

UDK 633.882:582.685.2

DOI 10.7251/AKPR1801048M

**TERMODINAMIČKA ANALIZA ULTRAZVUČNE EKSTRAKCIJE
FLAVONOIDA IZ LATICA CVETA CRNOG SLEZA (*MALVA
SYLVESTRIS L.*)**

**Nina Milovanović¹, Katarina Rajković², Vesna Milovanović³, Brankica Đokić⁴,
Brankica Milovanović⁵**

Apstrakt

*U ovom radu je izvršena ultrazvučna ekstrakcija flavonoida metanolom iz suvih latica crnog sleza (*Malva sylvestris L.*). Glavni cilj rada je termodinamička analiza ultrazvučne ekstrakcije flavonoida. Shodno tome, izvršena je ultrazvučna ekstrakcija flavonoida na različitim temperaturama (20°C, 30°C i 40 °C). Sadržaj flavonoida u dobijenim ekstraktima određen je spektrofotometrijskom metodom i iznosio je 18,17 mg/100g na 20 °C, 20,06 mg/100g na 30 °C i 21,03 mg/100g na 40 °C mg/100g suve biljke. Termodinamičke veličine procesa ekstrakcije, promena entalpije, odnosno promena entropije određene su na osnovu van't Hoff jednačine, koje su zatim korišćene za određivanje Gibsove slobodne energije. Termodinamička analiza ukazuje da je ultrazvučna ekstrakcija flavonoida endoterman, ireverzibilan i spontan proces.*

Ključne riječi: crni slez, flavonoidi, ekstrakcija, ultrazvuk

¹ Nina Milovanović, dipl. hemičar, Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, Višegradska 33, 18000 Niš, Srbija

² Katarina Rajković, dr, docent, Univerzitet „Bijeljina“, Farmaceutski fakultet, Pavlovića put bb, 76300 Bijeljina, Republika Srpska, BiH, Tel: +381 64 163 3299, mail: katar1970@gmail.com

³ Vesna Milovanović, profesor strukovnih studija, Visoka Tehničko-tehnološka škola strukovnih studija u Kruševcu, Kosančićeva 36, Kruševac, Srbija

⁴ Brankica Đokić, dipl. hemičar, Univerzitet „Bijeljina“, Farmaceutski fakultet, Pavlovića put bb, 76300 Bijeljina, Republika Srpska, BiH, Tel: +387 65 696 692

⁵ Brankica Milovanović, mr, asistent, Univerzitet „Bijeljina“, Farmaceutski fakultet, Pavlovića put bb, 76300 Bijeljina, Republika Srpska, BiH, Tel: +387 65 871 856

THERMODYNAMIC ANALYSIS OF ULTRASONIC EXTRACTION OF FLAVONOID FROM THE BLACK MUCUS FLOWER PETALS (*MALVA SYLVESTRIS L.*)

Nina Milovanović¹, Katarina Rajković², Vesna Milovanović³, Brankica Đokić⁴,
Brankica Milovanović⁵

Abstract

*In this paper ultrasonic extraction of flavonoids was performed with methanol from dry mussel petals (*Malva sylvestris L.*). The main goal of the work was the thermodynamic analysis of ultrasonic extraction of flavonoids. Accordingly, ultrasonic extraction of flavonoids at different temperatures (on the 20°C, 30°C and 40°C). The content of flavonoids was performed in the extracts was determined by the spectrophotometric method and amounted to 18.17 mg/100 g at 20°C, 20.06 mg /100 g at 30°C and 21.03 mg/100 g dry plants at 40°C.*

The thermodynamic size of the extraction process, the enthalpy change, and the entropy change were determined on the basis of the van't Hoff equation, which were then used to determine the Gibbs free energy. Thermodynamic analysis suggests that ultrasonic extraction of flavonoids is an endotherm, an irreversible and spontaneous process.

Keywords: black slime, flavonoids, extraction, ultrasound

¹ Nina Milovanović, BSc, University of Niš, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Department of Chemistry. Višegradska 33, 18000 Niš, Serbia

² Katarina Rajković, PhD, Assistant Professor, University "Bijeljina", Faculty of Pharmacy, Pavlovica put bb, Bijeljina, Republic of Srpska, BiH, Tel: +381 64 163 3299, mail: katar1970@gmail.com

³ Vesna Milovanović, professor, High Technical and Technological School of Vocational Studies in Kruševac, Kosančićeva 36, Kruševac, Serbia

⁴ Brankica Đokić, BSc, University "Bijeljina", Faculty of Pharmacy, Pavlovica put bb, 76300 Bijeljina, Republic of Srpska, BiH, Tel: +387 65 696 692

⁵ Brankica Milovanović, MSc, University "Bijeljina", Faculty of Pharmacy, Pavlovica put bb, 76300 Bijeljina, Republic of Srpska, BiH, Tel: +387 65 871 856

Uvod

Crni slez (Malva sylvestris L.) je dvogodišnja ili višegodišnja zeljasta biljka iz porodice slezova. U narodu je poznat i pod imenom guščernjak, čureća trava, crni slez, velika slezovača i planinski slez (Arabaci i A. Usluoglu, 2013). Upotrebljava se u narodnoj medicini, gde se koriste cvetovi i listovi, specifično osušeni. Najčešće se koriste u vidu čaja. Crni slez sadrži minerale, masne kiseline, flavonoide (Tabaraki et al., 2012). Ima jaku antioksidativnu aktivnost (Guarrera, 2005, Tabaraki et al., 2012).

Flavonoidi predstavljaju najveću grupu biljnih polifenola. U prirodi se javljaju kao slobodni flavonoidi ili u obliku heterozida. To su biljni pigmenti. Rastvorni su u vodi i nalaze se u ćelijskom soku: odgovorni su za boju cvetova, plodova i listova biljaka. Flavonoidi su tipična fenolna jedinjenja koji imaju snažnu antioksidativnu aktivnost. Osim toga, ispoljavaju antialerijsko, antiinflamatorno i antivirusno delovanje.

Ekstrakcija predstavlja izdvajanje i koncentrisanje određenih sastojaka iz biljnih i životinjskih tkiva pomoću selektivnih rastvarača primenom standardnih procedura. Najčešće korišćene metode ekstrakcije su: maceracija, remaceracija, digestija, perkolacija, reperkolacija. U poslednjih deset godina najčešće se primenjuje ultrazvuk za dobijanje biljnih ekstrakata (Milić i drugi., 2013). Ultrazvučna ekstrakcija uključuje korišćenje ultrazvuka sa frekvencijama u rasponu od 20 do 2000 kHz, što povećava propustljivost ćelijskih zidova proizvoda kavitacije. Za ovu ekstrakciju se koriste ultrazvučna kupatila ili ultrazvučne sonde. Predstavlja brzu, ekonomičnu i efikasnu ekstrakciju (Gavrilović i drugi, 2018; Rajković i drugi, 2016).

U ovom radu izvršena je ultrazvučna ekstrakcija flavonoida metanolom iz suvih latica crnog sleza (*Malva sylvestris L.*).

Glavni cilj rada je termodinamička analiza procesa ultrazvučne ekstrakcije flavonoida iz latica crnog sleza.

EKSPERIMENTALNI DEO

Materijal

Laticе suvog sleza sakupljane su tokom leta na područja periferije Niša (južna Srbija) osušene i samlevene (srednja vrednost veličine čestice bila je 0,75 mm).

Metanol (96% vol.) je proizveden u Zorki Farm (Šabac, Srbija).

Ekstrakciona procedura

Samlevene laticе crnog sleza (1 g) i metanol (100 g) stavljeni su u erlenmajer sa kondenzatorom. Erlenmajer je odmah postavljen u ultrazvučnu kadu (Sonic, Niš, Srbija) snage 120 W, frekvencije 40 kHz). Operativna temperatura u ultrazvučnoj kadi se održavala konstantnom. Ultrazvučna ekstrakcija u trajanju od 80 minuta je izvršena na 20, 30 i 40 °C (293, 303 i 313 K). Suspenzija je ohlađena do sobne temperature i filtrirana pomoću vakum pumpe, pri čemu je odvojen biljni materijal od tečnog ekstrakta.

Za određivanje početnog sadržaja flavonoida, biljna sirovina (1 g), prelivena je metanolom (100 g) i macerirana 80 minuta u ultrazvučnoj kadi na temperaturi od 40 °C. Postupak je

ponovljen još dva puta sa iscrpljenom biljnom sirovinom i svežim rastvaračem. Početni sadržaj flavonoida je određen u spojenim alkoholnim ekstraktima.

Određivanje flavonoida

Ukupan sadržaj flavonoida u ekstraktima određen je metodom sa aluminijum-hloridom, koja se bazira na stvaranju kompleksa flavonid-aluminijum. Metanolnim rastvorima ekstrakta (2,0ml; 5mg/ml) dodati su i rastvor aluminijum-hlorida (10 ml;10%), kalijum-acetata (0.10 ml; 1,0 mol/dm³) i dejonizovana voda (2,8 ml). Smeša je inkubirana 30 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim je merena adsorbanca na 415 nm. Rutin je korišćen kao standard, a ukupni sadržaj flavonoida izražen je u mg rutina/100 g suve biljke.

TERMODINAMIČKE VELIČINE

Distribucioni koeficijent

Distribucioni koeficijent se izračunava na osnovu jednačine:

$$K = \frac{y_{\infty}}{y_S} = \frac{y_{\infty}}{y_0 - y_{\infty}} \quad (1)$$

gde je y_{∞} prinos flavonoida u stanju ravnoteže, y_S sadržaj flavonoida ostalih u biljnom materijalu u trenutku zasićenja, i y_0 je sadržaj flavonoida u početnom biljnom materijalu (sve tri vrednosti izražavaju se u g/100g suvog biljnog materijala). Vrednosti y_{∞} i y_0 su utvrđene eksperimentalne vrednosti a y_S se izračunava pomoću jednačine balansa masa: $y_S = y_0 - y_{\infty}$.

Promena entalpije, entropije i Gibsove slobodne energije

Termodinamičke veličine procesa ekstrakcije, promena entalpije i promena entropije određuju se na osnovu van't Hoff jednačine:

$$\ln K = -\frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R} \quad (2)$$

gde je:

K –distribucioni koeficijent;

ΔH^0 –promena entalpije, (J/mol) i

ΔS –promena entropije, (J/(mol K)).

Promena Gibsove slobodna energija izračunava se na osnovu sledeće jednačine:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad (3)$$

gde je:

ΔG - promena Gibsove slobodne energije (J/mol)

Rezultati i diskusija

Termodinamička analiza zasnovana je na određivanju termodinamičkih parametara procesa ekstrakcija flavonoida iz latica crnog sleza metanolom u prisustvu ultrazvuka.

Izračunavanjem distribucionog koeficijenta na određenim temperaturama (jednačina 1) i primenom van't Hoff jednačine (2) određeni su termodinamički parametri ekstrakcije flavonoida.

Radi izračunavanja koeficijenta distribucije u stanju ravnoteže rezinoida, određena je početna količina flavonoida u laticama crnog sleza (23,75 g/100g). Ravnotežni prinos flavonoida prikazan je u Tabeli 1. Tačnije, u Tabeli 1 prikazani su i prinos flavonoida u stanju ravnoteže (y_{∞}), sadržaj flavonoida ostalih u biljnom materijalu u trenutku zasićenja (y_s), kao i odgovarajući distribicioni koeficijenti (K).

Tabela 1. Prinos flavonoida u stanju ravnoteže (y_{∞}), sadržaj flavonoida ostalih u biljnom materijalu u trenutku zasićenja (y_s) i odgovarajući distribicioni koeficijenti (K).

T (°K)	y_{∞}^* (mg/100g)	y_s^* (g/100g)	K^*
293	18,17±0,01	5,59±0,02	3,25±0,01
303	20,06±0,03	3,69±0,03	5,44±0,05
313	21,03±0,04	2,24±0,01	8,75±0,01

* Vrednost parametra±standardna devijacija

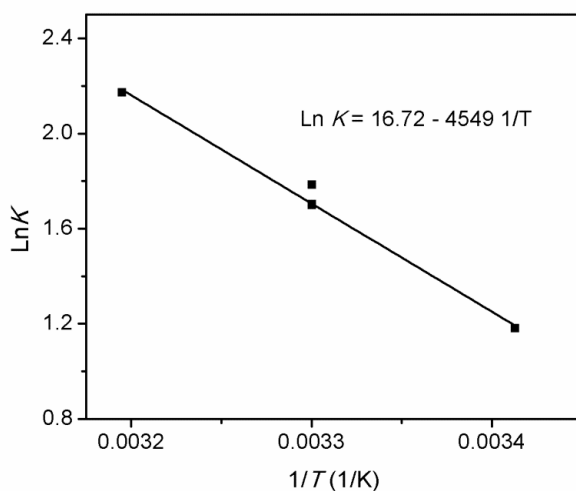
Vrednosti koeficijenta distribucije flavonoida raste sa porastom temperature.

Iz zavisnosti $\ln K$ od $1/T$ dobijena je jednačina prave (Jednačina 2, Slika 1).

Iz nagiba prave izračunata je vrednost entalpije (ΔH) a iz odsečka prave izračunata je vrednost entropije (ΔS).

Na osnovu dobijenih vrednosti primenom van't Hoff jednačine izračunata je slobodna energija ΔG (Jednačina 3).

Određeni termodinamički parametri prikazani su Tabeli 2.



Slika 1. Zavisnost $\ln K$ od $1/T$ za ekstrakciju flavonoida iz latica crnog sleza.

Tabela 2. Termodinamički parametri ekstrakcije flavonoida iz latica crnog sleza

T (°K)	ΔS (Jmol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔH (kJ mol ⁻¹)	ΔG (kJ mol ⁻¹)
293			-1,57
303	134,14	37,82	-2,91
313			-4,26

Izvor: Autori

Pozitivna vrednost entropije, pokazuje da je proces ekstrakcije flavonoida ireverzibilan. Sistem u početnom stanju uključuje biljni materijal i rastvarač (metanol). Tokom ekstrakcije molekuli se ekstrahuju iz čvrste faze povećavajući entropiju smeše. Promena entropije ima pozitivnu vrednost što je u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima (Milić i drugi, 2014). Pozitivna vrednost entalpije pokazuje da je proces ekstrakcije flavonoida endoterman.

U dosadašnjim istraživanjima termodinamike ekstrakcije takođe promena entalpije ima pozitivnu vrednost (Milić i drugi, 2014). Negativna vrednost slobodne energije za ekstrakciju flavonoida iz cveta crnog sleza pokazuje da je proces izvodljiv i spontan. Dobijeni rezultati pokazuju da stepen spontanosti ekstrakcije raste sa porastom temperature jer je ΔG sve negativnija.

Opadanje negativne vrednosti ΔG sa porastom temperature pokazuje da je proces ekstrakcije postaje povoljniji na višim temperaturama.

Zaključak

U ovom radu su određeni termodinamički parametara procesa ultrazvučne ekstrakcije flavonoida iz suvih latica crnog sleza (*Malva sylvestris* L). Termodinamička analiza je pokazala da je ultrazvučna ekstrakcija flavonoida endoterman, ireverzibilan i spontan proces. Našim istraživanjem je prvi put utvrđena termodinamika procesa ultrazvučne ekstrakcije flavonoida iz latica crnog sleza.

Buduća studija treba biti usmerena ka termodinamičkoj analizi ultrazvučne ekstrakcije u širokom opsegu radnih uslova (različiti rastvarači, različita veličina čestica, različiti odnosi biljnog materiala i rastvarača). Takođe, dalja termodinamička analiza ultrazvučnih ekstrakcija bi imala tehno-ekonomski značaj.

Literatura

1. (available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/686185>)
2. G. Arabaci and A. Usluoglu, Catalytic Properties and Immobilization Studies of Catalase from *Malva sylvestris* L.. Journal of Chemistry Volume 2013, Article ID 686185, 6 pages
3. K. M. Rajković, S. Jeremić, P. S. Milić, M. Kostić, V. Arsić-Arsenijević, M. Gavrilović, B. Krstić, Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Total Extractive Substances from *Galium verum* L., Period. Polytech- Chem.61 (2016) 200-2005.
4. M. Gavrilović, K. M. Rajković, V. Simić, S. Jeremić, S. Mirković, A. S. Jevtić, Optimization of ultrasound-assisted extraction of total polyphenolic compounds

- from *Juglans nigra* L. leaves, J. Serb. Chem. Soc. (2018),
<https://doi.org/10.2298/JSC180321069G>
5. Milić, P.S., Rajković, K.M., Stamenković, O.S., Veljković, V.B., 2013. Kinetic modeling and optimization of maceration and ultrasound-extraction of resinoid from the aerial parts of
 6. P. M. Guarrera, "Traditional phytotherapy in Central Italy (Marche, Abruzzo, and Latium)," *Fitoterapia*, vol. 76, no. 1, pp. 1–25, 2005.
 7. P.S., Milić, K.M. Rajković, O.S. Stamenković, V.B. Veljković, The kinetic and thermodynamic analysis of ultrasound-extraction of minerals from aerial parts of white lady's bedstraw (*Galium mollugo* L.), *Chemical Engineering Research and Design*, 9 2 (2 0 1 4) 1399–1409
 8. Reza Tabaraki, Zeynabyosefi1, Hossein Ali Asadi Gharneh Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L. *Journal of Research in Agricultural Science* Vol. 8, No. 1 (2012), Pages: 59 - 68
 9. white lady's bedstraw (*Galium mollugo* L.). *Ultrason. Sonochem.* 20, 525–534.