

ODREĐIVANJE HEMIJSKOG SASTAVA RAZLIČITIH EKSTRAKATA ČUVARKUĆE

Jelena Mladenović¹, Nebojša Marković¹, Ljiljana Bošković-Rakočević¹, Milena Đurić¹, Nenad Pavlović¹

Izvod: Čuvarkuća ima slično delovanje kao aloja vera, koja je poznata u lečenju raznih kožnih oboljenja. Ova biljka se smatra jednim od najsigurnijih lekova za širok spektar kožnih oboljenja. Zbog antiupalnih i antiseptičkih svojstava, služi i kao odlična prva pomoć kod opekotina, uboda i ugriza, jer pruža brzo olakšanje i smirenje. Sveže iscedeni sok iz listova čuvarkuće koristi se u lečenju nervne rastrojenosti, padavice i nemirnih snova. Listovi su jestivi i mogu se koristiti kao dodatak salati ili varivu. Nisu naročito ukusni, ali kako su bogati vodom, mogu se ubaciti u sokovnik zajedno sa drugim voćem ili povrćem i postati osvežavajući napitak. Koristi se u narodnom travarstvu i kao lek.

Cilj ovog rada je da se odredi sadržaj vlage, ukupnih ekstrahovanih materija, gustine ekstrakta, vitamina C, organskih kiselina i proteina u ekstraktima čuvarkuće.

Ključne reči: čuvarkuća, ekstrakcija, hemijski sastav

Uvod

Tinkture se izrađuju maceracijom, perkolacijom, rastvaranjem ili drugim prikladnim postupkom.

Maceracijom se, po pravilu, tinkture izrađuju tako što se jedan deo droge propisanog stepena usitnjenosti ekstrahuje sa 4 dela etanola propisane koncentracije.

Tinkture od droga jakog dejstva izrađuju se, po pravilu, perkolacijom pomoću etanola propisane koncentracije, tako da se iz jednog dela droge pripremi 10 delova tinkture. U tinkturama jakog delovanja mora se odrediti sadržaj aktivnog principa i ako je potrebno, tinkturu podesiti na optimalnu koncentraciju. Tinkture se izrađuju bez prisustva direktne sunčeve svetlosti.

Tinkture od droga koje sadrže aktivne principe slabijeg dejstva izrađuju se maceracijom u toku 5 dana, zatim se procede, ostave 2 dana na hladnom mestu zaštićene od svetlosti, da se istalože, izbistre, pa tek zatim filtriraju.

Biljne droge su, cele ili sečene, suve, sveže biljke ili delovi biljaka, algi, gljiva, lišajeva. Preradom biljnih droga postupcima ekstrakcije dobijaju se biljni preparati (preparati biljnih droga), (Lakušić, 1990). Biljni preparati obuhvataju tinkture, ekstrakte, etarska ulja, masna ulja, ceđene sokove i prerađene eksudate.

¹Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenamala@kg.ac.rs);

Danas, najvažniju grupu biljnih preparata predstavljaju ekstrakti, koji se dobijaju primenom različitih metoda ekstrakcije, počev od jednostavnih tehnologija do naprednih tehnika. Cilj je iz lekovite biljke izolovati što veći procenat bioaktivnih komponenata, zato treba ispitati uslove, metode, vrste rastvarača i doći do najoptimalnijih (Damjanović, 2007).

Materijal i metode rada

Kao materijal u ovom završnom radu korišćena je biljka čuvarkuća (*Sempervivum tectorum*). Biljni materijal potiče sa lokaliteta Čačka, Moravički okrug, nabavljen u septembru mesecu 2020. godine.

Određivanje vode u poljoprivrednim proizvodima i životnim namirnicama ima izuzetnu važnost zato što od sadržaja vode zavisi njihov kvalitet, mogućnost konzerviranja i čuvanja (u smislu zakonskih propisa). Sadržaj vode se kreće u veoma širokom rasponu, tako npr. sadržaj vode u voću i povrću kreće se od 65-95%, u žitaricama od 10-25%, dok je u mesu i ribi taj sadržaj od 50-80%, što zavisi od vrste i količine masti itd. Visok sadržaj vode u prehrambenim proizvodima može da omogući razmnožavanje mikroorganizama, a to ima za posledicu kvar namirnica. Sadržaj vode može da pokaže da li je neka namirnica falsifikovana (npr. mleko). Kod nekih proizvoda na osnovu sadržaja vode određuje se sadržaj suve materije.

U laboratorijama, najčešće se primenjuje određivanje sadržaja vode sušenjem. Sadržaj vode (vlage) se izračunava iz razlike mase uzorka pre i posle sušenja. Na tačnost rezultata sadržaja vode, utiče pravilno uzimanje (prosečnog) uzorka, kao i način pripreme uzorka za analizu. Čvrsti uzorci se moraju dobro usitniti, a tečni uzorci (mleko, vino, sokovi) suše se tako da se iz tačno odmerene količine ispitivanog uzorka najveći deo vode prvo ispari na vodenom kupatilu i tek zatim suši u sušnici, do konstantne mase. Prilikom sušenja mora se voditi računa o hemijskom sastavu ispitivanog uzorka, kako bi se sprečile nepoželjne fizičko-hemijske promene (isparavanje organskih kiselina, alkohola, eteričnih ulja i ugljen-dioksida, oskidacija, redukcija, razgradnja itd.), (Lajšić i Grujić-Injac, 1998).

Sušenje se izvodi u običnoj sušnici na propisanoj temperaturi (najčešće 105 °C) za ispitivani uzorak pod atmosferskim pritiskom, do konstantne mase.

Sušenje se izvodi u posudicama za sušenje, koje su snabdevene odgovarajućim poklopcem. Posudice koje su od stakla, pre stavljanja uzorka se suše do konstantne mase (najmanje 1 čas) na propisanoj temperaturi i ohlade u eksikatoru na sobnu temperaturu. U posudu se stavi ispitivani uzorak, pokrije poklopcem i meri. Izvršena su tri merenja usitnjenog uzorka. U sušnici se podesi temperatura sušenja, a posudica se stavi na sredinu sušnice, sa koso postavljenim poklopcem. Po završenom sušenju posudica se prekrije poklopcem, stavi u eksikator da se ohladi, a zatim meri. Posudica sa uzorkom ponovo se vrati u sušnicu i suši pola časa do jedan čas, hladi i meri. Postupak sušenja, hlađenja i merenja ponavlja se dok se ne postigne konstantna masa. Pošto su izvršena tri merenja, preračunata je srednja vrednost.

Usitnjeni listovi čuvaruče (30 g), preliveni su rastvaračem (100 mL 70% etanola), potom su ostavljeni u erlenmajeru uvijeni aluminijumskom folijom i zaštićeni od dnevne svetlosti. Maceracija je vršena 24 časa, a narednog dana odvojen je biljni materijal od macerata, ceđenjem kroz filter papir. Rastvarač je uklonjen uparavanjem na vodenom kupatilu, a dobijeni ekstrakt (tinktura) je sušen do konstantne mase, (Lampe,1999).

Ultrazvučna ekstrakcija je izvedena u ultrazvučnoj kadi (EUP540A, Eustruments, France). Usitnjeni listovi čuvaruče (30 g), preliveni su rastvaračem (100 mL 70% etanola) pri čemu je smeša ekstrahovana 1 čas i 30 minuta.

U levak za odvajanje, čija zapremina treba da bude oko dva puta veća od zapremine ekstrahovanog rastvora, naspe se emulzija uzorka predviđena za analizu i doda dietil-etar.

Levak se dobro zatvori zapušačem, uzme u obe ruke i to tako da se desnom rukom drži gornji deo levka, a levom rukom se drži slavina na levku. Sadržaj levka se blago promućka, odvodna cev okrene na gore, a zatim otvori slavina radi uklanjanja viška pare dietil-etra. Mućkanje i otvaranje slavine ponavlja se nekoliko puta. Levak se ostavi u prstenu na stativu da stoji izvesno vreme, pri čemu se smeša tečnosti razdvoji u dva sloja. Otvori se zapušač i donji vodeni sloj pažljivo ispusti u erlenmajerov sud otvaranjem slavine. Gornji sloj izlije se kroz gornji otvor levka u podesni prihvatni sud.

Rade se dve analize, i nakon dobijenih rezultata, nakon uparavanja rastvarača, izračunat je sadržaj masti ekstrakata dobijenih maceracijom i ekstrakcijom u ultrazvučnoj kadi.

U novije vreme je ova metoda najčešće primenjivana, pri čemu se uzorak razara smešom koja se sastoji od azotne, sirćetne i trihlorsirćetne kiseline. Azotna kiselina oksiduje i nitruje sve supstance osim celuloze, a razgrađeni produkti npr. lignini rastvaraju se u sirćetnoj kiselini. Ova metoda nije najbolja, jer ne daje sadržaj čiste celuloze, ali je sadržaj primesa mnogo manji nego po drugim metodama.

Postupak određivanja

U erlenmajerov sud sa brušenim grlom kvantitativno se prenese 1 000 g uzorka, prelije sa 25 cm³ reagensa za celulozu, spoji sa povratnim kondenzatorom i kuva 30 minuta na električnom grejnom telu, preko azbestne mreže. Erlenmajer se povremeno promeša, da bi se skinule čestice uzorka sa zida suda. Po završenom kuvanju vruć sadržaj se profiltrira kroz stakleni lončić za filtriranje, koji je prethodno osušen i izmeren. Filtriranje se vrši uz slab vakuum, da bi se sprečilo zapušavanje pora. Talog se ispere vrućim reagensom, toplom vodom, etanolom i suši na 100-105 °C do konstantne mase, zatim hladi u eksikatoru i meri. Iz razlike u masi lončića sa celulozom i praznog lončića dobija se količina celuloze zajednom sa pepelom. Celuloza se pincetom izvadi iz lončića za filtriranje, zatim se prenese u prethodno izaren i izmeren porcelanski lončić, spali i žari na 550 °C, hladi i meri. Razlika u masi porcelanskog lončića pre i posle žarenja je količina pepela. Kada se

od sadržaja celuloze sa pepelom oduzme količina pepela, dobiće se sadržaj celuloze u izmerenom uzorku. Sadržaj celuloze u procentima izračunava se na sledeći način.

Izračunavanje

$$\text{Sadržaj celuloze (\%)} = (m_2 - m_1) / m \cdot 100$$

Razlika u masi porcelanskog lončića pre i posle žarenja, $m_2 - m_1$

Masa uzorka uzeta za analizu u gramima, m

Poznato je da u svežem biljnom materijalu preovlađuje L-askorbinska kiselina, a da je nosilac vitaminske aktivnosti sistem L-askorbinska kiselina= dehidroaskorbinska kiselina (Aćamović-Đoković i Cvijović, 2009).

Kvantitativno određivanje ukupnog vitamina C zasniva se na reverzibilnoj sposobnosti oksido-redukcionog sistema askorbinska-dehidroaskorbinska kiselina. Metode za kvantitativno određivanje askorbinske kiseline dele se u dve osnovne grupe: oksidometrijske titracije i kolorimetrijske metode. Oksidometrijske titracije su najčešće koriste za određivanje L-askorbinske kiseline u voću, povrću i njihovim proizvodima, a zasnivaju se na oksidaciji L-askorbinske kiseline u dehidroaskorbinsku i redukciji primenjenog reagensa. Kao oksidaciono sredstvo (reagens) najčešće se koristi 2,6-dihlorfenolindofenol (tamno plav) koji se u reakciji sa askorbinskom kiselinom redukuje u bezbojan oblik. Oksidometrijske titracije nisu specifične, jer sa navedenim reagensima mogu da reaguju i druga jedinjenja pored askorbinske kiseline, ali su brze i jednostavne.

Izračunavanje

$$\text{Sadržaj askorbinske kiseline (mg/100 cm}^3\text{)} = (V - V_1) \cdot T / g \cdot 100$$

V - cm^3 rastvora TR utrošenih za titraciju ogleadne probe

V_1 - cm^3 rastvora TR utrošenih za titraciju slepe probe

T - titar rastvora TR ($\text{mgC}_6\text{H}_8\text{O}_6 / 1 \text{ cm}^3$ TR rastvora)

g - zapremina soka u cm^3 u alikvotnom delu uzork

Slobodna i ukupna kiselost određuje se titracijom pomoću rastvora baze (natrijum ili kalijum-hidroksid) poznate koncentracije pomoću indikatora fenolftaleina ili potenciometrijski. U zavisnosti od sadržaja organskih kiselina i količine vode u analiziranom uzorku, za analizu se uzima 20 do 100 g ili cm^3 ispitivanog uzorka.

Postupak određivanja

Ispitivani uzorak se fino usitni u porcelanskom avanu i uz dodatak vode kvantitativno prenese u normalni sud od 250 cm^3 . Sadržaju se doda 1 cm^3 (radi sprečavanja vrenja) pa se sve razblaži vodom do 150 cm^3 . Ubrzana ekstrakcija se vrši na vodenom kupatilu uz povremeno mešanje u toku 30 min na temperaturi od $70\text{-}80 \text{ }^\circ\text{C}$. Nakon ekstrakcije, sadržaj se ohladi, dopuni vodom do crte i filtrira preko nabranog filter papira pri čemu se dobija prozračan, slabo opalescentan ekstrakt sa rastvorenim kiselinama. Pipetom se prenese 50 cm^3 filtrata u erlenmajer sud od 250 cm^3 , dodaju se 2-3 kapi 1% rastvora fenolftaleina i titruje sa $0,1 \text{ mol/dm}^3$ rastvorom NaOH do pojave jasno ružičaste boje.

Ekstrakcija organskih kiselina iz uzorka može se uraditi i na sobnoj temperaturi pri čemu se ispitivani uzorak kvantitativno prenese u normalni sud od

250 cm³. U normalni sud se takođe stavi 1 cm³ toluola, a zatim se on dopuni vodom do crte i ostavi da se kiseline ekstrahuju u toku 2 časa uz povremenom mešanje.

Izračunavanje

Slobodna ili ukupna kiselost izražava se u gramima slobodne ili ukupne kiseline (preračunato na neku organsku kiselinu) na 100 g ili 100 cm³ uzorka. Kiselost se takođe može izraziti i u procentima na svežu ili suhu supstancu.

(Slobodna) Kiselost (g/100 g) = $(V \cdot K) / G \cdot 100$

V - zapremina u cm³ utrošenog rastvora 0,1 mol/dm³ NaOH

K - koeficijent za preračunavanje na određenu organsku kiselinu (količina kiseline u gramima koja odgovara 1 cm³ 0,1 mol/dm³ rastvora NaOH)

G - količina ispitivanog uzorka u gramima

Kiselost se obično izražava preko vinske, jabučne ili limunske kiseline, obzirom na njihovu zastupljenost u ispitivanom uzorku. Kada se ne zna koja kiselina preovlađuje u uzorku, tada se kiselost izražava u broju cm³ 0,1 mol/dm³ rastvora NaOH na 100 g ili 100 cm³ uzorka, (Piletić i Miletić, 1989).

Areometar je zatvorena staklena cev, proširena u osnovi. U proširenom delu se nalazi živa, što omogućava areometru da vertikalno plovi u tečnosti. Gornji, uži deo areometra, sadrži skalu fabrički obeleženu sa jedinicama za gustinu.

Rad areometra se zasniva na merenju visine njegovog uranjanja u neki rastvor. Zapremina istisnute tečnosti zavisi od gustine, a ona je funkcija temperature i koncentracije, (Šiler-Marinković, 2009).

Pri merenju areometar se potopi u tečnost čija gustina se meri. U zavisnosti od gustine tečnosti, areometar tone. Što je gustina veća, areometar manje tone, i obratno. Čitanje gustine se vrši tako što se na skali čita podeljak koji se poklapa sa nivoom tečnosti. Pri tome areometar daje najtačniju vrednost kada se merenje vrši na temperaturi koja je obeležena na njegovoj skali. Ova temperatura je označena na svakome areometru.

Areometar koji se koristi za merenje gustine mora da bude potpuno suv, čist i obezmašćen. Prilikom uranjanja ne sme da dodiruje zidove suda u kome se nalazi ispitivani rastvor. Vrednost sa skale, položaj donjeg meniskusa, čita se kada se areometar potpuno umiri. Samo u slučaju kada se donji meniskus ne može jasno videti, čita se gornji.

Rezultati istraživanja i diskusija

Sadržaj suve materije dobijen na osnovu tri merenja je izračunat kao njihova srednja vrednost i iznosi 10,50%, a sadržaj vlage koji je dobijen oduzimanjem suve materije na 100 g uzorka, za svako merenje i izražen kao njihova srednja vrednost je 89,49%.

Tabela 1. Sadržaj vlage i procenat suve materije
Table 1. Moisture content and percentage of dry matter

| Uzorak <i>sample</i> | Masa pre sušenja, g <i>Mass before drying, g</i> | Masa posle sušenja, g <i>Mass after drying, g</i> | Sadržaj suve materije, % <i>dry matter, %</i> | Sadržaj vlage, % <i>Moisture content, %</i> |
|-------------------------|---|---|---|---|
| List <i>leaf</i> | 5,010 | 0,48 | 10,50 | 89,49 |
| | 5,015 | 0,62 | | |
| | 5,012 | 0,48 | | |

Posle završenih ekstrakcija, izvršeno je uparavanje dobijenih biljnih ekstrakata do suva, a potom merenje dobijenih suvih ostataka. Izračunat je prinos ekstrakcije.

Tabela 2. Procentualni prinos ekstrakcije
Table 2. Percentage extraction yield

| Uzorak <i>sample</i> | Tinktura čuvarkuća, % <i>Tincture, %</i> | Tinktura čuvarkuća, ultrazvučna kada, % <i>Tincture, ultrasonic extraction%</i> |
|-------------------------|---|---|
| List <i>leaf</i> | 8,05 | 10,11 |
| | 7,95 | 10,13 |
| | 8,01 | 10,15 |
| | 8,00 | 10,13 |

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da je veći prinos dobijen ekstrakcijom u ultrazvučnoj kadi nego običnom maceracijom.

Procentualni sadržaj celuloze je nešto veći kao i sadržaj organskih kiselina u ekstraktima, ukoliko je dobijen ekstrakcijom u ultrazvučnoj kadi.

Tabela 3. Procentualni sadržaj celuloze i sadržaj organskih kiselina u ekstraktima
Table 3. Percentage content of cellulose and content of organic acids in extracts

| Uzorak <i>sample</i> | Celuloza, % <i>Cellulose, %</i> | Organske kiseline, g/100 g <i>Organic acids, g/100g</i> |
|--|------------------------------------|--|
| Tinktura <i>Tincture</i> | 7,24 | 0,433 |
| Tinktura čuvarkuće, ultrazvučni <i>Tincture, ultrasonic extraction</i> | 8,73 | 0,541 |

Na osnovu rezultata dobijenih merenjem gustine areometrom, vidi se da je najveća gustina dobijena kod ultrazvučne ekstrakcije (1,05 g/cm³), što je u uzajamnoj vezi sa prinosom ekstrakcije.

Tabela 4. Gustina dobijenih tinktura
Table 4. Density of obtained tinctures

| Uzorak <i>sample</i> | Gustina, g/cm ³ <i>Density, g/cm³</i> |
|--|--|
| Tinktura <i>Tincture</i> | 0,75 |
| Tinktura čuvarkuće, ultrazvučni <i>Tincture, ultrasonic extraction</i> | 1,05 |

Tabela 5. Sadržaj vitamina C i % masti
Table 5. Vitamin C content and % fat

| Uzorak <i>sample</i> | Vitamin C, mg/100 g <i>Vitamin C, mg/100 g</i> | Srednja vrednost, <i>Middle value</i> | Masti, % <i>Fat, %</i> |
|--|---|--|---------------------------|
| Tinktura <i>Tincture</i> | 52,01 51,49 52,00 | 51,833 | 0,26 |
| Tinktura čuvarkuće, ultrazvučni <i>Tincture, ultrasonic extraction</i> | 75,01 74,47 75,31 | 74,93 | 0,31 |

Pri određivanju sadržaja vitamina C zaključili smo da je veći sadržaj ovog vitamina određen pri ultrazvučnoj ekstrakciji, nego pri maceraciji ali ipak poređenjem sa sadržajem ovog vitamina u svežem biljnom materijalu, vrednosti su niže, što potvrđuje da vitamine treba određivati u svežem biljnom materijalu (Džamić, 1984).

Na osnovu rezultata analiza dobijen hemijski sastav dobijenih ekstrakata čuvarkuće:

T- tinktura čuvarkuće

$T = \% \text{ celuloze} + \% \text{ organskih kiselina} + \% \text{ vitamina C} + \% \text{ masti}$

$T = 7,24 + 0,493 + 0,051 + 0,26 = 7,984 \%$

$10,50\% - 7,984\% = 2,516\%$ ostaje na vitamine, minerale, tanine, pektine i

T_{uv} -tinktura čuvarkuće, ultrazvučni

$T_{uv} = 8,73 + 0,541 + 0,0749 + 0,31 = 9,6559\%$

$10,50\% - 9,6559\% = 0,8441\%$ ostaje na vitamine, minerale, tanine, pektine

Poređenjem hemijskog sastava svežeg biljnog materijala, dobijeni rezultati se slažu kao i celokupni hemijski sastav. Očigledno izbor metoda ekstrakcija, polarnost rastvarača kao i uslovi ekstrakcije jesu bili odgovarajući, što dokazuje i procenat određenog hemijskog sastava suve materije ispitivanog biljnog materijala. Na osnovu dobijenih vrednosti ispitivanih parametara, etanol je definitivno rastvarač čija polarnost odgovara polarnosti dominantnih komponenata u čuvarkući, kao njegov procenat razblaženja. Uočavamo da su svi

parametri u većem prinosu određeni kod ultrazvučne ekstrakcije, što je verovatno razlog brzina i dužina procesa, jer se radi o molekulima koji su lako razgradivi.

Zaključak

Sagledavanjem svih dobijenih vrednosti može se reći da je ultrazvučna ekstrakcija metoda izbora biljke čuvarkuće. Brži tj. kraći proces je povoljnije uticao na prinos i očuvanje jedinjenja koji su očigledno podložni promenama.

Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, evidencioni broj 451-03-9/2021-14.

Literatura

- Aćamović-Đoković G., Cvijović M. (2009). Praktikum iz Organske hemije, Agronomski fakultet, Čačak.
- Damjanović B. (2007). Ekstrakcija biokativnih komponenti, Metalurško-tehnološki fakultet, Podgorica.
- Džamić M. (1984). Biohemija, Beograd.
- Lajšić S., Grujić-Injac B. (1998). Hemija prirodnih proizvoda, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Lakušić R. (1990). Planinske biljke, Beograd.
- Lampe, J.W. (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies, *Am. J. Chin. Nutr.*, Vol. 70, 475-490.
- Piletić V. M., Miletić Lj. B. (1989). Organska hemija, Novi Sad, Tehnološki fakultet.
- Šiler-Marinković S. (2009). Vitamini, Beograd, Tehnološko-metalurški fakultet.

DETERMINATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF DIFFERENT SECURITY EXTRACTS

Jelena Mladenović¹, Nebojša Marković¹, Ljiljana Bošković-Rakočević¹, Milena Đurić¹, Nenad Pavlović¹

Abstract

Sempervivum tectorum has a similar effect as aloe vera, which is known in the treatment of various skin diseases. This herb is considered one of the safest remedies for a wide range of skin diseases. Due to its anti-inflammatory and antiseptic properties, it also serves as an excellent first aid for burns, stings and bites, because it provides quick relief and calming. Freshly squeezed juice from the leaves of the houseplant is used in the treatment of nervous disorders, epilepsy and restless dreams. The leaves are edible and can be used as an addition to salads or stews. They are not particularly tasty, but as they are rich in water, they can be put in a juicer together with other fruits or vegetables and become a refreshing drink. It is used in folk herbal medicine and as a medicine.

The aim of this study was to determine the moisture content, total extracted substances, extract density, vitamin C, organic acids and proteins in house extracts.

Key words: *Sempervivum tectorum*, extraction, chemical composition

¹Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (jelenamala@kg.ac.rs);