

# Određivanje količine fenolnih kiselina u listovima planike – *Arbutus unedo* L. (*Ericaceae*)

ŽELJAN MALEŠ<sup>1</sup>, MIŠKO PLAZIBAT<sup>2</sup>, IVAN GREGOV<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zavod za farmaceutsku botaniku Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu,

<sup>2</sup>Botanički zavod Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu,

<sup>3</sup>»Pliva Hrvatska d.o.o.«, Zagreb

## Determination of the content of phenolic acids in the leaves of the strawberry tree – *Arbutus unedo* L. (*Ericaceae*)

*S u m m a r y* – In this paper, the quantitative analysis of phenolic acids was carried out in the samples of leaves of the strawberry tree – *Arbutus unedo*, which were collected every month. Spectrophotometric determination indicated that the content of phenolic acids ranged from 0.73 to 2.48%. The content of investigated compounds depended on the month of collecting the leaves.

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia, <sup>2</sup>Department of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia and <sup>3</sup>»Pliva Croatia Ltd.«, 10000 Zagreb, Croatia).

## UVOD

*Arbutus unedo* L. – planika, vazdazeleni je grm ili nisko drvo iz porodice *Ericaceae*.

Ovaj lijepi mediteranski grm raste kao sastavni dio crnikinih šuma i makije na mnogim mjestima uz našu jadransku obalu (slika 1.) (1, 2).

Oba epiteta »*Arbutus*« i »*Unedo*« su antički nazivi za planiku. Dijagnostički atribut vrste, *unedo* potječe od starih Rimljana, a složenica je dviju riječi: *unus* (jedan) i *edo* (jedem). Naziv objašnjava rimski pisac Plinije Stariji (Gaius Plinius Secundus, A. D. 23.–79.) u svom djelu »Povijest prirode« (*Naturalis Historia*) time što se jede samo po jedan (*unum tantum edo*), najljepši plod s jednog mjesta, i nakon toga opet jedan, ali uvijek s drugog mjesta. Kasnije



Slika 1. *Arbutus unedo* L. – planika, pokraj mjesta Božava

su stvarni smisao navedene izreke brojni autori objašnjavali na dva načina, onaj koji govori da plod nije osobito ukusan te je teško pojesti više od jednoga i drugi da je on toliko slatan da je dovoljno pojesti samo jedan. Plodovi planike, maginje, su jestivi, ali u svježem stanju i u umjerenim količinama, jer obilno uživanje veće količine zrelih plodova kod nekih ljudi može izazvati probavne poremećaje, omamljenost i stanje slično pijanstvu. Širenje sjemenki planike vrši se u prirodi posredstvom životinja koje jedu njene plodove, tj. endozoohorno (2-4).

U našem prethodnom radu (5) prikazani su botanički i kemijski podaci, djelovanje i uporaba planike te rezultati određivanja količine ukupnih polifenola, netaninskih polifenola i trjeslovina u njenim listovima.

Planika ima vrlo raznolik kemijski sastav (5, 6) u kojem važnu ulogu imaju i fenolne kiseline.

Fenolne (fenilkarboksilne) kiseline posebna su skupina fenilpropanskih spojeva s općom formulom  $C_6-C_3$  ili  $C_6-C_1$ . U biljnim vrstama javljaju se kao slobodne ili vezane s drugim spojevima. Od slobodnih fenolnih kiselina poznati su derivati benzojeve (*p*-hidroksibenzojeva kiselina, galna kiselina, salicilna kiselina, vanilinska kiselina) i cimetine kiseline (kavena kiselina, ferula kiselina, *o*-kumarna kiselina, sinapinska kiselina, izoferula kiselina). Od vezanih fenolnih kiselina, vrlo rasprostranjene su klorogenska (ester kavene i kina kiseline), ružmarinska i cikorijska kiselina (7). Većina fenolnih kiselina pokazuje antioksidativnu aktivnost ne samo zbog svoje sposobnosti da doniraju protone ili elektrone, već i zbog mogućnosti tvorbe stabilnih intermedijera sa slobodnim radikalima (8). Utvrđeno je da antioksidativna aktivnost ovisi o različitim čimbenicima, npr. o broju i mjestu vezanja te međusobnom rasporedu hidroksilnih skupina na aromatskom prstenu (9). Klorogenska, kavena, ružmarinska i ferula kiselina smanjuju aktivnost lipooksigenaze i spriječavaju lančane reakcije slobodnih radikala koji nastaju u organizmu. Ovisno o broju hidroksilnih skupina, fenolne kiseline djeluju citotoksično na tumorske stanice (10). Ružmarinska kiselina pokazuje i protuupalno djelovanje, dok klorogenska kiselina pospešuje lučenje žuči (7). U kvantitativnoj analizi fenolnih kiselina primjenjuju se različiti spektrofotometrijski i kromatografski postupci (11).

Svrha ovog rada bila je određivanje količine fenolnih kiselina kao biološki aktivnih spojeva u listovima planike.

## EKSPERIMENTALNI DIO

### Materijal za istraživanje

Materijal za istraživanje sastojao se od usitnjenih listova planike skupljenih kroz 12 mjeseci tijekom 2003. godine na području Božave (Dugi otok).

#### 1. Identifikacija biljnog materijala

Identitet istraživane 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.

## 2. Spektrofotometrijsko određivanje fenolnih kiselina

Kvantitativna analiza fenolnih kiselina provedena je prema spektrofotometrijskoj metodi opisanoj u Europskoj farmakopeji (11). Količina od 0,200 g usitnjenih listova ekstrahirana je sa 190 mL 50%-tnog etanola, zagrijavanjem do vrenja 30 minuta na vodenoj kupelji uz povratno hladilo. Nakon filtriranja, ostaci na filter papiru isprani su s 10 mL etanola. Sjedinjeni filtrati razrijeđeni su etanolom do 200 mL. Količina fenolnih kiselina određena je iz otopina koje su pripravljene miješanjem 1 mL etanolnog ekstrakta s 2 mL kloridne kiseline ( $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ ), 2 mL otopine pripravljene otapanjem 10 g natrijeva nitrata i 10 g natrijeva molibdata u 100 mL vode i 2 mL razrijeđene otopine natrijeva hidroksida. Ovako pripravljene otopine, razrijeđene su do 10 mL vodom te im je odmah izmjerena apsorbcija pri 505 nm. Poredbena otopina dobivena je miješanjem 1 mL etanolnog ekstrakta, 2 mL kloridne kiseline ( $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ ), 2 mL razrijeđene otopine natrijeva hidroksida te nadopunjavanjem vodom do 10 mL. Maseni udio fenolnih kiselina izražen kao ružmarinska kiselina, izračunat je prema izrazu:

$$w(\%) = A \times 5/m$$

gdje je  $w(\%)$  – maseni udio fenolnih kiselina u postocima,  $A$  – apsorbcija,  $m$  – masa biljnog materijala izražena u gramima.

Količina fenolnih kiselina određena je u svim uzorcima tri puta, a iz dobivenih rezultata izračunate su srednje vrijednosti i standardne devijacije.

## REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati kvantitativne analize fenolnih kiselina u listovima planike prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Količina (%)<sup>a</sup> fenolnih kiselina u listovima planike

Mjesec skupljanja	w (%)
1.	1,20 ± 0,02
2.	0,73 ± 0,01
3.	2,48 ± 0,04
4.	1,00 ± 0,03
5.	1,15 ± 0,02
6.	0,73 ± 0,01
7.	1,98 ± 0,03
8.	1,30 ± 0,01
9.	1,70 ± 0,03
10.	0,93 ± 0,02
11.	2,38 ± 0,01
12.	2,18 ± 0,03

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

Istraživani uzorci listova sadržavali su 0,73–2,48% fenolnih kiselina. Najveće količine sadržavali su listovi skupljeni u ožujku (2,48%), studenom (2,38%) i prosincu (2,18%), a najmanje oni skupljeni u veljači i lipnju (0,73%).

## ZAKLJUČAK

Kvantitativna analiza fenolnih kiselina pokazala je da njihova količina ovisi o mjesecu skupljanja i bila je vrlo promjenljiva.

Listovi skupljeni u ožujku sadržavali su najveću količinu fenolnih kiselina dok je njihova količina bila najmanja u uzorcima iz veljače i lipnja.

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

## Literatura – References

1. Č. Šilić, Atlas drveća i grmlja, Svjetlost, Sarajevo 1988, 77.
2. Lj. Grlić, Enciklopedija samoniklog jestivog bilja, August Cesarec, Zagreb 1990, 247.
3. Z. Pavletić, Priroda **73** (1984) 62.
4. <http://www.pfaf.org/database/plants.php?Arbutus+unedo>, datum pristupa 20. 11. 2007.
5. Ž. Maleš, V. Bilušić Vundać, M. Plazibat, D. Lazić, I. Gregov, Farm. Glas. **63** (2007) 155.
6. Ž. Maleš, M. Plazibat, V. Bilušić Vundać, I. Žuntar, Acta Pharm. **56** (2006) 245.
7. E. Steinegger, R. Hänsel, Lehrbuch der Pharmakognosie und Phytopharmazie, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-London-Paris-Tokyo 1988, 372.
8. J. H. Chen, C. T. Ho, J. Agr. Food Chem. **41** (1997) 2374.
9. Z. Sroka, W. Cisowski, Food Chem. Toxicol. **41** (2003) 753.
10. S. M. Fiuza, C. Gomes, L. J. Teixeira, M. T. Girao da Cruz, M. N. Cordeiro, N. Milhazes, F. Borges, M. P. M. Marques, Bioorgan. Med. Chem. **12** (2004) 3581.
11. European Pharmacopoeia, Fifth Edition, Vol. 2, Council of Europe, Strasbourg 2004, 1990.