

UTICAJ METODE EKSTRAKCIJE NA SADRŽAJ UKUPNIH FENOLA U EKSTRAKTU CVIJETA MALINE

INFLUENCE OF THE EXTRACTION METHOD ON THE CONTENT OF TOTAL PHENOLS IN EXTRACT OF RASPBERRY FLOWER

Dejana Kasapović, viši asistent,
Farzet Bikić, redovni profesor Univerzitet u Zenici, Metalurško-tehnološki fakultet u
Zenici

REZIME

*Rad predstavlja istraživanje uticaja metode ekstrakcije na sadržaj ukupnih fenola u ekstraktu cvijeta maline (*Rubus idaeus* L.). Upotreba maline u prehrani sve je značajnija, a uzgoj ovog voća sve veći. Dosadašnja ispitivanja ukazuju na pozitivno i zaštitno djelovanje maline na ljudsko zdravlje zbog velike količine prirodnih antioksidativnih komponenata među kojima su i polifenolni spojevi. Cvjetovi maline (*Rubus idaeus* L.) su prikupljeni sa lokaliteta Maglaj-Moševac. Prikupljeni su cvjetovi od maline sorte Polka i divlje maline. Ekstrakti od cvijeta maline sorte Polka i divlje maline u etanolu dobiveni su metodom ekstrakcije po Soxhlet-u i ultrazvučnom metodom. Analiza ukupnog sadržaja polifenola u dobivenim biljnim ekstraktima određena je UV/VIS spektrofotometrijskom metodom na uređaju UV-VIS spektrofotometar, PerkinElmer, Lambda 650.*

Rezultati dobiveni u ovom radu pokazuju da su ekstrakti cvijeta maline sorte Polka i divlje maline dobiveni metodom ultrazvučne ekstrakcije daleko bogatiji sadržajem ukupnih fenola u odnosu na ekstrakciju po Soxhlet-u.

Ključne riječi: metoda, ekstrakcija, ultrazvuk, Soxhlet, malina, prinos, spektrofotometrija

ABSTRACT

*The paper presents a study of the influence of the extraction method on the content of total phenols in extract of raspberry flower (*Rubus idaeus* L.). The use of raspberries in the diet is becoming more important, and the cultivation of this fruit is increasing. Previous studies indicate a positive and protective effect of raspberries on human health due to the large amount of natural antioxidant components, including polyphenolic compounds. Raspberry flowers (*Rubus idaeus* L.) were collected from the Maglaj-Moševac site. Raspberries of the Polka variety and wild raspberries are collected. Flower extracts of these raspberry species in ethanol were obtained by the Soxhlet extraction method and the ultrasonic method. Analysis of the total polyphenol content in the obtained plant extracts was determined by UV/VIS spectrophotometric method on a UV/VIS spectrophotometer, PerkinElmer, Lambda 650.*

The results obtained in this paper show that the extracts of the flower of the varieties of Polka and wild raspberries obtained by the method of ultrasonic extraction are far richer in the content of total phenols compared to the extraction according to Soxhlet.

Key words: method, extraction, ultrasound, Soxhlet, raspberry, yield, spectrophotometry

1. UVOD

Malina je višegodišnja, žbunasta, listopadna biljka iz porodice Rosaceae, iz roda *Rubus*. Sastoji se iz nadzemnih (list, cvijet, sjeme i plod) i podzemnih (korjen) organa. Malina Polka je jedna od najboljih sorti malina. To je stalnorađajuća malina, novija je sorta maline, porijeklom iz Poljske, a nastala je križanjem sorata: *Autumn Bliss*, *Lloyd George* i vrste *Rubus crataegifolius*, predstavljena je 2001. godine, a u zvanične registre upisana 2003. godine. Specifičnost sorte je što se može uzgajati bez armature. Mnoge samonikle vrste (divlje vrste) su kultivisane, a neke se sakupljaju i cijene zbog posebnog ukusa i visoke vitaminske vrijednosti. Zbog vrlo prijatne arome i ukusa, velike biološke, a male energetske vrijednosti, malina je izuzetno pogodna sirovina, kako za domaću, tako i za industrijsku preradu [1].

U novije vrijeme, upotreba sintetskih antioksidanata se u prehrambenoj industriji napušta iz toksikoloških razloga, a interes za primjenu prirodnih antioksidanata stalno raste. Mnoge naučno-istraživačke studije ukazuju na veću efikasnost i zdravstvenu bezbjednost prirodnih antioksidanata, izolovanih iz biljaka (fitonutrijenti) [2].

Fitohemikalije su sekundarni metaboliti biljaka koji imaju potencijalan pozitivan efekat na zdravlje. Fitohemikalije sa najizraženijim antioksidativnim delovanjem su polifenolna jedinjenja, askorbinska kiselina, tokoferoli i karotenoidi [3].

Najvažnija dejstva fitohemikalija su [4]:

- *Antioksidativna aktivnost;*
- *Modulacija enzima koji učestvuju u detoksifikaciji;*
- *Sprečavanje agregacije trombocita;*
- *Promjene u metabolizmu holesterola;*
- *Kontrola koncentracije steroidnih hormona i endokrinog metabolizma;*
- *Redukcija krvnog pritiska;*
- *Antibakterijsko i antivirusno dejstvo.*

Ekstrakcija predstavlja prvi važan korak kako bi se izolovala bioaktivna jedinjenja iz biljnog materijala. Ekstrakcija se može definisati kao fenomen prenosa masa, tokom kojeg čvrste materije u kontaktu sa otapalom prelaze u otopinu sve do uspostavljanja hemijske ravnoteže. Prenos masa zavisi od mnogo faktora, kao što su vrsta otapala, dužina trajanja ekstrakcije, temperatura i polarnost korištenog otapala [5].

Smjesa etanol-voda je jedna od najčešće korištenih otapala zbog ekonomske dostupnosti. Etanol se može dobiti iz obnovljivih izvora (šećerna trska) i klasifikovan je kao GRAS (eng. *Generally Recognized As Safe*) - generalno priznat kao bezbjedno otapalo, odnosno otapalo zelene hemije. Konvencionalna metoda ekstrakcije, ekstrakcija po Soxhlet-u, posjeduje određene mane a to su: velika potrošnja otapala, dužina trajanja ekstrakcije i kvalitet ekstrakata [5]. To je razlog zašto se sve češće pribjegava primjeni drugih metoda ekstrakcije.

2. EKSPERIMENTALNI DIO

Cvijetovi maline (*Rubus idaeus L.*) prikupljeni su sa lokaliteta Maglaj-Moševac. Mjesto Moševac kod Maglaja udaljeno je od industrijskih postrojenja.

Dobivanje ekstrakata cvijetova maline ekstrakcijom po Soxhlet-u

Osušeni cvijetovi maline su samljeveni u blenderu, i kao takvi korišteni u Soxhlet aparaturi. Kao otapalo korišten je etanol. Ekstrakcija je trajala 6 sati, nakon čega je dobiveni ekstrakt uparavan do suha. Ekstrakti dobiveni na ovaj način su čuvani u tamnim bočicama, u frižideru na temperaturi od +4 °C. Dobiveni uzorci ekstrakta su bili smolaste konzistencije, dobro rastvorljivi u etanolu.

Dobivanje ekstrakata cvijetova maline ultrazvučnom ekstrakcijom

Ekstrakcije su izvođene u ultrazvučnom kupatilu pod definisanim uslovima: frekvencija (20-40 kHz), snaga (250-500 W), temperatura (40°C) i vrijeme izvođenja ekstrakcije (30 min) [6]. Kao otapalo korišten je etanol. Nakon tretmana, ekstrakti su profiltrirani i uparavani do suha. Ekstrakti dobijeni na ovaj način su čuvani u tamnim bočicama, u frižideru na temperaturi od +4°C.

3. REZULTATI I DISKUSIJA

Određivanje prinosa Soxhlet ekstrakcije i ultrazvučne ekstrakcije

Prinos ekstrakcije Y , izražen u procentima, izračunat je preko suhe mase uzorka, m_S i mase ekstrakta, m_E , respektivno, nakon odvajanja otapala, na osnovu slijedeće formule [6]:

$$Y (\%) = (m_E / m_S) \times 100$$

Prinosi ekstrakcije po Soxhlet-u i ultrazvučnoj ekstrakciji su prikazani u tabeli 1.

Tabela 1. Prinosi Soxhlet i ultrazvučne ekstrakcije

Uzorak	SCP	SCD	UCP	UCD
Masa biljke, g	18,23	18,18	23,95	24,14
Masa ekstrakta, g	0,8	1,17	1,48	1,23
Prinos, %	4,39	6,44	6,18	5,10

Značenje oznaka: SCP - cvijet Polka – Soxhlet; SCD - cvijet divlja malina - Soxhlet
UCP - cvijet Polka – ultrazvuk; UCD- cvijet divlja malina - ultrazvuk

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 1 ne može se definisati zavisnost između prinosa i metode ekstrakcije.

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja ukupnih fenola

Sadržaj ukupnih fenola je određen spektrofotometrijski, na uređaju UV–VIS spektrofotometar, PerkinElmer, Lambda 650 (slika 6), po Folin-Ciocalteu metodi. Rezultati analiza su prikazani u tabeli 2.



Slika 6. UV–VIS spektrofotometar, PerkinElmer, Lambda 650

Tabela 2. Sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima cvijetova maline sorte Polka i divlje maline dobivenih metodama Soxhlet i ultrazvučne ekstrakcije

Uzorak	A ₁	A ₂	A ₃	mg/g ekstrakta		
SCP	0,4673	0,4211	0,3827	105,88	94,44	84,91
SCD	0,2699	0,3063	0,2913	56,96	65,98	62,26

UCP	0,6824	0,6476	0,5939	159,17	150,55	137,24
UCD	0,6461	0,6429	0,6298	150,17	149,38	146,14

Značenje oznaka: SCP - cvijet Polka – Soxhlet; SCD - cvijet divlja malina - Soxhlet

UCP - cvijet Polka – ultrazvuk; UCD- cvijet divlja malina – ultrazvuk

A₁, A₂, A₃ – replike pripreme uzoraka

Sadržaj ukupnih fenola određen metodom po Folin-Ciocalteu ne pruža kompletnu sliku o kvantitetu i kvalitetu fenolnih jedinjenja u ispitivanim ekstraktima. Različita fenolna jedinjenja imaju različit odziv na Folin-Ciocalteu reagens. Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 2 može se donijeti zaključak da na sadržaj fenolnih jedinjenja, osim metode ekstrakcije, utiče i genetski faktor to jest sorta maline.

Rezultati iz tabele 2 nedvojbeno pokazuju da je sadržaj ukupnih fenola mnogo veći kod gotovo svih uzoraka:

- maline sorte Polka u odnosu na divlje maline,
- ekstrahovanih ultrazvučnom u odnosu na Soxhlet ekstrakciju.

Izuzetak je jedino zadnja priprema, te ultrazvučna ekstrakcija, gdje je koncentracija ukupnih fenola u cvijetu divlje maline (146,14 mg GA/g ekstrakta) nešto veća od koncentracije ukupnih fenola u cvijetu sorte maline Polka (137,24 mg GA/g ekstrakta).

4. ZAKLJUČCI

Rezultati provedeni u ovom radu pokazuju da ekstrakti, od cvijeta maline (*Rubus idaeus L.*) sorte Polka i divlje maline, sadrže značajne količine ukupnih fenola. Rezultati nedvojbeno pokazuju da je sadržaj ukupnih fenola mnogo veći kod gotovo svih uzoraka:

- maline sorte Polka u odnosu na divlje maline,
- ekstrahovanih ultrazvučnom u odnosu na Soxhlet ekstrakciju.

Izuzetak je jedino zadnja priprema, te ultrazvučna ekstrakcija, gdje je koncentracija ukupnih fenola u cvijetu divlje maline (146,14 mg/g ekstrakta) nešto veća od koncentracije ukupnih fenola u cvijetu sorte maline Polka (137,24 mg/g ekstrakta).

Na osnovu provedenih ispitivanja može se zaključiti da se ultrazvučna ekstrakcija pokazala kao bolja i ekonomski isplativija tehnika od ekstrakcije po Soxhlet-u. Razlozi su smanjenje unosa energije i troškova ekstrakcije te znatno kraće vrijeme ekstrakcije, što dovodi do smanjenja degradacije fenolnih jedinjenja, odnosno povećanja njihove koncentracije u ekstraktu.

5. LITERATURA

- [1] M. Vinčić: Antioksidativna, antiproliferativna i antimikrobna aktivnost odabranih ekstrakata tropova bobičastog voća, Doktorska disertacija, Novi Sad, 2017.
- [2] R.A Moyer, K.E. Hummer, C.E. Finn, B. Frei, R.E. Wrolstad: Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity in Diverse Small Fruits, *Vaccinium, Rubus* and *Ribes*, J. Agric. Food Chem., 50, 519-525, 2002.
- [3] V. Tumbas: Antiradikalna i antiproliferativna aktivnost ekstrakata odabranih biljaka iz familija Rosaceae i Ericaceae, Doktorska disertacija, Novi Sad, 2010.
- [4] J.W. Lampe: Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies, Am. J. Clin. Nutr., 70, 475-490, 1999.
- [5] M. Jazić: Hemijski sastav i biološki potencijal ploda, soka i tropa kultivisane i divlje kupine (*Rubus fruticosus L.*), Doktorska disertacija, Novi Sad, 2019.
- [6] A. S. Milenković Anđelković: Ekstrakcija, karakterizacija, biološka aktivnost i potencijalna primena fenolnih jedinjenja iz plodova i lišća biljnih vrsta familija *Rosaceae*, *Cornaceae* i *Grossulariaceae*, Doktorska disertacija, Niš, 2016.
- [7] V.L. Singleton, J.A. Rossi: Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent, American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158., 1965