

Chemical composition and antioxidant activity of water-ethanol extracts of Dandelion (*Taraxacum officinale*)



Samira Dedić 1, Aida Džaferović 1, Huska Jukić 2

1University of Bihac, Faculty of Biotechnology, Kulina Bana 2, 77000 Bihać, BiH, samira.dedic@yahoo.com
2University of Bihac, Faculty of Health Studies Nositelja hrvatskog trolista 4, 77000 Bihać, BiH, huskajo37@gmail.com

Sažetak

Maslačak ili *Taraxacum officinale* poznata je ljekovita biljka koja je izvor različitih hranjivih i biološki aktivnih supstanci, a upravo se polifenolni spojevi smatraju odgovornima za visoku biološku aktivnost maslačka te njegovo antioksidacijsko, protuupalno i antitumorsko djelovanje. Vodeno-etanolni ekstrakti dobijeni su primjenom različitih tehnika ekstrakcije maceracija na sobnoj temperaturi i temperaturi ključanja, ultrazvučna i Soxhlet ekstrakcija. U ovom istraživanju analizirani su svi dijelovi biljke, korijenje, lišće, stabljike, cvijeće u svježem stanju. Utvrđen je sadržaj mineralnih elemenata biljke pomoću AAS, antioksidativna aktivnost DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) i FRAP (engl. Ferric Reducing/Antioxidant Power) metodom, a flavonoidi (metoda sa $AlCl_3$), vitamin C, karoten i klorofil određeni su spektrofotometrijski. Sadržaj ukupnih fenola određen je metodom po Folin-Ciocalteau. Sadržaj fenolnih spojeva veći je u vanjskim dijelovima biljke, u cvjetovima i listovima nego u korijenu. Najbolju antioksidativnu aktivnost pokazao je vodeno-etanolni ekstrakt dobijen primjenom Soxlet ekstrakcije.

Ključne riječi: antioksidativna aktivnost, DPPH, ekstrakcija, FRAP, *Taraxacum officinale*

Uvod

Maslačak (*Taraxacum officinale*) je samonikla biljka iz porodice Asteraceae gdje novija istraživanja pokazuju izrazit biološki potencijal zbog značajnog udjela bioaktivnih spojeva. Obiluje polifenolnim spojevima gdje dominiraju hidroksicimne kiseline (Sun i sar., 2014), kavena kiselina, flavonoidi-apigenin i luteolin-7- glukozid, fitosteroli-sitosterol i stigmasterol, karotinoidi (Kuštrak, 2005). Zatim obiluje vitaminom C i mineralima kao što su kalij, željezo, natrij i fosfor te eteričnim uljima, masnim kiselinama (Erhatic i sar., 2014) i inulinom promjenjivog sadržaja. U proljeće korijen sadrži svega 1-2%, a u jesen i do 40% inulina (Kuštrak, 2005), a u listopadu je u korijenu najviše tarakserina i levulina (Erhatic i sar., 2014). Posjeduje antioksidacijsko, protuupalno i antitumorsko djelovanje (Sun i sar., 2014), a dugo se koristi za liječenje raznih bolesti uključujući dispepsiju, žgaravicu, hepatitis, anoreksija i dr. (Montefusco i sar., 2015).

Organizam se protiv slobodnih radikala brani prirodnim antioksidansima koji se u organizam unose hranom, prirodne ili sintetske supstance, i imaju sposobnost da se suprotstave oksidaciji ili da inhibiraju reakcije koje iniciraju reaktivne vrste. Ova jedinjenja se razlikuju po hemijskoj strukturi i imaju različite mehanizme delovanja. Zbog toga su potrebni različiti antioksidansi da bi se zaštitila ćelija od raznih biomolekula in vivo (Gutteridge i Halliwell 2010).

Rezultati

Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti etanolnih ekstrakata maslačka (*Taraxacum officinale*) ukazuju da je ova biljka bogata jedinjenjima koja poseduju antioksidativnu aktivnost.

Tabela 1. Antioksidativno djelovanje maslačka mjereno DPPH I FRAP metodom, dobijeno različitim tehnikama ekstrakcije

	Uzorak	DPPH	FRAP
		SD	
MASLAČAK	Cvijet (ST)	118.24	89.27
	Cvijet (TK)	118.55	88.16
	Cvijet (UE)	127.98	97.25
	Cvijet (SE)	130.49	103.14
	List (ST)	127.31	98.23
	List (TK)	121.18	99.34
	List (UE)	129.38	107.16
	List (SE)	135.14	119.27
	Stabljika (ST)	99.43	90.28
	Stabljika (TK)	98.27	92.13
	Stabljika (UE)	104.53	103.55
	Stabljika (SE)	109.28	108.14
	Korijen (ST)	52.75	45.34
	Korijen (TK)	50.89	46.17
	Korijen (UE)	56.48	49.18
	Korijen (SE)	61.36	53.54



Tabela 2. Ukupni sadržaj fenola u cvjetovima, lišću, stabljikama i korijenju maslačka

	Uzorak	Ukupni fenoli (mg GAE/g suhe tvari)	Flavonoidi (mg kvercetina/g suhe tvari)
		SD	
MASLAČAK	Cvijet	26.08	4.98
	List	30.05	2.26
	Stabljika	23.89	-
	Korijen	4.23	-



Tabela 3. Količina vitamina C, klorofila i karotenoida u cvjetovima, lišću, stabljikama i korijenju maslačka

	Uzorak	Vitamin C [mg/kg]	Ukupni klorofil [mg/kg]	Ukupni karotenoidi [mg/kg]
			SD	
MASLAČAK	Cvijet	58.54	-	43.56
	List	116.49	427.18	198.29
	Stabljika	96.89	47.21	24.87
	Korijen	18.02	-	-

Tabela 4. Prosječne vrijednosti sadržaja mineralnih elemenata kalcija i magnezija.

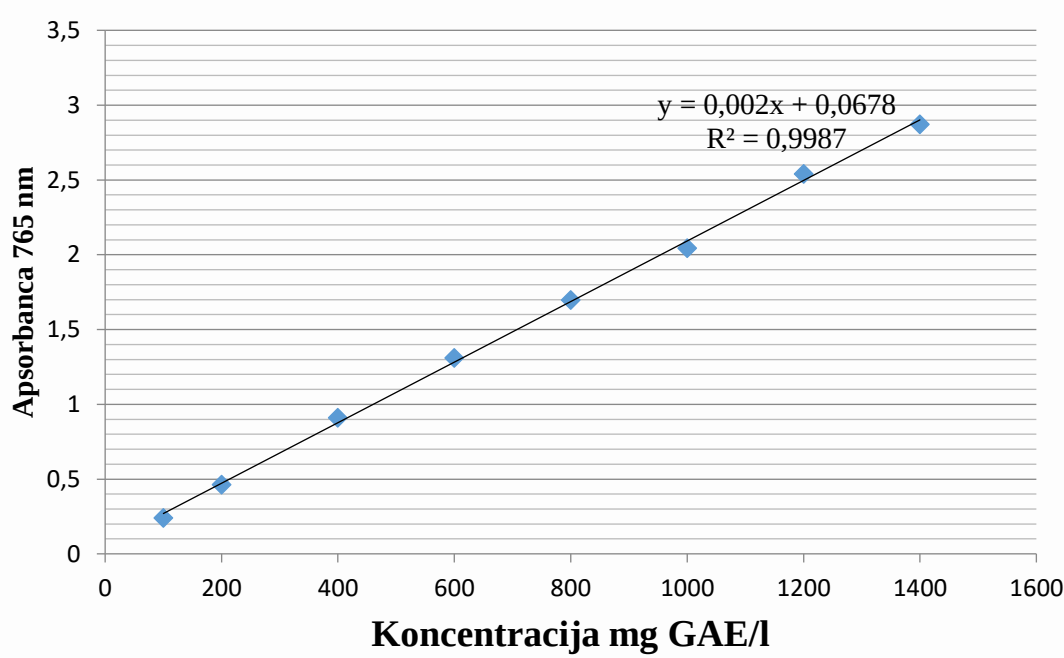
	Uzorak	Ca [mg/kg]	Mg [mg/kg]
		SD	
MASLAČAK	Cvijet	328.33	5.19
	List	448.26	6.31
	Stabljika	366.28	4.23
	Korijen	408.21	2.17

Materijal i metod rada

Uzorkovanje je provedeno 2020. godine. Uzorkovani su svi dijelovi biljke maslačka (*Taraxacum officinale*).) nakon čega su osušeni na sobnu temperaturu i pohranjeni u papirne vrećice. Uzorci su samljeveni pomoću laboratorijskog mlina IKA Tube Mill 100 controlu i za svaku analizu uzeto je šest replika.

Homogenizovan uzorak podvrgnut je tehnikama ekstrakcije maceracija na sobnoj temperaturi i temperaturi ključanja, ultrazvučna i Soxhlet ekstrakciji, sa vodenim rastvorom etanola 50 v/v kao rastvaračem. Klasična ekstrakcija maceracija na sobnoj temperaturi je vršena u trajanju od 240 minuta. Nakon ekstrakcije tečni ekstrakti su odvajani od biljnog materijala vakuum filtracijom na Büchner-ovom lijevku i prebačeni u bočice. Ekstrakcija ključanja u trajanju od 30 minuta i ultrazvučna ekstrakcija (WiseClean WUC) je vršena u trajanju od 30 minuta, uzorci su profiltrirani na Büchner-ovom lijevku i prebačeni u bočice. Soxhlet ekstrakcija je vršena u Soxhlet aparaturi sa po 25 g biljnog materijala. Ekstrakcija je trajala 160 minuta. Svi dobijeni ekstrakti su čuvani u frižideru na +4°C do daljih analiza.

U pripremljenim uzorcima ukupni fenoli određeni su Folin-Ciocalteu-ovom metodom (Dewanto i sar., 2002.), a rezultati su preračunati iz kalibracijske krivulje galne kiseline (graf 1). Koncentracija ukupnih fenola izračuna se prema jednadžbi pravca koja se dobije pomoću programa Excel, pri čemu se na apscisu nanese koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinatu vrijednosti apsorbancija koje su izmjerene na spektrofotometru photoLlab 6600 UV-VIS WTW pri 765 nm.



Graf 1. Standardni dijagram za određivanje ukupnih fenola

Rezultati se izražavaju kao fenoli ekvivalentni galnoj kiselini mg GAE/g suhe tvari.

$$y = 0,002x + 0,0678$$

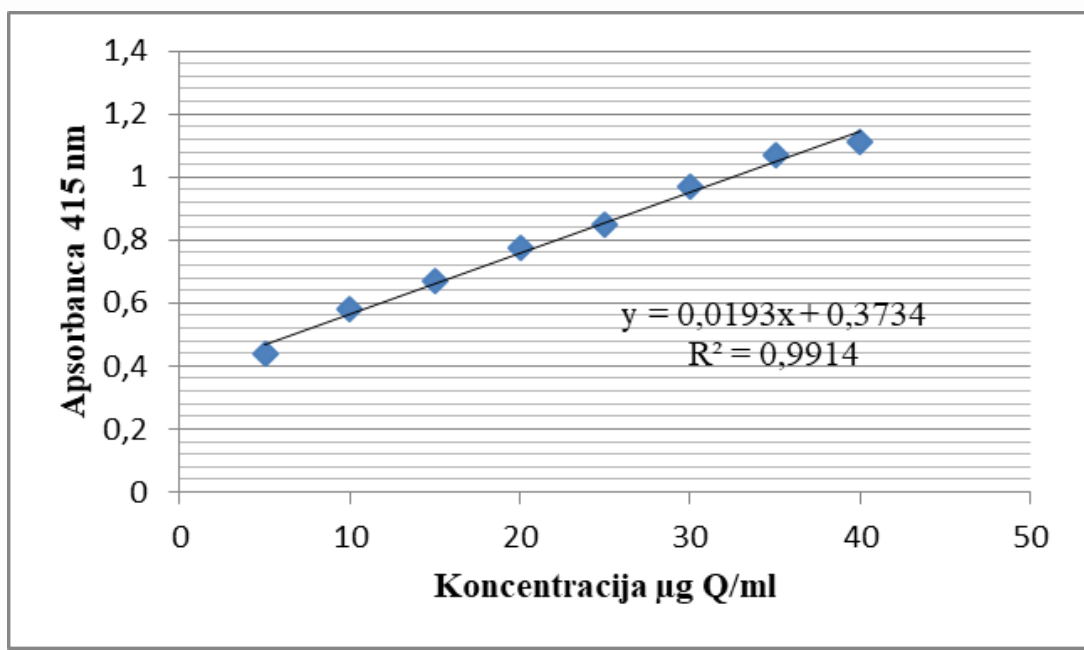
$$R^2 = 0,9987$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 765 nm,

x – koncentracija galne kiseline (mg/L),

R^2 – koeficijent determinacije.



Graf 2. Standardni dijagram za određivanje flavonoida

Za određivanje antioksidativnog kapaciteta korištena je metoda DPPH. DPPH (2,2-difenil-1-pikrizilhidrazil) jedan je od najstabilnijih organskih dušikovih radikala s maksimalnom apsorpcijom u UV-VIS na 517 nm. Uzorak je inkubiran 15 minuta na 37°C u mraku. Smanjenje apsorbancije pri 517 nm izmjerene su pomoću spektrofotometra u poređenju sa slijepom probom koja je sadržavala metanol. Standard krivulja je izrađena s koncentracijom Troloxa između 0,005 i 1,0 mM. Rezultati su izraženi u mM Trolox/g suhe težine (Ivanov i sar., 2014).

FRAP test: 0,1 ml ispitivanih ekstrakata dodano je u 3 ml FRAP reagensa (0,3 M) acetatni pufer, 10 mM 2,4,6- tripiridil-s-triazin (TPTZ), 20 mM $FeCl_3 \times 6H_2O$ (10: 1: 1; v/v/v) i ostavljeno da stoji 10 min na 37°C u mraku. Apsorbancija mjerena je na 593 nm (Benzie i Strain, 1996). Rezultati iz obje metode antioksidansa su izražene kao mM Trolox/g suhe težine.

Karotenoidi i klorofili iz lišća, stabljika i cvjetova maslačka bili su ekstrahirani iz 1 g svježeg uzorka homogeniziranog s 5 ml 80% -tnog vodenog acetona 30 min, nakon čega je slijedilo centrifugiranje (Hettich centrifuge UNIVERSAL 320) pri 4500 o/min 10 minuta (Guan i sar. 2006). Supernatant je razrijeđen 10 puta korištenjem 80% vodenog acetona i izmjerena je apsorbancija na 460, 647 i 664 nm korištenjem spektrofotometra photoLab 6600.

Dobivene vrijednosti apsorbancije uvrštene su u Lichtenthaler formule kako bi se izračunale koncentracije pigmenat (Lichtenthaler 1987):

$$\text{Ukupni klorofil} = 7.15A_{664} + 18.71A_{647}$$

$$\text{Ukupni karotenoidi} = (1000A_{460} - 1.82Ca - 85.2Cb)/198$$

gdje je: A = apsorbancija.

$$Ca \text{ (klorofil a)} = 12,25A_{664} - 2,79A_{647};$$

$$Cb \text{ (klorofil b)} = 21.50A_{647} - 5.10A_{664};$$



Sadržaj askorbinske kiseline određen je po Bendritteru (Bendritteru 1998). U prethodno izvagane i označene tubice s čepom na navoj dodano je oko 0,5 g tkiva i 10 mL destilirane vode pomoću pipete, a zatim su se tubice centrifugirale 15 minuta na 3000 g pri 4°C. Nakon centrifugiranja, u tubice od 2 mL odpipetira se 300 µL vodenog ekstrakta. Vodenom ekstraktu doda se 100 µL 13, 3% trikloroctene kiseline, 25 µL destilirane vode te 75 µL DNPH reagensa. Nakon dodavanja reagensa, inkubira se sat vremena u vodenj kupelji na 37°C. Istim postupkom pripremljene su slijepe probe za svaki uzorak bez dodavanja DNPH reagensa. Po završetku inkubacije u sve slijepe probe dodaje se DNPH reagens i 500 µL 65 % sumporne kiseline u sve uzorke. Sve smjese se još jednom izmiješaju. Apsorbancija je mjerena spektrofotometrijski (spektrofotometar photoLab 6600) pri 520 nm, dok je koncentracija askorbinske kiseline određena iz baždarne krivulje s poznatim koncentracijama.

Sadržaj mineralnih elemenata kalcija i magnezija rađene su na atomskom apsorpcionom spektrofotometru „Perkin Elmer“ AAnalyst -800, čiji su rezultati izraženi u mg/kg (ppm) („Analytical Metods“ FP-3 Analysis of Meat and Meat Products (2000.), „Perkin Elmer“ AAnalyst -800).

Literatura

Bendritter M., V. Maupil, C. Vergely, F. Dalloz, F. Briot, L. Rochette, (1998). Fund. Clin. Pharmacol. 12 (1998), 510-516.

Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Lui, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J. Agric. Food Chem., no. 50., pp: 3010-3014.

Gutteridge J.M.C., Halliwell B. (2010). *Biochemical and Biophysical Research Communications Volume 393, Issue 4*, 19 March 2010, Pages 561-564.

Ivanov I., (2014). Polyphenols Content and Antioxidant Activities of *Taraxacum officinale* F.H. Wigg (Dandelion) Leaves International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 6(4), p. 889-893.

Kuštrak D.(2005). Farmakognozija: fitofarmacija, Zagreb: Golden marketing-Tehnička knjiga, ISBN: 953-212-202-8.

Lichtenthaler K.H., (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes.

Montefusco, A., Semitaio, G., Marrese, P. P., Iurlaro, A., De Caroli, M., Piro, G. Lenucci, M. S. (2015). Antioxidants in varieties of chicory (*Cichorium intybus* L.) and wild poppy (*Papaver rhoeas* L.) of Southern Italy. *Journal of Chemistry*, 2015, 1–8.

Sun, Z., Su, R., Qiao, J., Zhao, Z., Wang, X. (2014). Flavonoids extraction from *Taraxacum officinale* (Dandelion): Optimisation using response surface methodology and antioxidant activity. J. Chem. 2014, 1-7.

Zaključak

Antioksidansi imaju važnu ulogu u očuvanju kvalitete hrane i ljudskog zdravlja. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da biljka maslačak ili *Taraxacum officinale* sadrži više fenolnih spojeva u vanjskim dijelovima biljke. Izbor ekstrakcionih uslova, prije svega tip ekstrakcije i temperatura utiču na antioksidativnu aktivnost.