Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI LXXXVIII, knj. 25.

Rezaković, Džemal

1991

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/3bff7ae5-1a58-4336-9010-7be80dd2e58a

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI
BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LXXXVIII

Odjeljenje medicinskih nauka
Knjiga 25

Redakcioni odbor
Jela Grujić-Vasić, Džemal Rezaković,
Dragomir Stanković

Urednik
Džemal Rezaković,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

UDC 615/.617:502(082) YU ISSN 0350-0071

SARAJEVO 1991

KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE TANINA U BILJKAMA SA PODRUČJA BOSNE I HERCEGOVINE

JELA GRUJIĆ-VASIĆ, TAMARA BOSNIĆ, SALKO RAMIĆ, SEJFUDIN TOKIĆ, SULEJMAN REDŽIĆ

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine, Sarajevo
Farmaceutski fakultet, Sarajevo

UDC 615.32

Apstrakt. Kvalitet ljekovite biljke koja kao aktivnu komponentu sadrži tanin zavisi od sadržaja tanina.

Određivanje sadržaja tanina vrši se raznim metodama i mnoge od njih navedene su u farmakopejama. U ovom radu je ispitan niz biljnih materijala na sadržaj tanina i to: Uvae ursi folium, Primulae folium, Fragariae folium, Juglandis folium, Chamaenerion angustifolii folium, Rosmarini folium, Rubi idaei folium, Centaurii herba, Hyperici herba, Sambuci flos, Rosae caninae fructus, Fraxini exelsioris cortex, Fraxini orni cortex, Fraxini oxycarpae cortex. Quercus cortex, Tormentilae rhizoma. Sadržaj tanina određivan je različitim metodama: metodom po Ph. Jug. II, Ph. Jug. III, Ph. Jug. IV, metodom sa kazeinom, metodom taloženja sa brucinom kao i metodom određivanja relativne adstringencije (RA). Dobiveni rezultati ukazuju da vrijednost sadržaja tanina zavisi od metode, pa je zato neophodno, uz vrijednosti date za sadržaj tanina, navesti i metodu koja je korištena. I pored brojnih ispitivanja sadržaja tanina u biljnom materijalu koje su ovi autori provodili na biljnim uzorcima, teško je reći koja metoda ima prednost jer se uvijek mora imati na umu da uz tanine u biljnom materijalu dolaze i druge fenolne i nefenolne supstance koje manje ili više mogu uticati na vrijednosti za sadržaj tanina.

Rezultati dobiveni u ovom radu doprinose boljem poznavanju analitike tanina kao i boljem poznavanju biljnog materijala koji kao farmakološki aktivnu komponentu sadrži tanine.

Ključne riječi: tanini, relativna adstringencija, kazein tanin, određivanje tanina, polifenoli, analitika tanina.

UVOD

Tanini su bezazotni biljni produkti molekulske mase 500—3000. Po hemijskom sastavu to su polifenolna jedinjena koja se dobivaju isključivo iz biljnog materijala i kao izolirani produkti predstavljaju čvrstu amorfnu masu. Za dobivanje čvrstog produkta često je potrebno koristiti i proces liofilizacije. Oni imaju opor, adstringirajući okus

Jedan dio ovog rada finansirao je Republički javni fond za nauku.

koji je karakterističan za nedozrelo voće. Tanini se rastvaraju u vodi i drugim rastvaračima i daju niz karakterističnih reakcija sa solima metala (1, 2), pa se te reakcije koriste za dokazivanje vrste tanina, a i za njihovo određivanje. Tanini daju reakciju taloženja bjelančevina, koja je za njih karakteristična i na čemu se zasniva velika primjena tanina kao sredstava za štavljenje kože.

Reakcija taloženja bjelančevina taninima je vrlo kompleksan proces i još do danas nije dovoljno objašnjena (1, 2, 3). Izučavanja ukazuju da više faktora utiče na tok ove reakcije, posebno osobine tanina, npr. veličina molekule, konformacijska pokretljivost, fleksibilnost polifenola, topivost polifenola u vodi i dr. Izražen afinitet prema taninima imaju proteini velike molekulske mase, kao i proteini koji imaju visok sadržaj prolina i drugih hidrofobnih aminokiselina sa slobodnom i otvorenom konfiguracijom (4). Na reakciju tanina i bjelančevina utiče i koncentracija tanina. Treba napomenuti da fenolna jedinjenja male molekulske mase, kao npr. pirogalol također reaguju sa bjelančevinama, pa ukoliko se nalaze u biljnom materijalu, mogu uticati na rezultate koji se dobivaju pri određivanju tanina.

Za određivanje tanina u biljnom materijalu poznato je više metoda pri kojima se koristi reakcija taloženja tanina sa bjelančevinama.

U Ph Jug IV oficinalna je za određivanje tanina metoda sa kožnim prahom, koja se bazira na taloženju bjelančevina taninom (5). Zadnjih godina koristi se metoda koja se bazira na reakciji taloženja hemoglobina (6,7), a dobiveni rezultati predstavljaju relativnu adstringenciju ispitivanog tanina (RA).

Na reakciji taloženja bjelančevina taninom zasniva se i reakcija određivanja tanina kazeinom (8). Pri ovoj analizi dobivaju se podaci o sadržaju kazeintanina i polifenola. Na reakciji taloženja alkaloida taninima zasniva se reakcija određivanja tanina brucinom (9).

U cilju boljeg poznavanja analitike tanina i kvaliteta taninskih droga, kao i boljeg poznavanja biljnih materijala u ovom radu ispitan je sadržaj tanina kod šesnaest odabranih biljnih uzoraka. Pri određivanju sadržaja tanina korištene su razne metode.

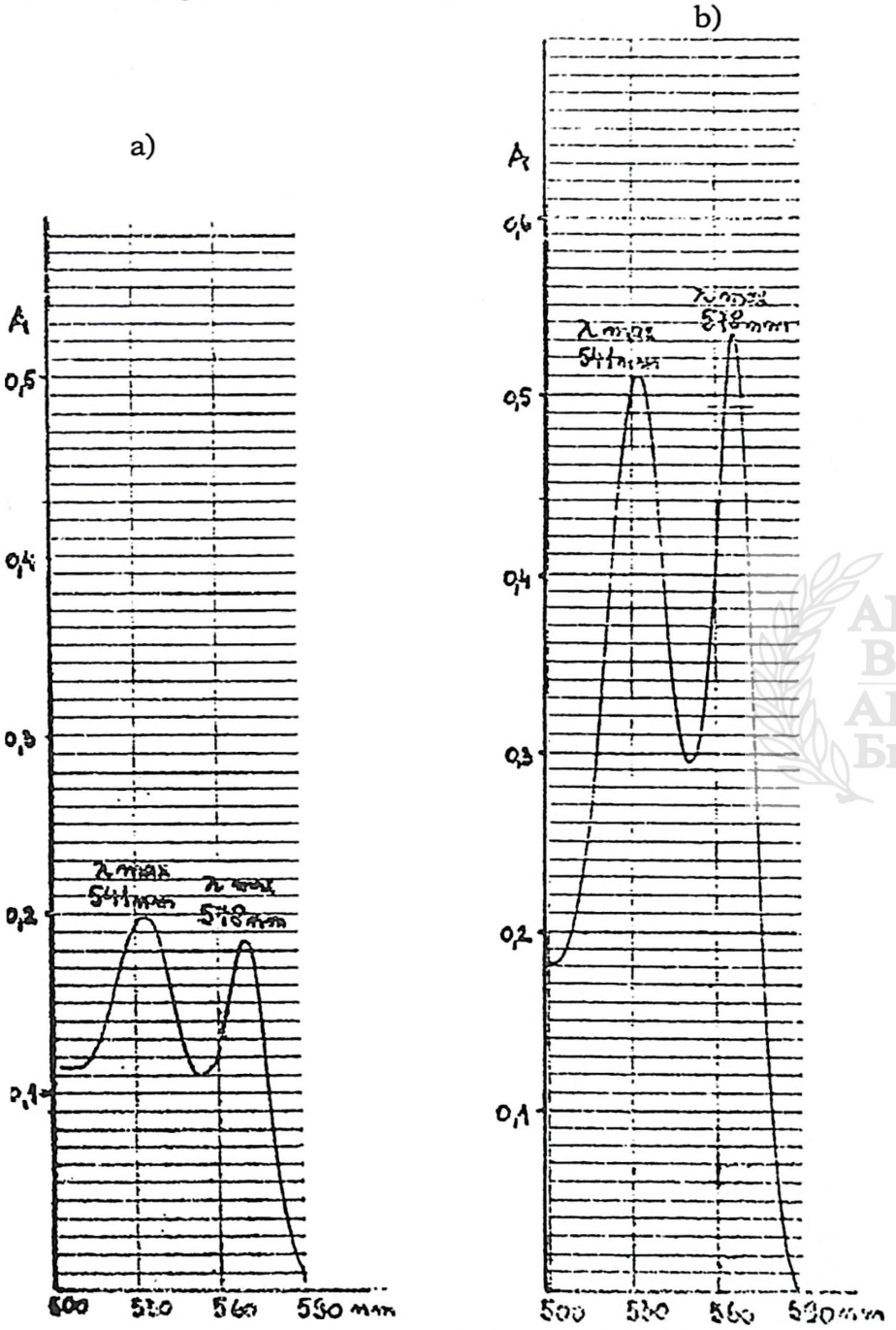
MATERIJAL I METODE

Biljni materijal

Ispitivan je ovaj biljni materijal:

1. Arctostaphylos uva ursi (L.) Sprengel, Ericaceae; 2. Primula veris Huds, Primulaceae; 3. Fragaria vesca L., Rosaceae; 4. Juglans regia L., Juglandaceae; 5. Chamaenerion angustifolium Scop., Oenotheraceae; 6. Rosmarinus officinalis L. Labiatae; 7. Rubus idaeus L., Labiatae; 8. Centarium umbellatum Grilib., Gentianaceae; 9. Hypericum perforatum L., Hypericaceae; 10. Sambucus nigra L., Oleaceae; 13. Fraxinus ornus L. Oleaceae; 14. Fraxinus oxycarpa Wild. var. pannonica, Oleaceae; 15. Potentilla tormentilla L., Rosaceae; 16. Quercus robur L., Fagaceae.

Ispitani dijelovi biljke navedeni u tabeli 1 ubirani su na području Bosne i Hercegovine, osušeni i polvarizirani u mlinu za droge



Slika 1. a) Apsorpcioni spektar hemoglobina nakon reakcije sa ekstraktom droge Juglans regia (folium)
b) Apsorpcioni spektar hemoglobina u hemoliziranoj krvi (1 ml vode i 1 ml hemolizirane krvi)

ANU BiH АНУ БиХ

(kora i podanak). Nadzemni dijelovi biljke (cvijet, list i herba) su ručno usitnjeni.

Metode

Korištene su hemikalije stepena čistoće p.a.

Spektrofotometrijska određivanja vršena su na spektrofotometru Perkin Elmer 123 (Double beam spectrophotometer). Korištena je prokuhana destilovana voda ohlađena do sobne temperature.

Većina biljnog materijala ispitana je metodama koje propisuje Ph. Jug. II i Ph. Jug. III (10, 11).

Određivanje tanina sa brucinom vršeno je po proceduri datoj u literaturi (9).

Određivanje tanina sa kazeinom vršeno je metodom za određivanje sveukupnih polifenola i kazeintanina prema ranije korištenoj proceduri (7,8).

Ispitivanje relativne adstringencije RA (6) vršeno je po navedenoj proceduri:

a. ekstrakt droge: 1 g droge prelije se sa 15 ml vrućeg 50%-tnog metanola i pažljivo zagrijava 5—10 minuta. Ekstrakt se odlije a zaostala droga ponovo prelije sa 10 ml vrućeg 50%-tnog metanola i ponovo zagrijava. Sjedinjeni ekstrakti se procijede kroz pamuk i upare na rotavaporu do suha. Suhi ostatak se rastvori u 5 ml vode. Ovako pripremljeni ekstrakt služi za ispitivanje adstringencije;

b. hemolizirana krv: 0,1 ml krvi iz prsta pomiješa se sa 5 ml vode;

c. određivanje adstringencije: 1 ml hemolizirane krvi pomiješa se sa 0,1 ml ekstrakta droge i odmah brzo promućka a zatim centrifugira na 4000 obrtaja/minut kroz 15 minuta (ili 2000 obrtaja/minut, 30 minuta). U supernatantu se određuje spektrofotometrijski sadržaj neistaloženog hemoglobina.

Hemoglobin ima dva pika na 578 i 541 nm. Prvi pik (578 nm) koristi se pri očitavanju o odnosu na kontrolni uzorak (1 ml hemolizirane krvi i 1 ml vode). Na slici 1 dat je UV spektar hemoglobina i taninske droge (Juglandis folium).

DISKUSIJA I REZULTATI

Na kvalitet taninskih droga, pored vrste tanina, utiče i sadržaj. U farmakopejama se najčešće navode slijedeće taninske droge: Galla, Hamamelidis folium, Juglandis folium, Myrtilli fructus, Quercus cortex, Ratanhiae radix i Tormentillae rhizoma. Pored ovih, brojne ljekovite biljke koje se koriste u narodnoj medicini (ili ulaze u sastav različitih biljnih preparata fitofarmaka) sadrže tanine. Ne može se zanemariti ni upotreba ovih biljnih vrsta u kozmetici. Tanini su molekule sa više fenolnih grupa a njihova najstarija definicija koja se i danas koristi

je da su to jedinjenja biljnog porijekla koja štave kožu (1). Ovaj proces je posljedica reakcije tanina i bjelančevina, koja predstavlja jednu od karakterističnih reakcija tanina.

Pored ove reakcije, karakteristične reakcije tanina su sa solima metala, pri čemu se javljaju boja i talog, a značajna je i reakcija tanina sa alkaloidima, pri čemu također nastaje talog.

Upotreba tanina i taninskih droga zasniva se na njihovom adstringentnom i antimikrobnom djelovanju (1, 2). Oni se koriste kao antidijaroika, djeluju kao antidoti, koriste se kod stomatitisa. Novija istraživanja ukazuju da imaju antiherpetičnu i citotoksičnu aktivnost što se također tumači njihovim reakcijama sa proteinima (12). Određivanje tanina vrši se raznim metodama, a najčešće pominjane metode za određivanje su: volumetrijske (14), spektrofotometrijske (6), gravimetrijske (9), kolorimetrijske (7), metoda određivanja sa kožnim prahom (5), metoda sa kazeinom (8), određivanje sa brucinom (9), određivanje adstringencije (6) i druge.

Tabela 1. SADRŽAJ TANINA*

Red. br.	Biljni materijal	Dio biljke	Ph. Jug. II	Ph. Jug. III	Ph. Jug. IV	Metoda sa kazeinom* I	Metoda sa kazeinom* II	Metoda sa brucinom
1.	Arctostaphylos uva ursi	list	11,4	23,1	12,9			
2.	Primula veris	list	2,8	1,5		1,3	0,5	
3.	Fragaria vesca	list		8,8	8,9	10,1	8,1	8,45
		podanak		10,5	10,5	13,2	8,4	
4.	Juglans regia	list	6,5	5,1	5,2	9,6	5,1	
5.	Chamaenerion angustifolium	list		12,1	13,4	14,6	12,6	11,8
6.	Rosmarinus officinalis	list	3,5	3,4		6,3	6,0	
7.	Rubus ideus	list	4,6	3,0		3,4	2,3	
8.	Centaurium umbellatum	herba	2,7	1,3		1,9	0,5	
9.	Hypericum perforatum	herba	13,5	12,3		11,5	10,1	
10.	Sambucus nigra	cvijet	2,0	1,4		2,3	1,0	
11.	Rosa canina	plod		3,21		6,22	2,7	2,8
12.	Fraxinus excelsior	kora	3,7	1,2			0,2	
13.	Fraxinus oxycarpa var. pannonica	kora	3,2	1,2			0,3	
		kora	3,7	1,2			0,3	
15.	Quercus robur	kora		13,5		15,6		
16.	Potentilla tormentilla	podanak		10,6	9,3	12,6	9,0	

* Vrijednosti su date u % računato na suvi biljni materijal
I ukupni polifenoli; II kazeintanini

ANU BiH АНУ БиХ

U ovom radu određivanje tanina vršeno je metodama navedenim u eksperimentalnom dijelu. Dobiveni rezultati dati su u tabelama 1 i 2.

Tabela 2. RELATIVNA ADSTRINGENCIJA (RA)

Red. br.	Biljni materijal	Dio biljke	RA
1.	Fragaria vesca	list	0,95
		podanak	0,67
2.	Juglans regia	list	0,41
3.	Chamaenerion angustifolium	list	0,028
4.	Hypericum perforatum	herba	0,98
5.	Quercus robur	kora	0,51
6.	Rosa canina	plod	0,56

Kao što se iz datih podataka vidi, različite metode daju i različite vrijednosti za sadržaj tanina, pa je potrebno, uz podatke o sadržaju tanina, uvijek navesti i metodu, što u literaturi nije uvijek slučaj.

Važno je napomenuti da je među ispitivanim materijalima bogat sadržajem tanina list kiprovine. O ovom biljnom materijalu u našoj literaturi su vrlo oskudni podaci, posebno kada se misli na sadržaj tanina. Chamaenerion angustifolium se od davnina koristi kao zamjena za ruski čaj, koji se za doba carske Rusije dobivao industrijski kao »koporski čaj« u Koporu u okolini Petrograda (2). Bogat sadržajem tanina je i podanak šumske jagode (Fragaria vesca), međutim najbogatija sadržajem tanina u nizu ispitivanih biljnih materijala je kora hrasta (Quercus cortex), jedna od vrlo često pominjanih službenih taninskih droga.

Podanak petoprste (Potentilla tormentilla) je oficinalna taninska droga i iz svih priloženih rezultata vidi se da je bogata sadržajem tanina.

Vrijednost za relativnu adstringenciju date su u tabeli 2. One nisu u potpunoj korelaciji sa vrijednostima sadržaja tanina, što se posebno odnosi na Hypericum perforatum, koja ima vrijednosti za jačinu adstringencije (RA) blizu Fragariae folium, koja je znatno siromašnija taninom. Ovo upućuje da na biološku aktivnost tanina — adstrigenciju utiču i drugi faktori, a na samo sadržaj tanina u drogi.

Navedene vrijednosti sadržaja tanina u ispitivanim drogama doprinose boljem poznavanju njihovog kvaliteta, posebno ljekovitog bilja ubiranog na području Bosne i Hercegovine (13).

QUANTITATIVE DETERMINATION OF TANNINS IN PLANTS OF BOSNIA AND HERZEGOVINA

Summary

The quality of medicinal herbs containing tannin as an active component depends on the kind and content of tannin.

Tannin is determined by using various methods which are usually mentioned in pharmacopeias. In our paper we examined the content of tannin in plant material using the following methods: a method according to Ph. Yug. II, Ph. Yug III, Ph. Yug IV, a method with casein, a method of precipitation with brucine, and a method of relative astringency (RA) determination (tbl. 1 and 2).

Our results showed that the obtained values of the content of tannin depended on the method which was used. Therefore, it is necessary to specify the method with the obtained value for the content of tannin.

In spite of numerous examinations of the content of tannin in the plant material which were performed by the authors, it was difficult to determine the best method since, beside tannin, there were other phenolic and also non-phenolic substances in the plant material more or less influencing the content of tannin.

The results obtained in this paper contribute to a better knowledge of the analytics and quality of tannin and the plant material which contains tannin as an active component.

LITERATURA

(1) Wagner, H.: *Pharmazeutische Biologie Drogen und ihre Inhaltsstoffe,* Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag 3, Auflage 1985.

(2) Gammerman, F., Kadajev, N., Jacenko, H. et al.: *Lekarstvenije rastjenija,* Moskva: Vissaja škola 1983.

(3) Spencer, C., Russel, M., Gafner, H. et al.: *Polyphenol Complexation Some Thoughts and Observations.* Phytochemistry 1988; 27 : 2397—409.

(4) Asquita, T., Butler, L.: *Interaction of Condensed Tannins with Selected Proteins.* Phytochemistry 1986; 25 : 1591—93.

(5) *Farmakopeja SFRJ (Ph. Jug. IV),* Beograd: Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, 1984.

(6) Bate-Smith C.: *Haemanalysis of Tannins: the Concept of Relative Astringency,* Phytochemistry 1973; 12 : 907—12.

(7) Grujić-Vasić, J., Bosnić, T., Jovanović, M.: *Ispitivanje tanina i fenolkarboksilnih kiselina u Hyperici herba i Quercus cortex.* Lek. sir., 1988; 7 : 63—67.

(8) Schneider, G.: *Zur Bestimmung der Gerbstoffe mit Caseine Arch.* Pharm. 1976; 309 : 38—45.

(9) Petričić, J., Poljak-Barišić, N.: *Određivanje tanina taloženjem alkaloidima.* Farmaceutski glasnik, 1961; II : 367—76.

(10) *Farmakopeja FNRJ (Ph. Jug. II),* Beograd: Medicinska knjiga, 1951.

(11) *Farmakopeja SFRJ (Ph. Jug. III),* Beograd: Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, 1972.

(12) Takechi, M., Tanaka, Y., Takahera, M. et al.: *Structure ana Antiherpetic Activity Among the Tannins.* Phytochemistry 1985; 24 : 2245—50.

(13) Redžić, S., Lakušić, R., Grujić-Vasić, J., Tokić, S., Kalinić, D.: *Lekovite biljke u ekosistemima Igmana i Bjelašnice.* Lek. sir., 1989; 8 : 5—15.

(14) Broadhurst, B., Jones, W.: *Analysis of Condensed Tannins Using Acidified Vanillin.* J. Sci. Fd. Agric., 1978; 29 : 788—94.