku i travnju razvijaju cvjetni klasovi obavijeni ovojem u obliku lisnog rukavca i sastavljeni od mnogo cvjetova poredanih u dva reda. Svaki pojedini cvijet sastoji se iz jednog prašnika i jednog tučka. Plodovi koji dozrijevaju u jesen su jednosjemeni nepucavci s tamnosmeđim sjemenkama veličine oko 2 mm (1,3,5).

Patuljasta svilina je rasprostranjena u izvantropskim morima osobito uz obale gotovo cijele Europe. Najčešće raste u velikim sastojinama tvoreći



Slika 1. *Zostera noltii* Hornem. – Patuljasta svilina

guste podvodne livade. U nas su takve podmorske livade posebno dobro razvijene uz obale Istre i Kvarnerskog otočja (3,6,7).

Dosadašnjim istraživanjima dokazano je da patuljasta svilina sadrži brojne kemijske spojeve: flavonoide, fenolne kiseline, trjeslovine, pektin zosterin, masne kiseline, sterole, ugljikohidrate i minerale (8–10).

Već u srednjovjekovnoj Veneciji upotrebljavale su se osušene biljke kao materijal za pakiranje lomljivih predmeta te za punjenje madraca (3). U novije vrijeme istražuje se terapijska primjena pektina zosterina, koji pokazuje izraženu antimikrobnu aktivnost (10). Značajna su istraživanja patuljaste sviline i za proučavanje različitih čimbenika koji utječu na morske ekosustave i čistoću mora (11–13).

Cilj ovog našeg rada bio je utvrditi nazočnost flavonoida, fenolnih kiselina i trjeslovina; kvantitativno analizirati flavonoide i trjeslovine te odrediti količinu pepela u listovima patuljaste sviline.

## EKSPERIMENTALNI DIO

### *Biljni materijal*

Materijal za ispitivanje sastojao se od listova patuljaste sviline – *Zostera noltii* Hornem., skupljenih u Stobrečkom zaljevu, u blizini ušća rijeke Žrnovnice, 28. kolovoza 1997. godine.

#### 1. Identifikacija biljnog materijala

Identitet ispitivane biljne vrste potvrđen je ispitivanjem vanjske i unutarnje građe skupljenog uzorka (1,6).

#### 2. Ispitivanje nazočnosti flavonoida i fenolnih kiselina tankoslojnom kromatografijom

Ispitivanju je podvrgnut ekstrakt listova patuljaste sviline, koji je pripremljen tako da je 1 g praškasto usitnjenih listova ekstrahirano s 10 ml metanola 30 minuta na vodenoj kupelji uz povratno hladilo. Bistri filtrat nakon hlađenja, služio je kao otopina za kromatografsko ispitivanje (14). Kao poredbene supstancije uporabljene su 0,05%-tne metanolne otopine luteolin-7-O-glukozida, ferula kiseline, kavene kiseline i klorogenske kiseline.

Ispitivanje nazočnosti flavonoida i fenolnih kiselina provedeno je na tankom sloju Kieselgel 60 F<sub>254</sub> u dvije smjese otapala: etilacetat-mravljja kiselina-ledena octena kiselina-voda (100:11:11:27 V/V/V/V) (14) i etilacetat-mravljja kiselina-voda (8:1:1 V/V/V) (15).

Detekcija odijeljenih flavonoida i fenolnih kiselina provedena je promatranjem pod UV zračenjem pri 365 nm nakon prskanja kromatograma modificiranim Naturstoff reagensom (NST/PEG) (14).

#### 3. Određivanje količine flavonoida

Količina flavonoida u uzorku listova patuljaste sviline određena je spektrofotometrijskom metodom prema Christu i Mülleru (16), koja se temelji na određivanju ukupnih flavonoidnih aglikona nakon stvaranja kompleksa s Al<sup>3+</sup> u smjesi metanola, etilacetata i octene kiseline.

#### 4. Ispitivanje nazočnosti ružmarinske kiseline tankoslojnom kromatografijom

Ispitivanju je podvrgnut metanolni ekstrakt patuljaste sviline (14), kojem je uklonjen klorofil s tetraklorugljikom (17). Kao poredbena supstancija uporabljena je 0,05%-tna metanolna otopina ružmarinske kiseline.

Kromatografija je provedena na sloju Kieselgel 60 F<sub>254</sub> uz smjesu otapala toluen-etilacetat-ledena octena kiselina (4:5:2 V/V/V) (18). Za detekciju je primjenjen NST/PEG reagens (14).

## 5. Dokazivanje trjeslovina reakcijama stvaranja obojenih produkata i taloga

Dokazivanje trjeslovina provedeno je tako da se 1 g praškasto usitnjenih listova zagrijava s 50 ml destilirane vode na vodenoj pari uz povratno hladilo 15 minuta. Dobivena iscrpina se nakon hlađenja filtrira, a dobiveni filtrat uporabi se za reakcije (19).

Opće reakcije za dokazivanje trjeslovina provedene su s otopinama željezo(III)-klorida, željezo(III)-amonij-sulfata, olovo-subacetata i želatine. Reakcija na flobatanine provedena je s formaldehidom i kloridnom kiselinom, a reakcija na pirogalolske trjeslovine s natrij-acetatom i željezo(III)-amonij-sulfatom (19-21).

Za dokazivanje katehinskih trjeslovina 0,2 g praškasto usitnjenih listova pomiješano je s 10 ml metanola zagrijano do vrenja i filtrirano, te je pomoću tetraklorugljika uklonjen klorofil (17). Zatim je 1 ml filtrata pomiješano sa 0,5 ml otopine vanilina i 1 ml koncentrirane kloridne kiseline (19).

## 6. Određivanje količine ukupnih polifenola i trjeslovina

Određivanje je provedeno spektrofotometrijskom metodom prema Schneideru (22) koja se temelji na taloženju trjeslovina s kazeinom.

## 7. Određivanje pepela

U izžareni, ohlađeni i tarirani porculanski lončić stavi se 1,000–2,000 g praškasto usitnjenih listova. Najprije se lončić zagrijava polagano i oprezno u kosom položaju dok biljni materijal ne počne tinjati. Tada se plamenik ukloni dok biljni materijal ne izgori. Nakon toga se lončić sa sagorjelim ostatkom žari u uspravnom položaju na višoj temperaturi do tamnocrvenog žara tako dugo dok nestanu pougljenjene čestice. Lončić s pepelom se prenese u eksikator i nakon hlađenja od 30 minuta važe, te se ponovo žari, hladi i važe do konstantne mase. Proveden je i pokus otapanja dobivenog pepela u 10%-tnoj kloridnoj kiselinu (23).

# REZULTATI I RASPRAVA

## 1. Kvalitativna analiza flavonoida i fenolnih kiselina

Metanolni ekstrakt listova patuljaste sviline (E) ispitan je na nazočnost flavonoida i fenolnih kiselina tankoslojnom kromatografijom. Nakon prskanja kromatograma NST/PEG reagensom i promatranjem pod UV zračenjem kod 365 nm, uočene su narančaste, žute, narančastožute, plavozelene te plave fluorescencije.

Odjeljivanjem mobilnom fazom etilacetat-mravlja kiselina-ledena octena kiselina-voda (100:11:11:27 V/V/V/V) u ekstraktu listova patuljaste sviline uočava se 6 mrlja (Skica 1.). Usporedbom fluorescencija mrlja i  $R_F$  vrijednosti sastavnica ekstrakta i poredbenih supstancija vidljivo je da sastavnica 5 odgovara flavonskom heterozidu luteolin-7-0-glukozidu (L-7-0-G), sastavnica 2 kavenoj kiselini (Kk), a sastavnica 6 klorogenskoj kiselini (KLk). Ferula kiselina (Fk) nije dokazana u ekstraktu.

Tablica 1.  
R<sub>F</sub> vrijednosti odijeljenih sastavnica i poredbenih supstancija

Odijeljena sastavnica	Poredbena supstancija	Mobilne faze	
		I	II
1 Flavonoid A		0,97	0,95
2 Fenolna kiselina A	Kavena kiselina	0,94	0,93
3 Flavonoid B		0,86	0,86
4 Flavonoid C		0,73	0,66
5 Flavonoid D	Luteolin-7-0-glukozid	0,70	0,60
6 Fenolna kiselina B	Klorogenska kiselina	0,53	0,42

I – etilacetat-mravlja kiselina-ledena octena kiselina-voda (100:11:11:27 V/V/V/V)

II – etilacetat-mravlja kiselina-voda (8:1:1 V/V/V)

Sastavnice 1, 3 i 4 s obzirom na narančastožute fluorescencije mogle bi predstavljati flavonoide (Tablica 1.).

Slična kromatografska slika dobivena je odjeljivanjem smjesom otapala etilacetat-mravlja kiselina-voda (8:1:1 V/V/V) (Skica 2., Tablica 1.).

## 2. Kvantitativna analiza flavonoida

Kvantitativna analiza flavonoida provedena metodom prema Christu i Mülleru, pokazala je da listovi patuljaste sviline sadrže 0,27±0,01% flavonoida (n=3).

## 3. Dokazivanje ružmarinske kiseline

Ekstrakt listova patuljaste sviline, kojem je uklonjen klorofil (E) ispitan je na nazočnost ružmarinske kiseline (R<sub>k</sub>) tankoslojnom kromatografijom.

Odjeljivanjem sastavnica ekstrakta smjesom otapala toluen-etilacetat-ledena octena kiselina (4:5:2 V/V/V) dobiveno je 9 mrlja (Skica 3.). Sastavnica 6 iz ekstrakta i prema fluorescenciji i prema R<sub>F</sub> vrijednosti (R<sub>F</sub>=0,42) odgovara poredbenoj supstanciji – ružmarinskoj kiselini. S obzirom na žuto-narančaste i narančastocrvene fluorescencije, sastavnice 1, 3, 7 i 8 mogle bi predstavljati flavonoide, a sastavnice 2, 4, 5 i 9 zbog zelenih i plavih fluorescencija mogle bi predstavljati neke fenolne kiseline.

## 4. Kvalitativna analiza trjeslovina

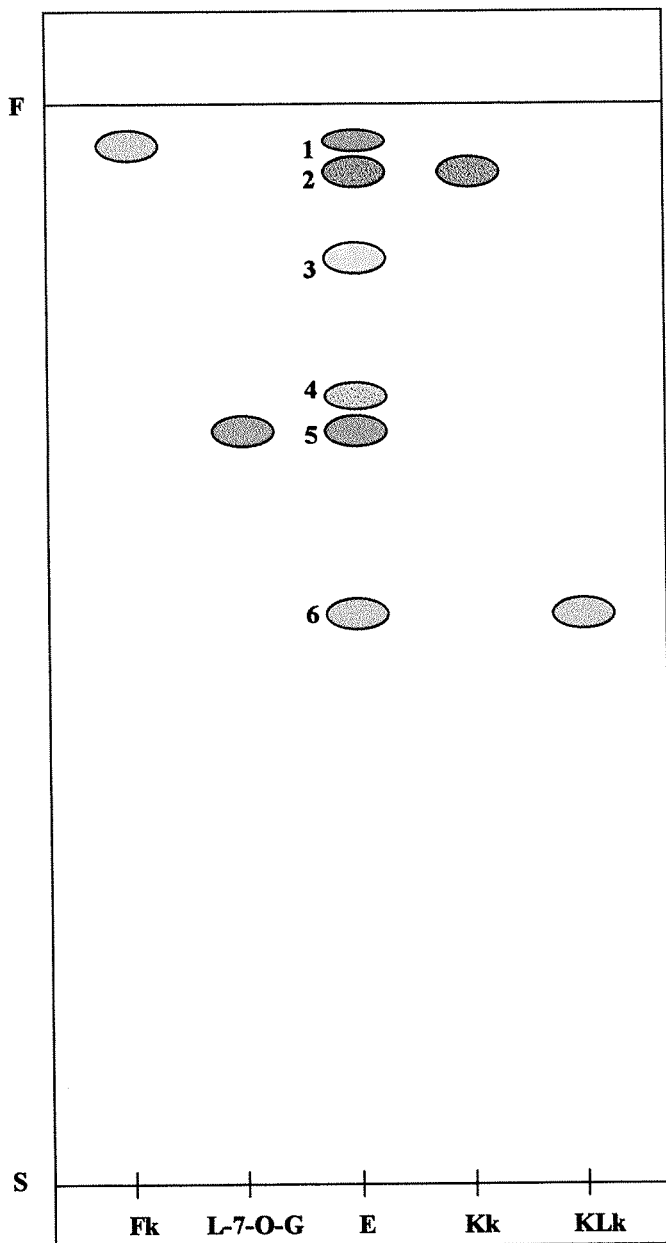
Dokazivanje trjeslovina provedeno je u vodenom ekstraktu patuljaste sviline.

Dodatkom otopina soli željeza došlo je do stvaranja zelenosmeđeg taloga.

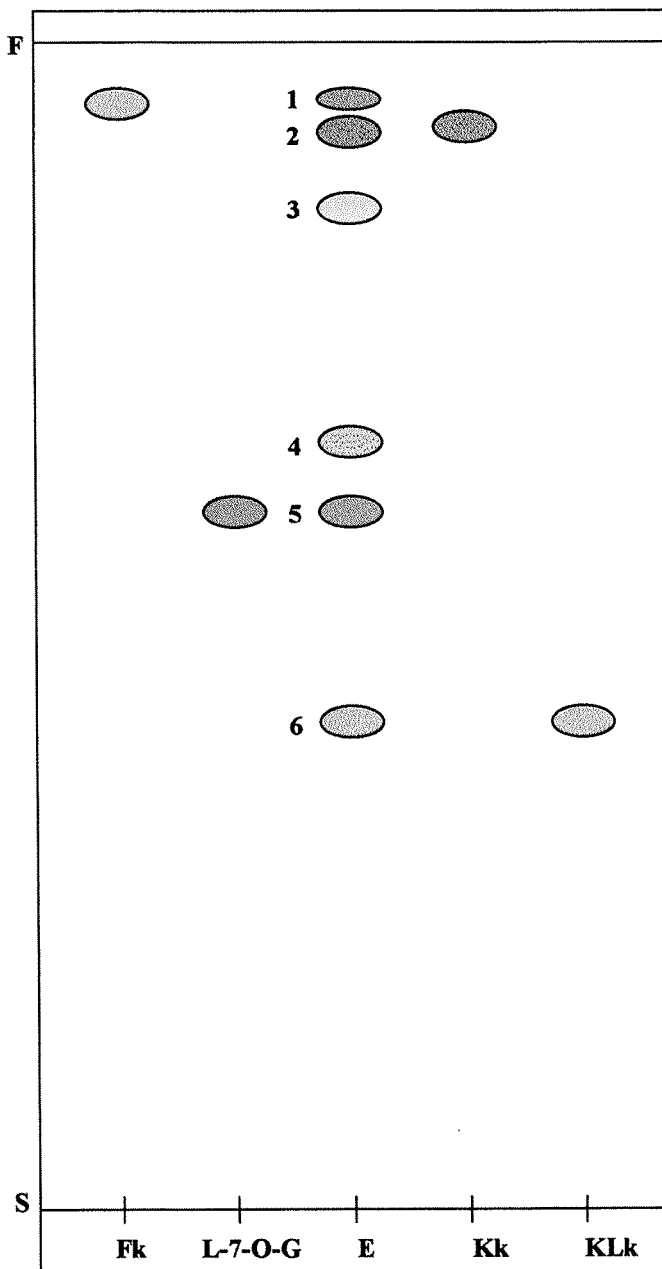
Reakcija s olovo-subacetatom također je rezultirala zelenosmeđim talogom.

Ekstrakt je s otopinom želatine stvorio zamućenje.

Reakcija s formaldehidom i kloridnom kiselinom pomoću koje bi se mogle istaložiti katehinske trjeslovine dala je negativan rezultat. U filtratu su dokazane pirogalolske trjeslovine reakcijom s natrij-acetatom i željezo-(III)-amonij-sulfatom, pri čemu je nastao ljubičastoplavi prsten.

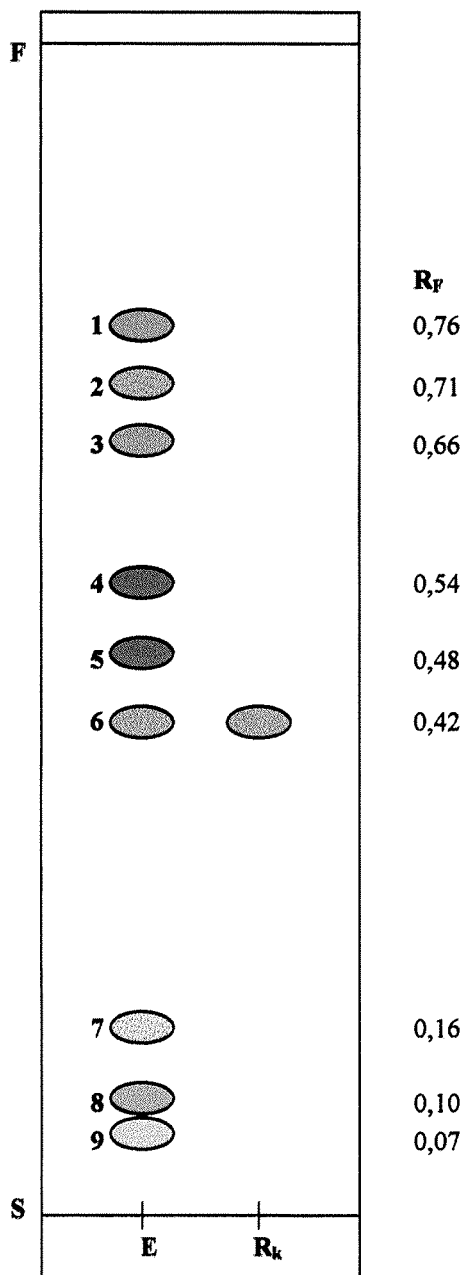


Skica 1. Kromatogram odijeljenih sastavnica metanolnog ekstrakta listova patuljaste sviline  
Stacionarna faza: Kieselgel 60 F<sub>254</sub>  
Mobilna faza: etilacetat-mravljja kiseline-ledena octena kiseline-voda (100:11:11:27 V/V/V/V)  
Detekcija: NST/PEG (UV-365 nm)



Skica 2. Kromatogram odijeljenih sastavnica metanolnog ekstrakta listova patuljaste sviline  
Stacionarna faza: Kieselgel 60 F<sub>254</sub>  
Mobilna faza: etilacetat-mravljia kiselina-voda (8:1:1 V/V/V)  
Detekcija: NST/PEG (UV-365 nm)





Skica 3. Kromatogram odijeljenih sastavnica vodeno-metanolnog ekstrakta listova patuljaste sviline  
 Stacionarna faza: Kieselgel 60 F<sub>254</sub>  
 Mobilna faza: toluen-etilacetat-ledena octena kiselina (4:5:2 V/V/V)  
 Detekcija: NST/PEG (UV-365 nm)

Reakcija s vanilinom i koncentriranom kloridnom kiselinom dala je negativan rezultat; dakle u ekstraktu nisu nazočne katehinske trjeslovine.

#### 5. Kvantitativna analiza trjeslovina

Određivanje količine ukupnih polifenola i trjeslovina provedeno je spektrofotometrijskom metodom prema Schneideru. Utvrđeno je da listovi patuljaste sviline sadrže  $4,25 \pm 0,03\%$  ukupnih polifenola te  $0,85 \pm 0,01\%$  trjeslovina ( $n=3$ ).

#### 6. Određivanje pepela

Žarenjem do konstantne mase utvrđeno je da listovi ispitivane vrste sadrže  $29,66 \pm 0,03\%$  pepela ( $n=3$ ). Pepeo se djelomično otopio u 10%-tnoj kloridnoj kiselini. Dakle, radilo se o fiziološkom, ali i o fizikalnom pepelu netopljivom u kloridnoj kiselini.

### ZAKLJUČAK

Metodom tankoslojne kromatografije dokazano je da listovi patuljaste sviline – *Zostera noltii* Hornem. sadrže flavonoide i fenolne kiseline. Usporedbom s poredbenim supstancijama u ekstraktu listova dokazani su luteolin-7-0-glukozid, kavena kiselina, klorogenska kiselina i ružmarinska kiselina.

Reakcijama stvaranja obojenih produkata i taloga dokazana je nazočnost pirogalolskih trjeslovina.

Rezultati kvantitativne analize pokazali su da listovi ispitivane vrste sadrže 0,27% flavonoida, 4,25% ukupnih polifenola i 0,85% trjeslovina.

Žarenjem do konstantne mase utvrđeno je da patuljasta svilina sadrži 29,66% pepela.

#### Literatura – References

1. T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, D. A. Webb Eds., Flora Europaea, Volume 5, Cambridge University Press, Cambridge 1980, 12.
2. R. Domac, Flora Hrvatske, Školska knjiga, Zagreb 1994, 388.
3. G. Hegi, Illustrierte Flora von Mittel-Europa, Band 1, A. Pichler's Witwe&Sohn, Wien 1908, 142.
4. G. Bonnier, Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique, comprenant la plupart des plantes d'Europe, Tome XI, Librairie Gènerale de l'Enseignement, Paris 1930, 49.
5. D. Curiel, A. Bellato, A. Rismondo, Aquatic Bot. **52** (1996) 313.
6. T. G. Tutin, J. Ecol. **30** (1942) 217.
7. V. Vouk, Prir. Istraž. Hrvatske Slavonije **6** (1915) 6.
8. T. Milkova, R. Petkova, R. Christov, S. Popov, S. Dimitrova-Konaklieva, Bot. Mar. **38** (1995) 99.
9. R. Hegnauer, Chemotaxonomie der Pflanzen, Band 2, Birkhäuser Verlag, Basel 1963, 421.
10. Z. Yang, J. Lin, K. Iguchi, Y. Yamada, C. A. **118** (1993) 18925 v.
11. C. Jimenez, F. X. Niell, P. Algarra, Aquatic Bot. **29** (1987) 217.

12. R. C. Philipps, D. I. Walker, H. Kirkman Eds., *Seagrass biology*, University of Western Australia, Perth 1996.
13. G. W. Thayer, D. A. Wolfe, R. B. Williams, *Amer. Sci.* **63** (1975) 288.
14. H. Wagner, S. Bladt, E. M. Zgainski, *Drogenanalyse*, Springer Verlag, Berlin 1983, 163.
15. M. Luckner, O. Bessler, R. Luckner, *Pharmazie* **20** (1965) 681.
16. B. Christ, K. H. Müller, *Arch. Pharm.* **293** (1960) 1033.
17. H. Römisch, *Pharmazie* **15** (1960) 33.
18. P. Feichtinger, *Diplomarbeit*, Institut für Pharmakognosie, Karl-Franzens-Universität Graz, Graz 1994.
19. M. Luckner, *Prüfung von Drogen*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1966, 225.
20. Ž. Maleš, I. Trojanović, *Farm. Glas.* **55** (1999) 171.
21. Ž. Maleš, M. Plazibat, *Farm. Glas.* **55** (1999) 265.
22. G. Schneider, *Arch. Pharm.* **309** (1976) 38.
23. J. Petričić, *Vježbe iz farmakognozije I*, Sveučilišna naklada Liber, Zagreb 1980, 3.

Primljeno 9. II. 2000.