

Ispitivanje utjecaja otapala na primjenu odabranih vrsti iz porodice žutika, Berberidaceae, kao kiselo-baznog indikatora

Krklec, Leticija

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:497408>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-24**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski sveučilišni studij kemije

Leticija Krklec

**Ispitivanje utjecaja otapala na primjenu odabranih vrsti iz porodice
žutika, Berberidaceae, kao kiselo-baznog indikatora**

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Ana Amić

Osijek, 2022.

Sažetak

pH vrijednost je vrlo bitna mjera koja nam govori o uvjetima u otopini, a određivanje pH vrijednosti ne veže se samo uz laboratorij već se koristi i u druge svrhe. Za određivanje pH vrijednosti koriste se pH indikatori koji su još poznati pod nazivom kiselo-bazni indikatori. Danas su u upotrebi mnogi sintetski indikatori, kao što su metiloranž, fenolftalein i lakmus papir. Osim njih, sve se više ispituju prirodni indikatori. Biljke porodice Berberidaceae, obična žutika (*Berberis vulgaris* L.) i vazdazelena mahonija (*Mahonia aquifolium* (Pursh.) Nutt.), sadrže u svojim plodovima antocijanine osjetljive na promjenu pH vrijednosti, odnosno pod utjecajem promjene pH promjeni se struktura ovih spojeva, zbog čega apsorbiraju svjetlost na različitim valnim duljinama što se manifestira promjenom boje. U ovom radu, ispitane su svježe i suhe bobice obične žutike i vazdazelene mahonije u kombinaciji s odabranim otapalima (voda, vruća voda, metanol, etanol i aceton) kao kiselo-bazni indikatori. Rezultati ispitivanja ukazuju na potencijal plodova ovih biljaka kao kiselo-baznih indikatora. Prednost ovako priređenih indikatora je velika dostupnost ovog biljnog materijala, jednostavno skladištenje i mogućnost korištenja cijele godine. Svježi plodovi pokazuju vizualno dojmljivu promjenu boje u svim otapalima, dok u slučaju suhih plodova samo obična žutika u etanolu i acetonu pokazuje intenzivniju promjenu boje.

Ključne riječi: alternativni indikatori, obična žutika, mahonija, antocijanini, Berberidaceae

Abstract

The pH value is a very important measure that tells us about the conditions in the solution and determination of the pH value is not only related to the laboratory, but is also used for other purposes. pH indicators, also known as acid-base indicators, are used to determine the pH value. Nowadays, there are many synthetic indicators in use, such as methyl orange, phenolphthalein and litmus paper. Apart from them, the number of studies dealing with natural pH indicators are increasing. Plants of the Berberidaceae family, common barberry (*Berberis vulgaris* L.) and holly-leaved barberry (*Mahonia aquifolium* (Pursh.) Nutt.), contain anthocyanins in their fruits that are sensitive to changes in pH value. The change of the pH leads to a change of their structure, hence they absorb light at different wavelengths what manifests as a change in colour. In this thesis, fresh and dry fruit (berries) of common barberry and holly-leaved barberry in combination with selected solvents (water, hot water, methanol, ethanol and acetone) was studied as acid-base indicator. The results indicate the potential of these plants as acid-base indicators. Advantage these indicators have is great availability of this plant material, simple storage and usability all year round. Fresh fruits show visually impressive colour change in all solvents. In the case of dried fruits, only common barberry shows a more intense color change in ethanol and acetone.

Key words: alternative indicators, common barberry, holly-leaved barberry, anthocyanins, Berberidaceae

Sadržaj

1. UVOD	1
2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. pH vrijednost i kiselo-bazni indikatori	3
2.1.1. Sintetski indikatori	4
2.1.2. Prirodni pH indikatori	10
2.2. Berberidaceae, žutike.....	12
2.2.1. Obična žutika (<i>Berberis vulgaris</i> L.)	13
2.2.2. Vazdazelena mahonija (<i>Mahonia aquifolium</i> (Pursh.) Nutt.).....	17
3. MATERIJALI I METODE	20
3.1. Ispitivani biljni materijal	20
3.2. Kemikalije i pribor.....	20
3.3. Priprema otopina određenih pH vrijednosti.....	20
3.4. Priprema biljnog materijala, postupak i plan rada	21
4. REZULTATI I RASPRAVA	22
4.1. Obična žutika (<i>Berberis vulgaris</i> L.).....	22
4.1.1. Voda kao otapalo	22
4.1.2. Vruća voda kao otapalo	23
4.1.3. Metanol kao otapalo.....	24
4.1.4. Etanol kao otapalo.....	25
4.1.5. Aceton kao otapalo	26
4.2. Vazdazelena mahonija (<i>Mahonia aquifolium</i> (Pursh.) Nutt.).....	27
4.2.1. Voda kao otapalo	27
4.2.2. Vruća voda kao otapalo	28
4.2.3. Metanol kao otapalo.....	29
4.2.4. Etanol kao otapalo.....	30
4.2.5. Aceton kao otapalo	31
5. ZAKLJUČAK	32
6. LITERATurna VRELA.....	34

1. UVOD

pH vrijednost je vrlo bitna mjera koja govori o kemijskim uvjetima u otopini. Ona može utjecati na dostupnost nutrijenata, biološke funkcije, mikrobiološku aktivnost i samo ponašanje spojeva. Određivanje pH vrijednosti ne veže se samo uz laboratorij, za određivanje kiselosti ili bazičnosti otopine ili točke ekvivalencije pri titraciji, već se koristi i u druge svrhe. Vrlo je bitno određivanje pH vrijednosti tla budući da su u kiselom tlu topljivi razni minerali koji u tlo otpuštaju toksične metale (kao što je aluminij). Osim toga, ne mogu ni sve biljke rasti na kiselom tlu. Isto tako, vrlo je važno mjeriti pH vrijednost voda koji ne smije biti ni previsok ni prenizak zbog nakupljanja aluminija, amonijaka i ostalih u vodi topljivih i potencijalno štetnih spojeva. Osim na ljudsko zdravlje, ovi spojevi djeluju i na vodene ekosustave. Industrija hrane puno se oslanja na mjerenje pH vrijednosti, čime se nadgleda kvaliteta hrane [1-3].

Kiselo-bazni indikatori su tvari koje mijenjaju svoju boju ovisno o pH vrijednosti te služe i za njeno određivanje. Najpoznatiji pH indikatori su metiloranž, fenolftalein i lakmus. Iako su široko zastupljeni i četo u uporabi, konvencionalni indikatori mogu štetiti okolišu, ponekad su nedostupni ili skupi. Biljke, gljive i alge (pa i neki insekti) sadrže određene pigmente koji mijenjaju boju ovisno o pH vrijednosti medija i mogu poslužiti kao prirodni kiselo-bazni indikatori [1-3].

U prvom dijelu ovog rada pojašnjena je pH vrijednost, kiselo-bazni indikatori te su nabrojani najpoznatiji sintetski i neki prirodni indikatori. Opisana su njihova svojstva i dan je prikaz njihove strukture. Svaki indikator ima svoj karakterističan pH raspon u kojem djeluje. Također je opisana porodica korištenih biljaka te je dan kratak prikaz osnovnih karakteristika u radu korištenih biljaka, obične žutike (*Berberis vulgaris* L.) i vazdazelene mahonije (*Mahonia aquifolium* (Pursh.) Nutt.). Osim toga, dan je kratak pregled najvažnijih bioaktivnih tvari u ovim biljkama. Naime, biljke ove porodice sadrže u svojim plodovima pigmente osjetljive na promjenu pH vrijednosti zbog čega bi se mogle koristiti kao kiselo-bazni indikatori. Stoga je cilj ovog rada bio utvrditi mogu li se odabrane biljke koristiti u tu svrhu, postoji li razlika između svježeg i suhog biljnog materijala te ima li odabir otapala utjecaj na rezultat.

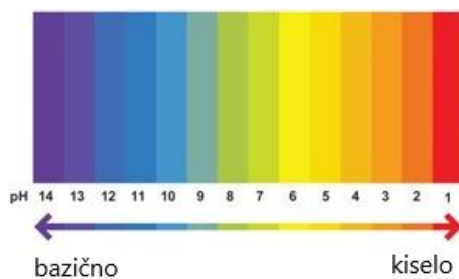
U drugom dijelu rada, dan je popis potrebnog materijala i korištenih metoda te je opisan protokol pripreme otopina pH vrijednosti i otopina indikatora. Dobiveni rezultati su prikazani na slikama, prvo za običnu žutiku, a zatim i za vazdazelenu mahoniju te su pojašnjeni ispod slika. Svježi plodovi ovih biljaka u svim otapalima pokazuju intenzivne promjene boje, dok od suhih plodova intenzivno mijenja boju samo obična žutika u etanolu i acetonu. Zaključno, možemo reći da je ovdje korišten biljni materijal pokazao određeni potencijal primjene kao

kiselo-bazni indikator. Pripremljeni indikatori imaju nekoliko prednosti, kao npr. jednostavna priprema, velika dostupnost biljnog materijala, niska cijena otapala i priprema bez štetnih nusprodukata i generiranja štetnog otpada.

2. LITERATURNI PREGLED

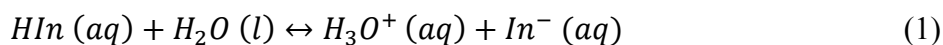
2.1. pH vrijednost i kiselo-bazni indikatori

pH vrijednost je mjera kiselosti to jest bazičnosti medija ili otopine neke tvari. Izražava se kao negativni dekadski logaritam množinske koncentracije vodikovih iona u otopini. Vrijednost pH može biti između 1 i 14 (slika 1.) pri 25 °C. Čista voda pri 25 °C ima pH vrijednost 7 jer je pri toj temperaturi koncentracija vodikovih i hidroksidnih iona jednaka i iznosi 10^{-7} mol/dm^3 . U kiselim otopinama koncentracija vodikovih iona je veća od koncentracije hidroksidnih iona pa je pH manji od sedam. U bazičnim otopinama koncentracija vodikovih iona je manja od koncentracije hidroksidnih iona pa je pH veći od 7 [4].



Slika 1. Raspon pH vrijednosti i promjene boje univerzalnog indikatora koje ukazuju na pojedini pH [5].

Kiselo-bazni indikatori su tvari koje mijenjaju boju ovisno o pH otopine u kojoj se nalaze zbog čega se koriste za određivanje pH vrijednosti otopine. Ovi indikatori su najčešće slabe organske kiseline ili baze koje kada se otupe u vodi nepotpuno disociraju tvoreći ione. Ukoliko indikator, odnosno slabu bazu, označimo sa HIn , a konjugiranu bazu sa In^- jednažba (1) predstavlja stanje ravnoteže pri čemu će kiselina imati jednu boju (A), a konjugirana baza drugu (B). Pri niskim pH vrijednostima ravnoteža se pomiče prema desno zbog velike koncentracije H_3O^+ iona te otopina ima boju (A), dok se pri visokim pH vrijednostima ravnoteža pomiče prema lijevo zbog niske koncentracije H_3O^+ iona i otopina će imati boju (B) [6]:



Za kiseli indikator može se primijeniti ravnotežni zakon, gdje je K_{In} konstanta disocijacije indikatora, koja je prikazana formulom (1) [6]:

$$K_{In} = \left(\frac{[H_3O^+][In^-]}{[HIn]} \right) \quad (1)$$

Boja indikatora će se promijeniti iz (A) u (B) u točki ekvivalencije kada je $[HIn] = [In^-]$. Iz formule (1) se zatim dobije relacija $K_{In} = [H_3O^+]$. U točki ekvivalencije, pH vrijednost otopine naziva se pK_{In} , a predstavlja onu pH vrijednost pri kojoj je pola indikatora u obliku kiseline, a druga polovica u obliku njezine konjugirane baze. Indikator je najučinkovitiji ukoliko je promjena boje jasna i u malom rasponu pH vrijednosti. Za većinu indikatora to je u rasponu ± 1 pK_{In} vrijednosti. U tablici 1. prikazani su primjeri indikatora s pK_{In} vrijednostima [6].

Tablica 1. Primjeri indikatora s promjenama boje, pK_{In} vrijednostima i rasponom pH u kojem mijenjaju boju [6].

Indikator	Boja		pK_{In}	Raspon pH
	Kiselina	Baza		
Metiloranž	crveno	žuto	1,5	1,2-2,8
Metil crveno	žuto	crveno	5,1	4,8-6,0
Fenolftalein	bezbojno	ružičasto	9,4	8,2-10,0
Fenol crveno	žuto	crveno	7,9	6,8-8,4
Bromkrezol zeleno	žuto	plavo	4,7	3,8-5,4
Bromtimol plavo	žuto	plavo	7,0	6,0-7,6

2.1.1. Sintetski indikatori

Univerzalni indikator je smjesa bojila koja postupno mijenja boju u cijelom rasponu pH (slika 1.). Glavni sastojci otopine univerzalnog indikatora su timol plavo, metil crveno, bromtimol plavo i fenolftalein. Svaki od ovih indikatora dobiva ili otpušta elektrone ovisno o kiselosti ili bazičnosti otopine koja se ispituje te mu to omogućuje veliku točnost. Može se koristiti za ispitivanje kiselosti ili bazičnosti vrlo različitih tvari kao što su tlo, mulj, hrana, voda i otpadna voda. Koristi se češće od ostalih indikatora zbog promjene boje u širokom pH

području. Osim u obliku otopine, univerzalni indikator se priprema i u obliku listića (slika 2.) [7, 8].



Slika 2. Univerzalni pH indikator u obliku listića [9].

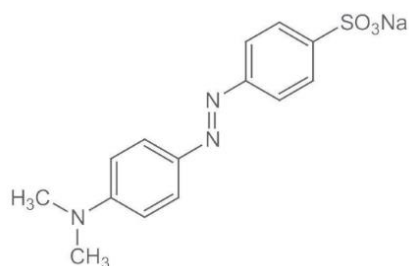
Lakmus je jedan od prvih indikatora koji se koristio za određivanje pH vrijednosti vodene otopine. Sastoji se od smjese vodotopljivih bojila dobivenih od lišajeva (*Rocella tinctoria* DC.) apsorbiranih na filter papir. Postoji crveni, plavi i neutralni lakmus papir. Neutralni lakmus papir je ljubičaste boje jer se sastoji od boja koje se koriste u crvenom i plavom lakmus papiru. Kada se plavi lakmus papir stavi u kiselu otopinu, boja prelazi iz plave u crvenu. S druge strane, kada se crveni lakmus papir stavi u bazičnu otopinu, boja prijeđe iz crvene u plavu (slika 3.) [10].



Slika 3. Promjena boje plavog i crvenog lakmus papira [11].

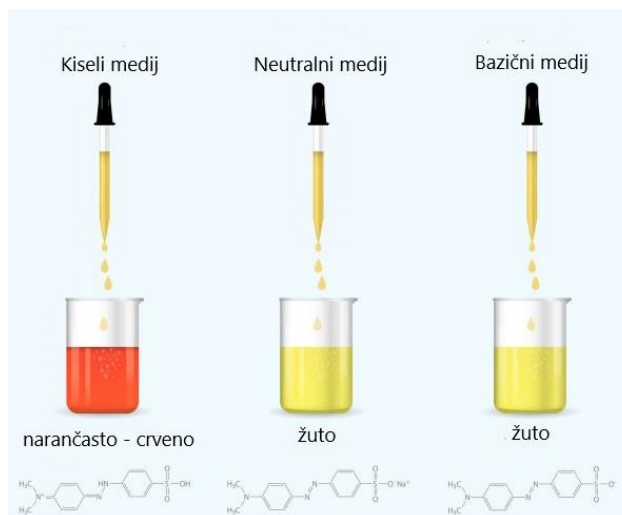
Neutralni lakmus papir prelazi u crvenu ili plavu boju ovisno o kiselosti odnosno bazičnosti otopine. Lakmus papir najčešće se koristi za određivanje pH vrijednosti otopina, ali može se koristiti i za određivanje pH vrijednosti plinova na način da se papir prije izlaganja plinu navlaži s destiliranom vodom [10].

Metiloranž ili 4-dimetilaminoazobenzen-4'-sulfonska kiselina, $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$, je jedan od najčešće korištenih indikatora u analitičkoj kemiji [12, 13]. Struktura spoja prikazana je na slici 4.



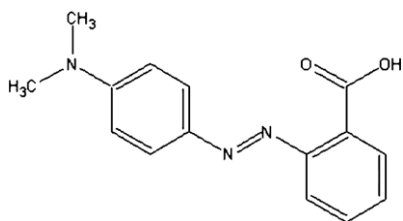
Slika 4. Struktura metiloranža [14].

Metiloranž nego mijenja boju iz crvene u žutu (slika 5.), a njegov efektivni pH raspon je 3,1-4,4. Metiloranž je toksičan. Danas se rijetko koristi kao bojilo u tekstilnoj industriji, ali se koristio za bojanje vune i svile. Također se koristi za određivanje broma i klora [12, 14, 15].



Slika 5. Metiloranž u kiselom, neutralnom i bazičnom mediju [12].

Metil crveno ili 2-[[4-(dimetilamino)fenil]diazetil] benzojeva kiselina, $C_{15}H_{15}N_3O_2$ (slika 6.), je vrlo čest indikator koji se koristi za kiselo-bazne titracije u analitičkoj kemiji [16, 17]. Strukturna formula prikazana je na slici 6.



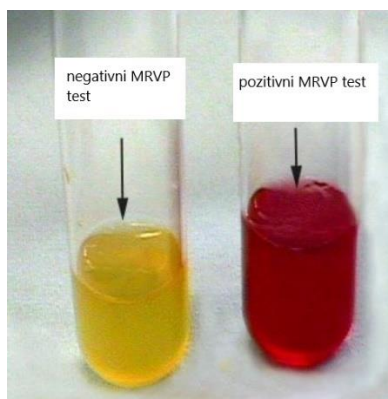
Slika 6. Strukturna formula metil crvenog [18].

U bazičnom mediju mijenja boju u žutu, a u kiselom mediju u crvenu (slika 7.). Efektivni pH raspon je 4,4-6,2. Metil crveno je toksičan, zapaljiv, nadražuje dišne puteve te je potencijalno kancerogen [16, 17].



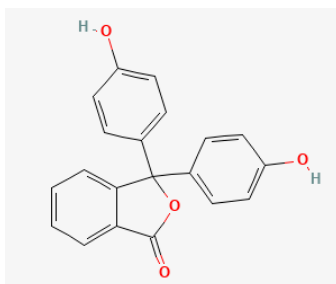
Slika 7. Metil crveno u kiselom (lijevo), neutralnom (sredina) i bazičnom (desno) mediju [19].

Metil crveno koristi se i u mikrobiologiji za otkrivanje bakterija čiji metabolički putevi daju kisele produkte. Neke bakterije koriste metaboličke puteve koji kao produkte daju mliječnu, octenu ili mravlju kiselinu te će dodatkom metilnog crvenog podloga postati crvena (tzv. metil crveno Voges-Prausker test, skraćeno MRVP slika 8.) [16, 17].



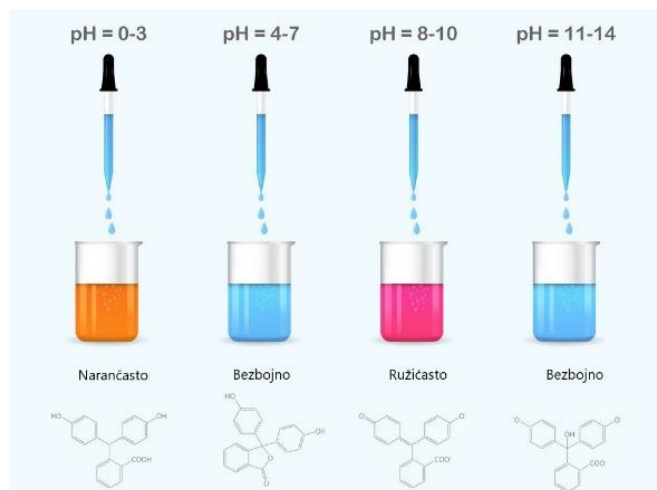
Slika 8. Prikaz negativnog i pozitivnog MRVP testa [20]

Fenolftalein ili 3,3-bis(4-hidroksifenil)-2-benzofuran-1-on, $C_{20}H_{14}O_4$, je indikator koji dolazi u obliku bijelog ili blago žutog praha [21, 22]. Struktura je prikazana na slici 9.



Slika 9. Struktura fenolftaleina [22].

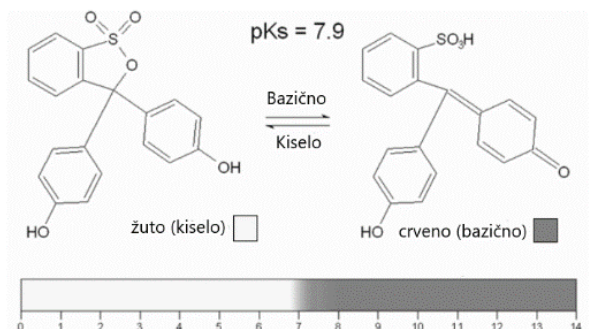
Fenolftalein je slaba kiselina koja je bezbojna kada se nalazi u kiselom mediju, a u bazičnom mediju poprima ružičastu boju (slika 10.). Efektivni pH raspon je 8,2-10 [22].



Slika 10. Promjena boje i strukture fenolftaleina u različitim medijima [23].

U prošlosti se koristio kao laksativ jer djeluje unutar šest do osam sati, a djelovanje ostaje čak do četiri dana. Međutim, 1999. godine Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) zabranila je korištenje fenolftaleina kao laksativa jer su ispitivanja pokazala mogućnost razvoja raka. Izloženost ovom spoju može uzrokovati kožne osipe, povraćanje, ubrzan rad srca, proljeve, komu pa čak i smrt [21, 22].

Fenol crveno, $C_{19}H_{14}O_5S$, ubraja se u grupu 3H-2,-benzoksatiol-1,1-dioksida gdje su oba vodika na poziciji 3 supstituirana s 4-hidroksipentilne grupe što je prikazano na slici 14. U kiselom mediju je žute boje, a u bazičnom ružičaste (slika 11.). Efektivni pH raspon je 6,8-8,4 [25-27].



Slika 11. Promjena boje i strukture fenol crvenog prema pH vrijednosti [28].

Često se koristi kao indikator u kulturama stanica i kućnim testovima pH vrijednosti vode u bazenu. Koristi se i u medicini kao fenolsulfonftalein test (engl. *Phenolsulfonphtalein test*, PSP) za procjenu ukupnog protoka krvi kroz bubreg. Otkriveno je da fenol crveno stimulira proliferaciju stanica i povećava razinu progesteronskih receptora u stanici. Može se pronaći kao sastojak šampona, regeneratora i maski za kosu. Ovaj spoj iritira kožu i dišne puteve [25-27].

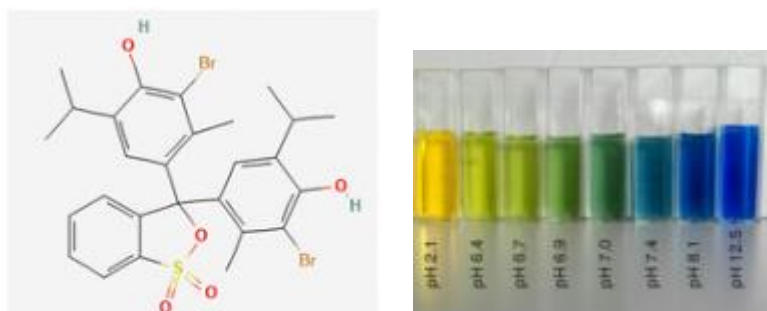
Bromkrezol zeleno je indikator formule $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ [29]. Struktura je prikazana na slici 12.



Slika 12. Struktura i boje bromkrezola pri različitim pH vrijednostima [30, 31].

U kiselom mediju je žute boje, dok u bazičnom mediju poprima zelenu (niži bazični pH) pa plavu boju (viši bazični pH) (slika 12.). Koristi se kao bojilo i kozmetičko bojilo. Ako se udahne može izazvati iritacije dišnih puteva [29, 32].

Bromtimol plavo je slaba kiselina formule $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ čija struktura je prikazana na slici 13. [33].



Slika 13. Struktura i boje bromtimol plavog pri različitim pH vrijednostima [33, 34].

U kiselom mediju poprima žutu boju, a u bazičnom mediju plavu. U neutralnom mediju je zelene boje (slika 13.). Kao i bromkrezol zeleno, koristi se kao bojilo i kozmetičko bojilo. Može uzrokovati iritacije na koži i u dišnim putevima [33].

2.1.2. Prirodni pH indikatori

Prirodni indikatori su vrsta indikatora koji se mogu naći u prirodi, a sadrže spojeve pomoću kojih se može odrediti je li ispitivana tvar kisela ili bazična. Neki primjeri prirodnih indikatora su crveni kupus, kurkuma, grejpa, višnje, rajčica, luk. Biljke, gljive i alge u sebi sadržavaju pigmente koji mogu mijenjati boju ovisno o pH vrijednosti medija. Skoro svaki cvijet koji je plave, crvene ili ljubičaste boje u sebi sadrži pigmente antocijanine koji mijenjaju boju ovisno o pH vrijednosti medija [35, 36].

U prirodi je pronađeno 23 antocijanidina, od kojih se najčešće šest istih nalazi u jestivim biljkama (cijanidin, peonidin, petunidin, malvidin, pelargonidin, delfinidin). Međutim, u prirodi je do danas identificirano preko 500 antocijanina. Cijanidin i peonidin daju narančasto-crvenu boju, a malvidin, delfinidin i petunidin daju plavo-crveno obojenje biljkama. Zbog toga se ti jestivi antocijanidini koriste kao boja u pićima [36, 37].

Antocijanini se razlikuju po strukturi, odnosno po broju hidroksilnih skupina te po broju, prirodi i položaju vezanih šećernih skupina. Kao antioksidansi djeluju keliranjem metalnog iona i uklanjanjem reaktivnih kisikovih vrsta, na primjer hidroksilnih radikala i superoksidnih radikal aniona. Za njihovu ekstrakciju iz biljaka i hrane koriste se polarna organska otapala, poput metanola i etanola. Antocijanini se nalazi u najpoznatijem prirodnom indikatoru crvenom

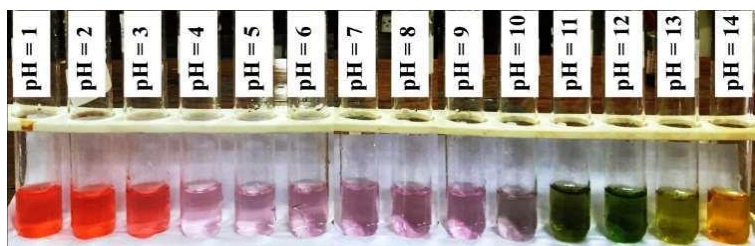
kupusu, a još ga sadrže i patlidžani, višnje, ruže i crno grožđe. Biljke također sadrže i druge pigmente, kao što su klorofil *A* i *B* koji daju zelenu boju, ksantofili koji daju žutu boju i karotenoidi koji su odgovorni za narančastu boju [36, 37].

Kurkuma (*Curcuma longa* L.) je biljka od čijeg se korijena dobiva prah žute boje istog imena, koji se koristi kao začín. Prirodno je žute boje, ali kada se nalazi u bazičnom mediju poprima crvenu boju (slika 14.). Kao indikator se može koristiti u obliku papira od kurkume na način da se pomiješa s vodom tako da se dobije pasta, a zatim nanese na filter papir i ostavi da se osuši [38].



Slika 14. Kurkuma u kiseloj ili neutralnoj (lijevo) i bazičnoj sredini (desno) [39].

Cvijet tropskog hibiskusa (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) može poslužiti kao prirodni indikator. Cvijet se pomiješa s vodom da se dobije svijetlo ružičasto obojan indikator. Kada dođe u dodir s kiselim tvarí, indikator daje tamno crvenu boju, a kada se nalazi u bazičnom okruženju prelazi u zelenu i tamno žutu boju (slika 15.) [38].



Slika 15. Cvijet tropskog hibiskusa kao indikator [40].

Sok crvenog kupusa (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra* L.) je ljubičaste boje, međutim kada se pomiješa s kiselim ili bazičnim medijem dolazi do promjene boje. Ako dođe u dodir s kiselim medijem boja prelazi u crvenu, a kada dođe u dodir s bazom boja prelazi u

zelenu i žutu (slika 16.). Crveni kupus se kao indikator može pripremiti tako da se sitno nasjecka i stavi u prokuhanu vodu. Kada se voda ohladi, procijedi se u čašu kao ljubičasta otopina odnosno sok crvenog kupusa [38].



Slika 16. Crveni kupus kao indikator [41].

Lišće divljeg kestena (*Aesculus hippocastanum* L.) se namoči u alkoholu da se izluči fluorescentna boja zvana eskulin. On je bezbojan pri pH 1,5, ali kada dosegne pH 2, poprima fluorescentnu boju. Rezultati su još bolje vidljivi ako se indikator osvjetljava UV svjetlom [42].

Luk je posebna vrsta indikatora jer osim što mijenja boju, on je i mirisni indikator. U bazičnim otopinama miris luka se ne osjeća. Crveni luk (*Allium cepa* L.) u kiseljoj otopini mijenja boju u svijetlo crvenu, a u bazičnoj otopini u zelenu [42].

Različite kućne kemikalije i prehrambeni proizvodi također mogu poslužiti kao pH indikatori. Soda je vrsta indikatora jer se zapjeni kada se doda u kiselinu, ali kada je dodana u bazu tada se ne pjeni. Ekstrakt vanilije se koristi kao mirisni indikator jer se pri visokom pH ne osjeća karakterističan miris vanilije jer se molekula nalazi u ionskom obliku. Neki laksativi u obliku tablete sadrže fenolftalein, pa zbog toga mijenjaju boju u ružičastu kada dođu u kontakt s bazičnom sredinom, dok u kiseljoj sredini ta promjena boje izostaje [42].

2.2. Berberidaceae, žutike

Berberidaceae je naziv za porodicu žutika iz reda Ranunculales, koji se sastoji od 14 rodova i 701 vrste višegodišnjih biljaka i grmova. Biljke ove porodice formiraju vrlo raznolike oblike grmova s bodljama ili listovima koji imaju bodljikave rubove dok je oblik cvijeta vrlo promjenjiv od vrste do vrste. Ove biljke rastu na sjevernoj polutki i u Južnoj Americi. Najvažniji i najveći rod je Berberis u koji se ubraja oko 500 vrsta biljaka, a među njima se nalaze mnoge ukrasne biljke uključujući i najpoznatiju običnu žutiku (*B. vulgaris* L.). Još neke poznate biljke

koje pripadaju ovoj porodici su nandina (*Nandina domestica* Thunb.), podofilin (*Podophyllum peltatum* L.), planinska biskupska kapica (*Epimedium alpinum* L.) i vazdazelena mahonija (*M. aquifolium* (Pursh.) Nutt.) [43].

Porodicu žutika u Republici Hrvatskoj čine grmovi ili trajnice podijeljeni u tri roda: *Epimedium*, *Berberis* i *Mahonia*. Ove biljke imaju izmjenične listove i male palistiće. Cvjetovi su dvospolni, formirani u grozd ili metlicu, a ocvijeće je dvostruko (s često razvijenim nektarijima) s 4 ili 6 lapova, latica i prašnika. Cvijet ima po jednu plodnicu s jednom stigmom, tako da se otvara ili je nalik na bobu. Rod *Epimedium* ima samo jednu vrstu u RH, rod *Berberis* ima dvije vrste, a *Mahonia* isto samo jednu vrstu [44].

2.2.1. Obična žutika (*Berberis vulgaris* L.)

Obična žutika, *B. vulgaris* L., je vrsta listopadnog grma koji može narasti do 3 metra visine. Kada je biljka mlada, grane izgledaju kao crvenkaste šibe koje kako biljka stari postaju drvenaste i sivo-smeđe boje, s duboko izbrazdanom korom. Pupoljci su sitni, veličine oko 1 milimetra, jajastog oblika i nalaze se kod dugog trna. Epileptični i jajasti listovi dugi su oko 4 centimetra i široki 2 centimetra, tvore snopiće na kratkim peteljicama, a na dodir su dlakavi i sitno nazubljeni. Na jesen listovi postaju crvenkasti i oko njih se nalaze 3 račvasta trna. Ovaj grm krasi žuto narančasti mirisni cvjetovi koji su dvospolni, građeni u viseće grozdaste cvatove duge 5 centimetara. Cvijet ima 5 prašnika, a biljka cvate u svibnju i lipnju. Plodovi su male bobice, veličine oko 12 milimetara i crvene boje (slika 17) [45]. Sistematska klasifikacija obične žutike prikazana je u tablici 2. [46].



Slika 17. Crveni plodovi obične žutike [45].

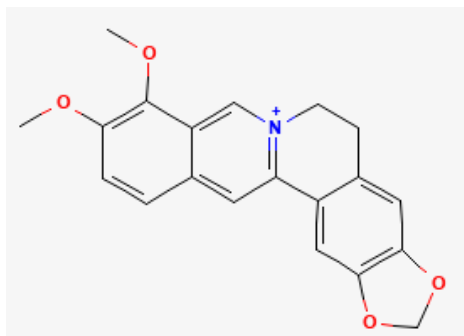
Tablica 2. Klasifikacija obične žutike [46].

Carstvo	Plantae
Koljeno	Spermatophyta
Razred	Dicotyledonae
Red	Ranunculales
Porodica	Berberidaceae
Rod	Berberis
Vrsta	<i>Berberis vulgaris</i> L.

U Iranu je žutika poznata pod nazivom *Zereshk* [47]. Postoje žutike s ljubičastim, narančastim i crvenim plodovima, ali od njih najjače antioksidacijsko djelovanje imaju ljubičasti plodovi jer imaju veći udio fenola i flavonoida. Glavni fenolni spoj je klorogena kiselina. Polifenoli su odgovorni su za antialergijsko, protuupalno, antimikrobno i antioksidacijsko djelovanje preparata od žutike. Antocijanini i karotenoidi su prirodna bojila koji se nalaze u ovoj biljci. Antocijanini su topljivi u vodi, a za razliku od njih karotenoidi su stabilniji i topljivi u mastima. Stabilnost karotenoida ovisi o temperaturi, pH, načinu obrade hrane i tretmanu nakon berbe. Antocijanini i karotenoidi zaslužni su za regulaciju krvnog tlaka i imaju terapijske učinke na bolesti poput raka i dijabetesa [48].

Žutika ima dugu povijest upotrebe kao narodni lijek zbog antimikrobnog, protuupalnog, antioksidativnog učinka i koagulacijskih svojstva. Glavni bioaktivni spoj je berberin [49]. U biljci su pronađeni drugi bioaktivni spojevi, poput beta-karotena, vitamina C, flavonoida, triterpena i palmitina. Različite vrste žutike koriste se u prehrani, medicini i homeopatiji. Plodovi se koriste za bolesti i tegobe bubrega, urinarnog, gastrotestinalnog trakta, jetre, bronhijalne tegobe i kao stimulans za krvožilni sustav. Iako se korijen i stabljika mogu također koristiti za sve navedeno, toksične su zbog visoke koncentracije berberina. Lišće, plod i cvijeće berberin sadrže samo u tragovima [50].

Berberin (slika 18.) je kvaterna amonijeva sol izokinolinskog alkaloida i aktivna komponenta raznih kineskih biljaka, zlatice (*Ranunculus ficaria* L.), žutike i mahonije. Ima antineoplastično, radiosenzibilizirajuće, protuupalno, antilipidemijsko i antidijabetičko djelovanje. Iako mehanizmi djelovanja berberina još nisu u potpunosti razjašnjeni, pretpostavlja se da berberin suzbija aktivaciju različitih proteina i/ili modulira ekspresiju niza gena uključenih u tumorogenezu i upalu [51, 52].

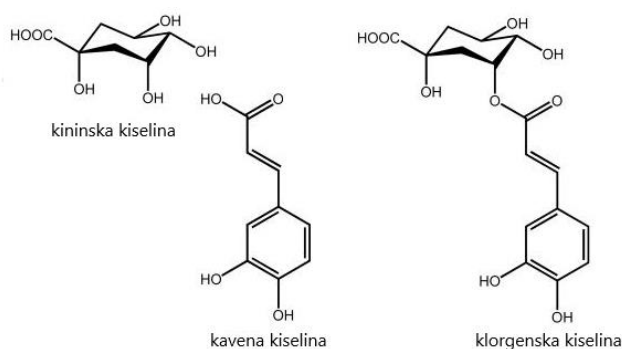


Slika 18. Struktura berberina [51].

Triterpeni su najreprezentativnija skupina fitokemikalija s više od 30000 poznatih spojeva. Sastoje se od šest C5 izoprenskih jedinica i biosintetizirani su ciklizacijom skvalena. Utvrđeno je da posjeduju nekoliko farmakoloških svojstava kao što su antikancerogeno, anti-HIV i protuupalno djelovanje. Biljke koje sadrže pentacikličke triterpene koristile su se u narodnoj medicini u mnogim dijelovima svijeta od davnina. Većina pentacikličkih triterpena koji se nalaze u voću, kao što su oleanolna kiselina i ursolna kiselina, raspoređeni su unutar kože zbog čega dolazi do značajnog gubitka ovih spojeva ako se plodovima tijekom prerade ukloni kožica. Ekstrakcija ovih spojeva može se postići upotrebom različitih tehnika, npr. ekstrakcijom potpomognutom mikrovalovima i ekstrakcijom superkritičnim fluidom [53].

Flavonoidi su velika skupina spojeva od preko 5000 hidroksiliranih polifenolnih spojeva koji obavljaju važne funkcije u biljkama, uključujući privlačenje insekata i borba protiv okolišnih stresora. Od 1990-ih raste interes za prehrambene flavonoide zbog njihovog doprinosa zdravstvenim dobrobitima prehrane bogate voćem i povrćem. Flavonoidi su klasificirani u 12 glavnih podrazreda na temelju kemijske strukture. Antocijanidini, flavan-3-oli, flavonoli, flavoni, flavanoni i izoflavoni su šest podrazreda flavonoida koji su od prehrambene važnosti (slika 23.). Glikozilirani flavonoli (vezani za najmanje jednu molekulu šećera) najrasprostranjeniji su flavonoidi. Većina flavonoida nalazi se u jestivim biljkama i hrani kao β -glikozidi [54].

Klorogena kiselina je polifenol i ester kavene kiseline i kininske kiseline (slika 19.) koji se nalazi u kavi i crnom čaju, s potencijalnim antioksidativnim i kemopreventivnim djelovanjem. Klorogena kiselina hvata slobodne radikale, što inhibira oštećenje DNA i može zaštititi od nastanka raka. Osim toga, ovo sredstvo može pojačati ekspresiju gena uključenih u aktivaciju imunološkog sustava i pojačati aktivaciju i proliferaciju citotoksičnih T-limfocita, makrofaga i NK stanica. Klorogena kiselina također inhibira aktivnost metaloproteinaza [55].



Slika 19. Struktura kininske, kavene i klorogene kiseline [55].

Nedavno, obična žutika je zbog raznih učinaka na zdravlje postala predmet znanstvenih istraživanja. Na primjer, Shekarabi, i sur. (2022) ispitali su *B. vulgaris* L. kao prehrambeni ekstrakt za sibirsku jesetru. Utvrdili su da ribe hranjene tim ekstraktom nakon osam tjedana imaju veći broj leukocita i limfocita u odnosu na kontrolnu skupinu. Također su povećane aktivnosti enzima proteaze, alkalne fosfataze i easteraze. Žutika je djelovala i antibakterijski jer su ribe razvile imunitet na bakterije *Streptococcus iniae*, *Yersinia ruckeri*, *Escherihia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* i *Lactococcus garieae* [49].

Inteligentno pakiranje je nova inovativna tehnologija pakiranja hrane koja sadrži vanjski i unutarnji indikator za pružanje informacija o kvaliteti hrane. Indikator je ugrađen u materijal za pakiranje i daje signal ukoliko dođe do promjene kvalitete hrane. Zbog toga što se radi o hrani, prirodna bojila imaju prednost pred sintetskim. Sani i sur. (2021) ispitali su primjenu žutike (*B. vulgaris* L.) kao indikatora u pametnim pakiranjima. Kada se pH povećao, boja se promijenila iz crvene (jako kiseo medij) u žutu (jako bazičan medij) što je objašnjeno promjenom strukture antocijanina (za crvenu boju su odgovorni flavilijevi kationi, za sivu karbinol pseudo-baze, za ljubičastu kinoidalne anhidridne baze, a za žutu čalkoni) i zaključeno je da se žutika može koristiti i u ove svrhe [56].

Također, prema istraživanju Bakmohamadpor i sur. (2021) grickalice od ekstrudiranog kukuruza koje nemaju mnogo biološki aktivnih tvari i veliki udio škroba i ulja, mogu se proizvoditi s ekstraktom žutike (*B. vulgaris* L.). Nakon 90 dana skladištenja, grickalice s ekstraktom su pokazale povećanje vlakna s 2,9 % na 6,2 %, smanjenje razine ulja s 25,5 % na 19,5 % i povećanje sadržaja vitamina C s 0,28 ppm na 3,4 ppm [57].

Behravan i sur. (2019) su proučavali zelenu sintezu srebrnih nanočestica pomoću vodenih ekstrakata lista i korijena žutike (*B. vulgaris* L.), a uz to su ispitali i antibakterijsku aktivnost

(učinkovitost protiv *E. coli* i *Staphylococcus aureus*) ovih ekstrakta. Sintetizirane nanočestice su imale kuglasti oblik, veličine 30-70 nm te su pokazale bolji antibakterijski učinak od vodenih ekstrakata. Biosinteza nanočestica srebra pomoću vodnih ekstrakata obične žutike pokazala se kao čista, jeftina i sigurna metoda, bez upotrebe štetnih ili toksičnih tvari te bez štetnih i toksičnih nusprodukata. Nadalje, ovako sintetizirane nanočestice pokazale su i visoku antibakterijsku aktivnost [58].

2.2.2. Vazdazelena mahonija (*Mahonia aquifolium* (Pursh.) Nutt.)

Vazdazelena mahonija, *M. aquifolium* (Pursh.) Nutt., je trajnica iz porodice žutika. Raste kao grm do 150 centimetara visine. Biljka ima tamno smeđu koru i grane bez trnova. Kad se pogleda korijen, vidi se da je on intenzivno žute boje. Listovi su bodljikavi i kožasti, neparno perasti i posebnost im je što su cijele godine tamno zeleni s gornje strane, a naličje lista je nešto svjetlije. U zimskom periodu izgledaju tamno crveno. Cvjetovi su grozdasti, žute boje, a biljka obilno cvate od ožujka do lipnja. Karakteristika cvijeta je da dvospolna čaška ima 9 listića, 6 kruničnih listova, 6 prašnika i tučak koji nosi nekoliko sjemenih zametaka. Što se tiče oprašivanja, oprašuju ju kukci, posebno pčele. Plavkaste bobice su plod koji krase ovu zimzelenu trajnu biljku (slika 20.) [59]. Sistematska klasifikacija je prikazana u tablici 3. [60].



Slika 20. Plavi plodovi vazdazelene mahonije [59].

U narodnoj medicini biljke iz roda mahonija koriste se diljem svijeta kao lijek protiv tuberkuloze, dizenterije, faringolaringitisa, ekcema i drugih kožnih problema. Osim toga, preparati na bazi ovih biljaka pokazali su se posebno učinkovitima u liječenju psorijaze [61].

Ramah Navaho Indijanci su koristili mahoniju za povraćanje, liječenje proljeva i pomoć pri ugrizu škorpiona. U Americi ova biljka se koristi za liječenje vrućice, gihta, reumatskih bolesti, bolesti bubrega i žuči [62].

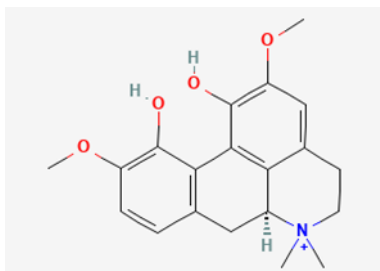
Tablica 3. Sistematska klasifikacija vazdazelene mahonije [60].

Carstvo	Plantae
Koljeno	Spermatophyta
Razred	Dicotyledonae
Red	Ranunculales
Porodica	Berberidaceae
Rod	Mahonia
Vrsta	<i>Mahonia auqifolium</i> L.

Korijen mahonije sadrži farmakološki aktivne alkaloidne berberin, palmatin, jatrorizin, kolumbamin i oksiberberin. Prema rezultatima ispitivanja Stonikova i sur. (1994), ekstrakt korijena mahonije te berberin i oksiakantin smanjili su napetost aorinih prstena štakora. Uz to, berberin i oksiakantin su smanjili odgovor aoritnih prstena na noradrenalin i fenilefrin [63]. Nadzemni dio biljke sadrži samo berberin, palmatin i jatrorizin. Najvažniji spojevi koji se nalaze u bobicama mahonije su antocijanini kao glavni antioksidativni spojevi (a od njih su glavni klorogena kiselina i cijanidin-3-*O*-glukozid) [37].

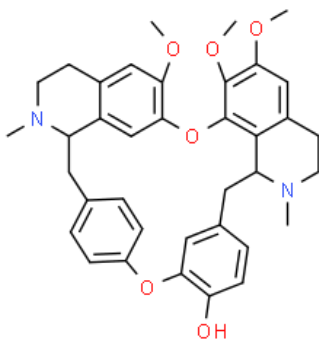
Slobodni radikali i oksidacijski stres smatraju se potencijalnim uzročnicima mnogih degenerativnih bolesti. Račkova i sur. (2004) ispitali su antioksidacijsku aktivnost tri alkaloida izolirana iz mahonije, berberina, jatrozina i magnoflorina. Ispitali su prisutnost i položaj –OH skupina, steričke uvjete i delokalizaciju nesparenih elektrona te parametre vezane za lipofilnost i energiju hidracije. Antiradikalnu aktivnost su procijenili temeljem reaktivnosti prema 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal (engl. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*, DPPH). Antioksidacijske karakteristike ovih spojeva ispitane su u heterogenim membranskim sustavima (liposomima). Jatrozina i magnoflorina imaju slobodne fenolne skupine pa pokazuju bolju aktivnost od berberina koji u strukturi nema vodik koji bi mogao donirati. Jatrozina i magnoflorina su u liposomskoj membrani pokazali veliku antiperoksidativnu učinkovitost, koja je usporedna s učinkovitim hvatačima peroksilnih radikala (kao što je stobadin) i bolja od Troloxa. Berberin je policiklički spoj visoke lipofilnosti koji može sudjelovati u redoks reakcijama. Magnoflorin (slika 21.) ima

nižu entalpiju disocijacije veze (engl. *Bond Dissociation Enthalpy*, BDE) nego jatrozin zbog čega djeluje kao bolji antioksidans [64].



Slika 21. Struktura magnoflorina [65].

Berbamin je bis-benzilizokinolin alkaloid i najčešća bioaktivna komponenta u biljnim pripravcima kineske tradicionalne medicine. Bioaktivnost berbamina se sastoji od antihipertenzijskog, antiaritmičkog i protuupalnog djelovanja. Koristi se u liječenju kronične mijeloične leukemije jer je pokazao izvrstan antiproliferacijski učinak na tumorske stanice, ali metabolizam i toksičnost ovog alkaloida još uvijek nije dobro istražen [66]. Struktura berbamina prikazana je na slici 22.



Slika 22. Struktura berbamina [67].

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Ispitivani biljni materijal

U ovom radu korišten je svježi i suhi biljni materijal koji se botanički klasificira u porodicu žutika, Berberidaceae. Dvije biljke čiji su plodovi korišteni su obična žutika (*B. vulgaris* L.) i vazdazelena mahonija (*M. aquifolium* (Pursh.) Nutt.). Korištene su svježe i suhe zrele bobice. Bobice su sušene na zraku nekoliko mjeseci, sve dok vaga više nije pokazivala gubitak mase.

3.2. Kemikalije i pribor

Sve kemikalije korištene u ovom radu su analitičke čistoće. Voda koja je korištena za pripremu otopina različitih pH vrijednosti je demineralizirana i deionizirana.

Od kemikalija korišteno je: klorovodična kiselina, HCl ($M=36,46$ g/mol, Kemika), natrijev hidroksid, NaOH ($M=39,99$ g/mol, Kemika), etanol, C_2H_5OH ($M=46,07$ g/mol, Kemika), metanol, CH_3OH , ($M= 32,94$ g/mol, Kemika), aceton, C_3H_6O , ($M=58,08$ g/mol, Kemika) i ultračista voda.

Od pribora korišteno je: keramički tarionik s tučkom, staklene čaše, jažice, odmjerne tikvice, kapalice, stakleni štapić, pipeta, staklene bočice s čepom, automatske pipete.

Od uređaja korišteno je: grijaće tijelo, analitička vaga, magnetska miješalica, uređaj za ultračistu vodu (TKA, WASSERAUFBEREITUNGSSYSTEME) i pH metar (808 Titrand, Metrohm).

3.3. Priprema otopina određenih pH vrijednosti

Otopine određenih pH vrijednosti pripremaju se razrjeđivanjem koncentrirane HCl i krutog NaOH. Za otopinu pH = 7 koristi se ultračista voda, što se provjerilo pH-metrom. Prvo je pripremljen kiseli medij, odnosno otopina čiji je pH = 1. Za pripremu takve otopine izračunati volumen koncentrirane HCl se ulije u odmjernu tikvicu u kojoj se već nalazi malo ultračiste vode. Nakon ulijevanja tikvica se dopuni vodom do oznake. Otopina pH = 2 priprema se na isti način, a ostale otopine pH = 3-6, pripremljene su razrjeđivanjem otopine pH = 1. pH svih otopina provjeren je pH-metrom i prema potrebi korigiran. Bazični medij priprema se otapanjem krutog NaOH u ultračistoj vodi. Za pripremu otopine čiji je pH = 14 potrebno je

izračunati masu NaOH izvagati i dodati u odmjernu tikvicu koja se zatim nadopuni vodom do oznake. Na ovaj način priređene su i otopine pH = 11-13, a otopine s pH = 10-8 priređene su razrjeđivanjem otopine pH = 12. Svim otopinama je također provjeren pH pomoću pH-metra i korigiran ukoliko je bilo potrebno. Razlika u pH vrijednosti koja se tolerira iznosi $\pm 0,1$.

3.4. Priprema biljnog materijala, postupak i plan rada

Uzorci korištenog svježeg ili suhog biljnog materijala mase 1 grama obrađeni su u tarioniku s 5 mililitara određenog otapala. Korištena otapala bila su: hladna voda, vrela voda, metanol, etanol i aceton. Plan rada prikazan je u tablici 4.

Tablica 4. Plan rada.

Biljni materijal			
obična žutika		mahonija	
svježa biljka	suha biljka	svježa biljka	suha biljka
otapalo	hladna voda	hladna voda	
	vruća voda	vruća voda	
	metanol	metanol	
	etanol	etanol	
	aceton	aceton	

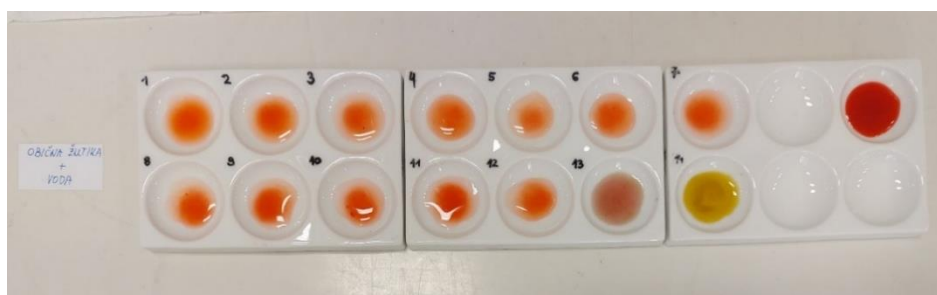
Potencijal primjene ovako pripremljenih indikatora ispitan je odmah nakon pripreme.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Obična žutika (*Berberis vulgaris* L.)

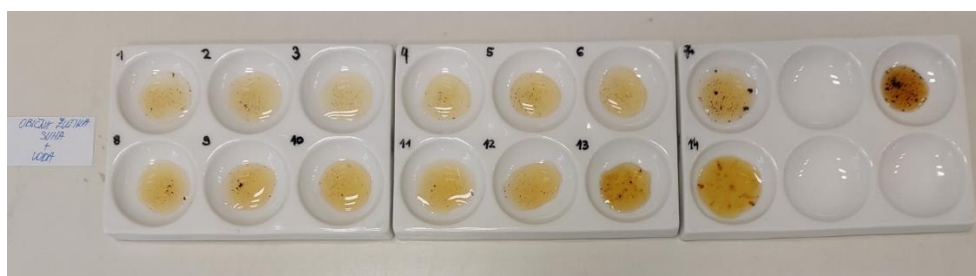
4.1.1. Voda kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica obične žutike i vode kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 23. i 24.



Slika 23. Indikator pripremljen od svježih bobica obične žutike i vode.

Rezultati istraživanja pokazuju da ukoliko se koristi obična voda kao otapalo, u slučaju indikatora od svježih bobica obične žutike (slika 23.) pri $\text{pH} = 1-12$ dolazi do promjene boje u narančastu. Kod $\text{pH} = 13$ boja postaje svijetlo crvena, a kod $\text{pH} = 14$ postaje oker u odnosu na referentu otopinu koja je crvene boje (referentna otopina je sam indikator).

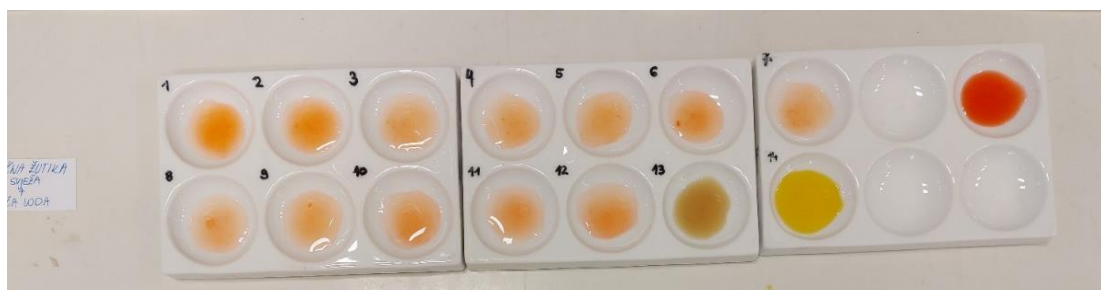


Slika 24. Indikator pripremljen od suhih bobica obične žutike i vode.

Indikator od suhih bobica obične žutike (slika 24.) i vode pri $\text{pH} = 1-12$ ima svijetlo žutu boju, kod $\text{pH} = 13$ ona prelazi u malo tamniju žutu dok kod $\text{pH} = 14$ prelazi u tamno žutu boju. Referentni uzorak je smeđe boje.

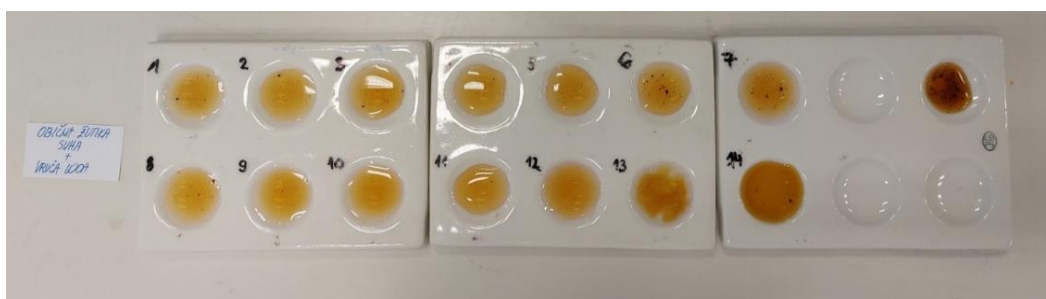
4.1.2. Vruća voda kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica obične žutike i vruće vode kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 25. i 26.



Slika 25. Indikator pripremljen od svježih bobica obične žutike i vruće vode.

Indikator od svježih bobica obične žutike (slika 25.) i vruće vode pri $\text{pH} = 1-12$ ima narančastu boju koja kod $\text{pH} = 13$ postaje žuto smeđa, a kod $\text{pH} = 14$ prelazi u žutu. Referentni uzorak je narančasto crvene boje.



Slika 26. Indikator pripremljen od suhih bobica obične žutike i vruće vode.

Suhe bobice obične žutike (slika 26.) s vrućom vodom ne pokazuju impresivne rezultate kao kiselo-bazni indikator. Pri $\text{pH} = 1-12$ indikator daje svijetlu žuto-smeđu boju, kod $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$ svijetlo smeđu. Referentni uzorak je svijetlo smeđe boje.

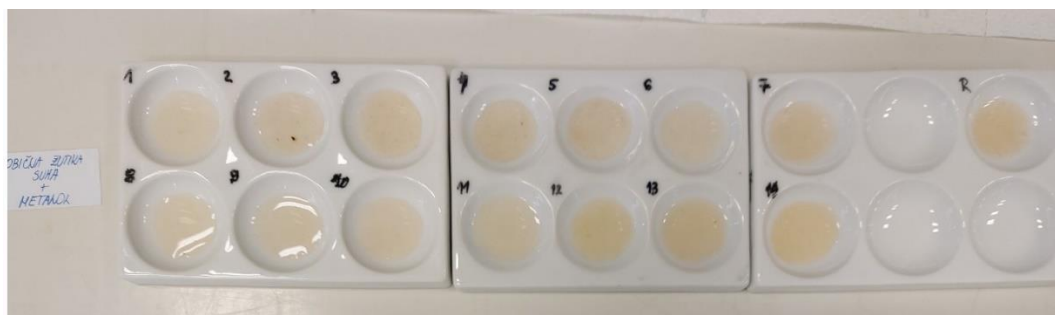
4.1.3. Metanol kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica obične žutike i metanola kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 27. i 28.



Slika 27. Indikator pripremljen od svježih bobica obične žutike i metanola.

Indikator od svježih bobica obične žutike (slika 27.) i metanola pri pH = 1-12 daje svijetlo narančastu boju, kod pH = 13 žuto-smeđu, a kod pH = 14 žutu boju. Referenti uzorak je svijetlo narančaste boje.

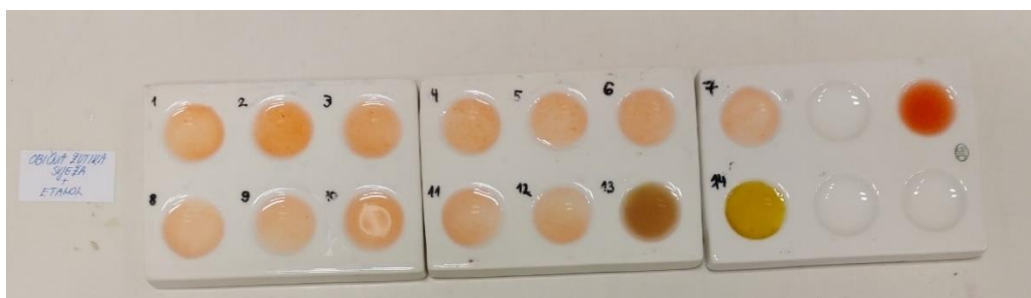


Slika 28. Indikator pripremljen od suhih bobica obične žutike i metanola.

Indikator od suhih bobica obične žutike (slika 28.) i metanola ne pokazuje dobre rezultate kao kiselo-bazni indikator jer od pH = 1-14 daje samo blage nijanse svijetlo žute boje.

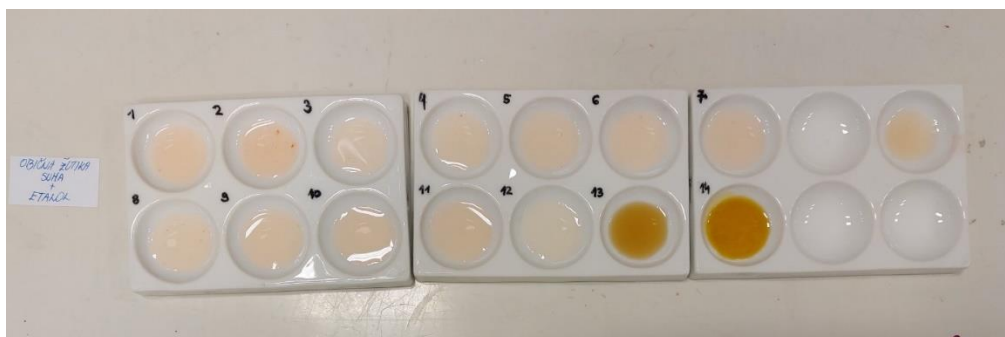
4.1.4. Etanol kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica obične žutike i etanola kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 29. i 30.



Slika 29. Indikator pripremljen od svježih bobica obične žutike i etanola.

U slučaju indikatora pripremljenog od svježih bobica obične žutike i etanola pri $\text{pH} = 1$ - 12 (slika 29.) vidi se svijetlo narančasta boja. Referentni uzorak je intenzivno narančaste boje. Kod $\text{pH} = 13$ boja se promjeni u smeđu, a kod $\text{pH} = 14$ u žutu.

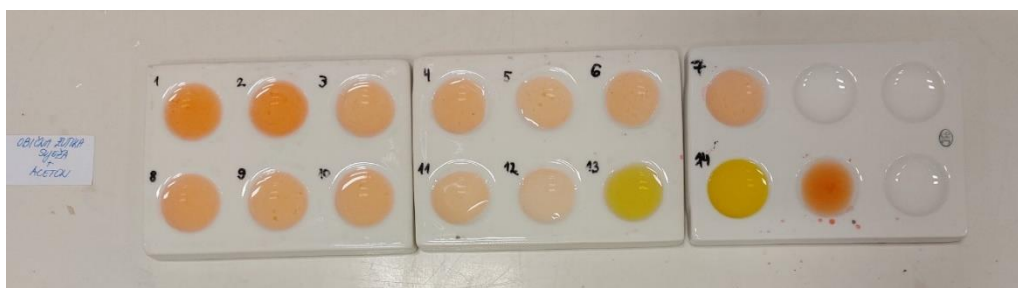


Slika 30. Indikator pripremljen od suhih bobica obične žutike i etanola.

Suhe bobice obične žutike (slika 30.) i etanol, pri $\text{pH} = 1$ - 12 daju svijetlo narančastu boju, a kod $\text{pH} = 13$ - 14 žućkastu oker boju. Referentni uzorak je smeđe boje.

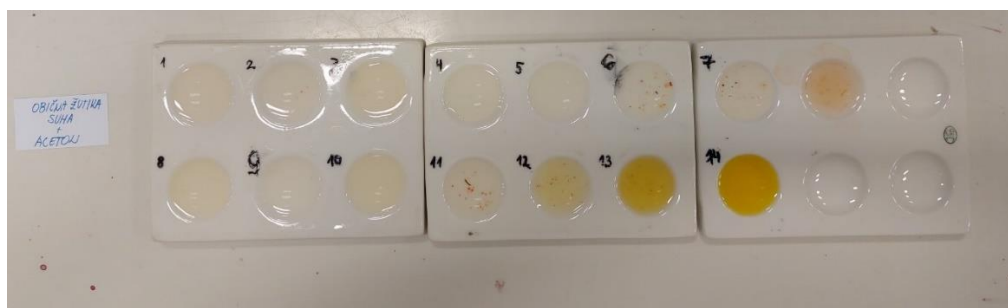
4.1.5. Aceton kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica obične žutike i acetona kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 31. i 32.



Slika 31. Indikator pripremljen od svježih bobica obične žutike i acetona.

U slučaju indikatora pripremljenog s acetonom vidi se najviše nijansi boja (slika 31.). Pri pH = 1-2 boja je narančasta, zatim pri pH = 3-12 postaje svijetlo narančasta i pri pH = 13-14 poprima intenzivno žutu boju.



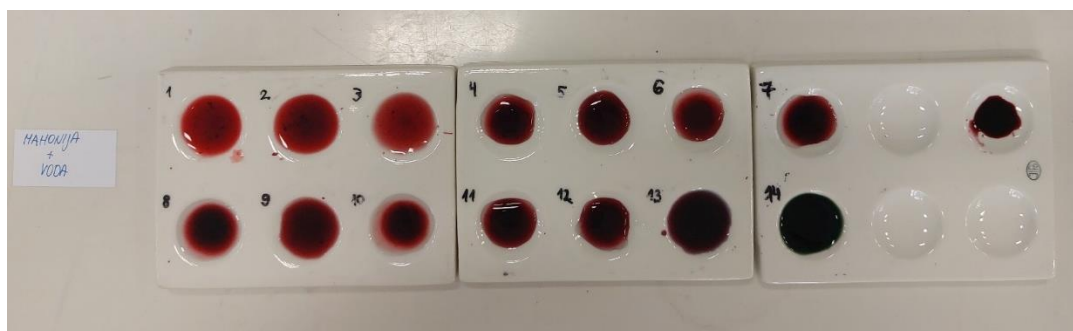
Slika 32. Indikator pripremljen od suhih bobica obične žutike i acetona.

Suha obična žutika (slika 32.) pri pH = 1 - 11 ima vrlo svijetlo žutu boju tako da se čini kao da je bezbojna. Kod pH = 12 boja postaje vidljivo svijetlo žuta, a pri pH = 13 - 14 intenzivno žuta.

4.2. Vazdazelena mahonija (*Mahonia aquifolium* (Pursh.) Nutt.)

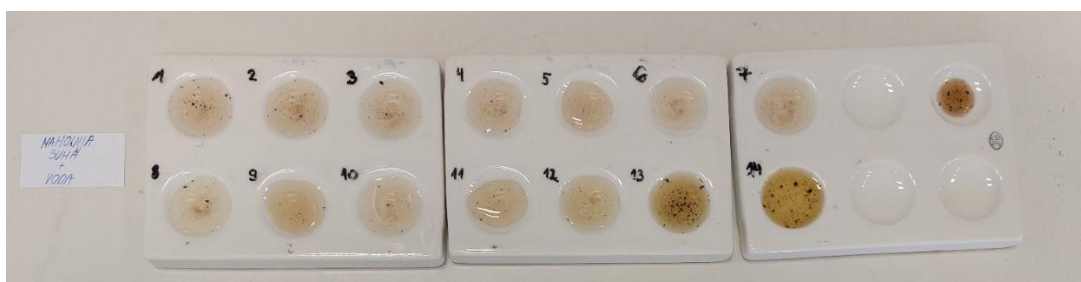
4.2.1. Voda kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica vazdazelene mahonije i vode kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 33. i 34.



Slika 33. Indikator pripremljen od svježih bobica mahonije i vode.

Indikator od svježih bobica mahonije (slika 33.) i vode pri $\text{pH} = 1-3$ ima svijetlo crvenu boju, pri $\text{pH} = 4-12$ tamno crvenu boju, a kod $\text{pH} = 13$ ona prelazi u ljubičastu. Kod $\text{pH} = 14$ dolazi do najizraženije promjene boje jer ona prelazi u zelenu.

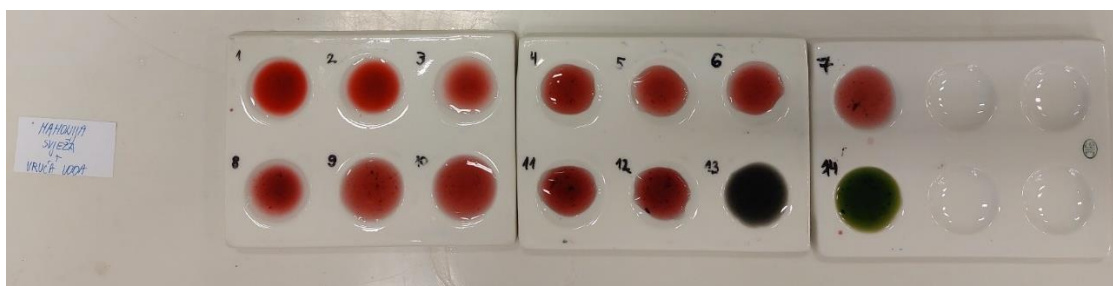


Slika 34. Indikator pripremljen od suhih bobica mahonije i vode.

Indikator od suhih bobica mahonije (slika 34.) i vode pri $\text{pH} = 1-12$ ima svijetlo žutu boju, a kod $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$ tamno žutu boju. Referenti uzorak je smeđe boje.

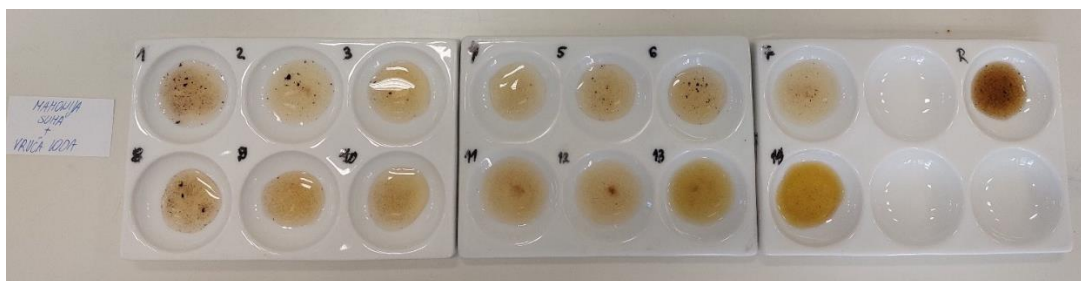
4.2.2. Vruća voda kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica vazdazelene mahonije i vruće vode kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 35. i 36.



Slika 35. Indiktor pripremljen od svježih bobica mahonije i vruće vode.

Indikator od svježih bobica mahonije (slika 35.) i vruće vode kod $\text{pH} = 13$ ima plavu boju, a kod $\text{pH} = 14$ zelenu boju što je u odnosu na crvenu boju pri $\text{pH} = 1-12$ intenzivna promjena.

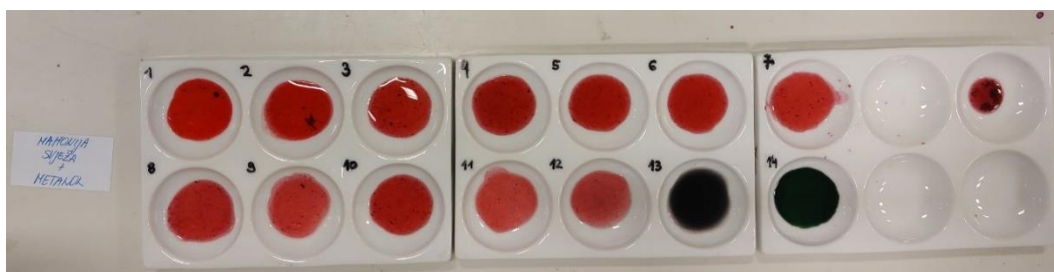


Slika 36. Indiktor pripremljen od suhih bobica mahonije i vruće vode.

Suhe bobice mahonije i vruća voda (slika 36.) pri $\text{pH} = 1-12$ daju svijetlo žutu boju koja kod $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$ postaje tamnija, ali se ne razlikuje mnogo. Referentni uzorak je smeđe boje.

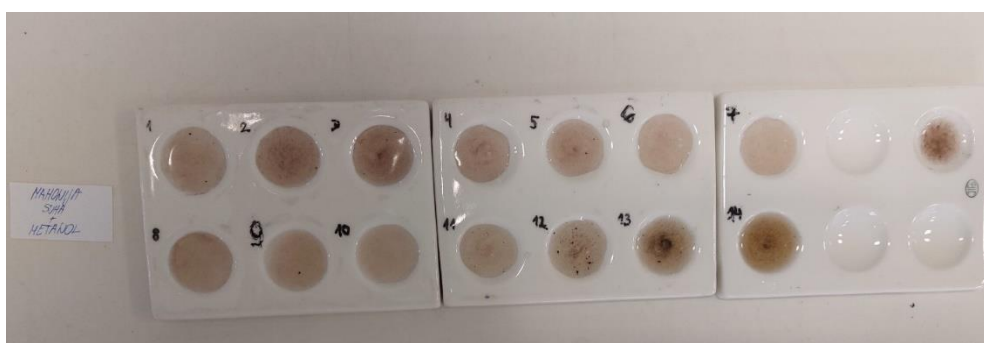
4.2.3. Metanol kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica vazdazelene mahonije i metanola kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 37. i 38.



Slika 37. Indikator pripremljen od svježih bobica mahonije i metanola.

Svježe bobice mahonije (slika 37.) s metanolom pri $\text{pH} = 1-12$ daju crvene boje, dok kod $\text{pH} = 13$ daju plavu boju, a kod $\text{pH} = 14$ zelenu boju.

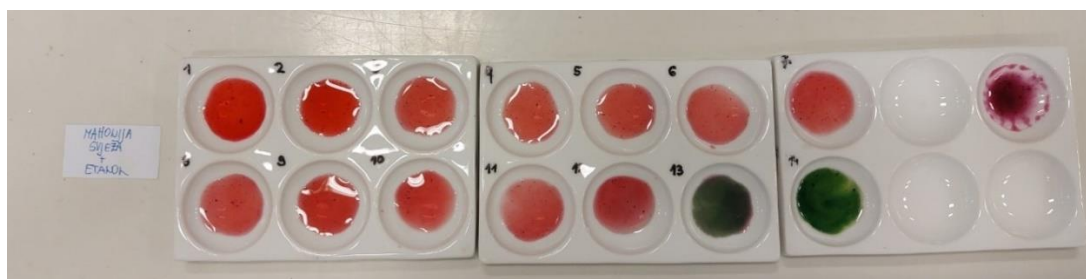


Slika 38. Indikator pripremljen od suhih bobica mahonije i metanola.

Suhe bobice mahonije (slika 38.) s metanolom, pri $\text{pH} = 1-12$ daje svijetlo smeđu boju, kod $\text{pH} = 13-14$ tamnije smeđu boju. Ovako pripremljen indikator nije se posebno iskazao kao kiselo-bazni indikator jer nema intenzivne promjene boje, ali se razlika između jako kiselog i jako bazičnog medija ipak može uočiti. Referentni uzorak je smeđe boje.

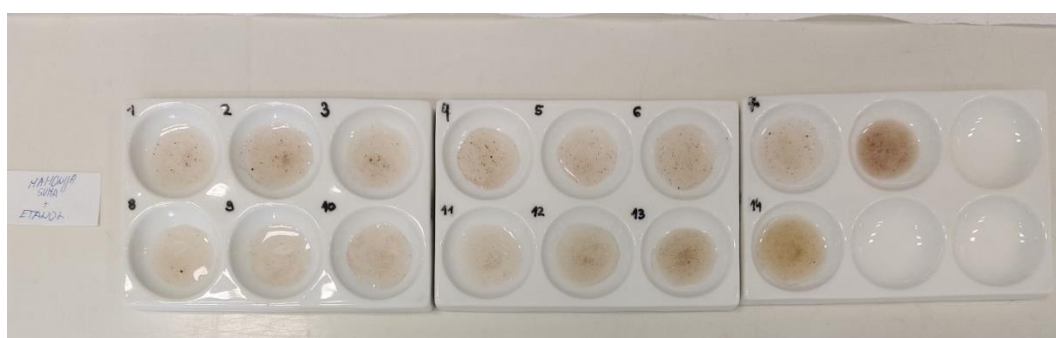
4.2.4. Etanol kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica vazdazelene mahonije i etanola kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 39. i 40.



Slika 39. Indikator pripremljen od svježih bobica mahonije i etanola.

Indikator od svježih bobica mahonije (slika 39.) s etanolom pri $\text{pH} = 1-12$ daje crveno-ružičastu boju, dok kod $\text{pH} = 13-14$ daje zelenu boju. Referentni uzorak je ljubičaste boje.

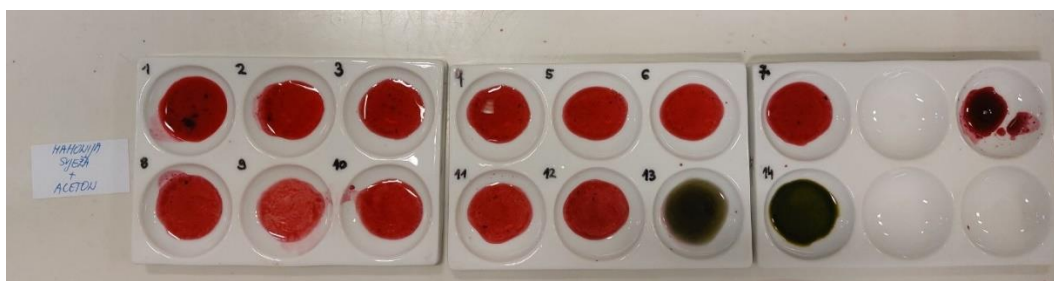


Slika 40. Indikator pripremljen od suhih bobica mahonije i etanola.

Indikator od suhih bobica mahonije (slika 40.) i etanola je smeđe boje koja je malo tamnija kod $\text{pH} = 13-14$. Uočene promjene boje su jako slabo izražene, tako da ovako pripremljen indikator nije vizualno značajan.

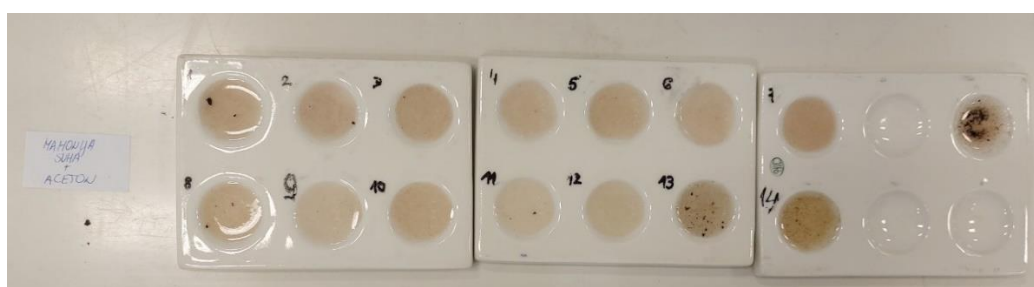
4.2.5. Aceton kao otapalo

Rezultati istraživanja koji se odnose na potencijal primjene bobica vazdazelene mahonije i metanola kao kiselo-baznog indikatora prikazani su na slikama 41. i 42.



Slika 41. Indikator pripremljen od svježih bobica mahonije i acetona.

Svježe bobice mahonije s acetonom (slika 41.) pri $\text{pH} = 1-12$ daju intenzivno crvene boje, a pri $\text{pH} = 13-14$ zelenu boju.



Slika 42. Indikator pripremljen od suhih bobica mahonije i acetona.

Suhe bobice mahonija (slika 42.) s acetonom kod svih pH vrijednosti daju smeđu boju koja je malo intenzivnija pri $\text{pH} = 13-14$. Sličan rezultat dobiven je u slučaju indikatora pripremljenog od suhih bobica mahonije i etanola. Znači, može se uočiti jako slabo izražena razlika između jako kiselog i jako bazičnog medija. Stoga ovako pripremljen indikator nema veliki potencijal primjene kao kiselo-bazni indikator.

5. ZAKLJUČAK

Suhe i svježe bobice obične žutike (*B. vulgaris* L.) i vazdazelene mahonije (*M. aquifolium* (Pursh.) Nutt.) obrađene su u tarioniku s minimalnom količinom otapala. Odabrana otapala su voda, vruća voda, metanol, etanol i aceton. Takve otopine dodane su pomoću kapalice u jažice s otopinama određenih pH vrijednosti (1-14). Promatrane su promjene boje u odnosu na referentni uzorak, a to je sami indikator.

Svježe i suhe bobice obične žutike u kombinaciji s vodom pokazuju izraženije promjene boje u jako bazičnom mediju. Indikator od svježih bobica do pH = 12 daje narančastu boju, pri pH = 13 blago crvenu i pri pH = 14 žutu. U slučaju indikatora od suhih bobica, do pH = 12 javljaju se svijetlo žute boje dok pri pH = 13 i pH = 14 boja medija postaje tamno žuta. S vrućom vodom, svježe bobice obične žutike do pH = 12 daju svijetlo narančastu boju, pri pH = 13 blago smeđu boju, a pri pH = 14 intenzivno žutu. Suhe bobice obične žutike s istim otapalom sve do pH = 13 daju žuto-smeđe boje, a pri pH = 14 smeđu boju. U slučaju metanola kao otapala, svježe bobice obične žutike do pH = 12 daju svijetlo narančaste boje, pri pH = 13 svijetlo smeđu boju i pri pH = 14 žutu. Suhe bobice s metanolom pri svim pH daju izrazito svijetlo žutu boju, dok je u slučaju etanola i svježih bobica do pH = 12 prisutna narančasta boja, pri pH = 13 smeđa i pri pH = 14 žuta. Suhe bobice s etanolom daju izrazito svijetlo narančaste boje sve do pH = 12, a pri pH = 13 i pH = 14 intenzivnu oker boju. Svježe bobice obične žutike s acetonom pri pH = 1 i pH = 2 imaju narančastu boju koja pri pH = 3-12 postaje svijetlo narančasta, pri pH = 13 i pH = 14 žuta boja. Suhe bobice obične žutike i aceton do pH = 12 daju izrazito svijetlo žutu boju. Pri pH = 13 i pH = 14 javlja se žuta boja.

Svježe bobice vazdazelene mahonije s vodom pri pH = 1-3 daje crvene boje, a pri pH = 4-12 tamno crvene boje. Boja postaje ljubičasta pri pH = 13, a pri pH = 14 prelazi u zelenu boju. Suhe bobice vazdazelene mahonije s vodom sve do pH = 12 daju svijetlo žute boje, a pri pH = 13 i pH = 14 tamno žute boje. U kombinaciji s vrućom vodom, svježe bobice pri pH = 13 daju plavu boju i pri pH = 14 zelenu boju. Pri pH = 1-12 uočena je crvena boja. Suhe bobice s vrućom vodom kod pH = 13 i pH = 14 pokazuju zatamnjenje boje medija. U slučaju metanola, svježe bobice do pH = 12 daju crvene boje, pri pH = 13 plavu boju i pri pH = 14 zelenu boju. Suha biljka u kombinaciji s metanolom daje smeđe boje koje su kod pH = 13 i pH = 14 samo za nijansu tamnije. Etanol i svježe bobice do pH = 12 daju crveno ružičaste boje, a pri pH = 13 i pH = 14 zelenu boju. Suhe bobice mahonije s etanolom daju svijetlo smeđu boju koja postaje malo tamnija kako raste pH vrijednost. U slučaju acetona, svježe bobice do pH = 12 daju crvene

boje, a pri $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$ zelenu boju. Suhe bobice s istim otapalom kod svih pH vrijednosti daju smeđu boju, ali je kod $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$ boja malo tamnija.

Možemo reći da su svježe bobice pokazale bolji rezultat od suhih, neovisno o korištenom otapalu. U većini slučajeva vidi se jedna boja u kiselom mediju a druga u bazičnom, pa se takvi indikatori mogu učinkovito koristiti kao kiselobazni indikatori. Uglavnom su promjene vidljive u jako kiselom i jako bazičnom mediju ili su jasnije izražene samo u jako bazičnom mediju ($\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$).

Kao najbolji alternativni indikatori pokazale su se svježe bobice obične žutike i svježe bobice mahonije u kombinaciji s vodom, vrućom vodom i metanolom, posebno u jako bazičnom mediju. U slučaju etanola i acetona, dobre rezultate dale su svježe bobice mahonije, svježe bobice obične žutike i suhe bobice obične žutike. U slučaju suhih bobica, intenzivne promjene boje pokazuje indikator od suhih bobica obične žutike i etanola ili acetona. Prema dobivenim rezultatima, sve ovdje ispitane biljke su pokazale određeni potencijal kao kiselobazni indikator. Ovdje pripremljeni indikatori uglavnom se mogu koristiti kao indikator za jako bazičan medij. Indikatori se vrlo jednostavno pripreme, za pripremu se koristi minimum pribora i posuđa, otapala koja nisu skupa te biljni materijal koji je lako dostupan. Indikatori se mogu pripremiti u manjim ili većim količinama, bez stvaranja opasnog otpada i ne zahtijevaju posebne uvjete čuvanja.

6. LITERATURNA VRELA

- [1] <https://aperainst.com/blog/why-ph-is-important/> (15. 8. 2022.)
- [2] https://globallab.org/en/project/cover/rastitelnye_indikatory.en.html#.YwfFpxzP3IW_ (15. 8. 2022.)
- [3] https://zenodo.org/record/1048226#.YwfFnhzP3IW_ (15. 8. 2022.)
- [4] <https://enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=48063> (16. 8. 2022.)
- [5] <https://www.pharmaguideline.com/2018/01/why-ph-value-is-measured-between-0-and-14.html> (16. 8. 2022.)
- [6] <https://www.ch.ic.ac.uk/vchemlib/course/indi/indicator.html> (16. 8. 2022.)
- [7] <https://himedialabs.com/TD/I013.pdf> (16. 8. 2022.)
- [8] <http://www.kefo.hr/univerzalni-indikator-listi%C4%87i-ph-0-14-pk100-u-kutijici-s-ph-skalom> (16. 8. 2022.)
- [9] <https://www.terra-organica.hr/ph-indikator-trake.html> (16. 8. 2022.)
- [10] <https://scienceequip.com.au/blogs/news/litmus-paper-everything-you-need-to-know> (16. 8. 2022.)
- [11] <https://pixels.com/featured/litmus-paper-science-photo-library.html> (16. 8. 2022.)
- [12] <https://www.chemicals.co.uk/blog/what-is-methyl-orange> (16. 8. 2022.)
- [13] <https://www.chemicals.co.uk/blog/what-is-methyl-orange> (16. 8. 2022.)
- [14] <https://www.carlroth.com/en/en/ph-indicators/methyl-orange-%28c-i-13025%29/p/t118.1> (16. 8. 2022.)
- [15] <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac60314a008#> (16. 8. 2022.)
- [16] <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs40828-016-0026-4.pdf> (16. 8. 2022.)
- [17] https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB1112962.ht (16. 8. 2022.)
- [18] https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-Methyl-Red_fig3_223926541 (16. 8. 2022.)
- [19] https://en.wikipedia.org/wiki/Methyl_red (16. 8. 2022.)
- [20] <https://www.pinterest.com/pin/506232814336771130/> (16. 8. 2022.)
- [21] <https://www.sigmaaldrich.com/HR/en/product/sial/319236> (16. 8. 2022.)
- [22] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenolphthalein> (16. 8. 2022.)
- [23] <https://stock.adobe.com/hr/search?k=phenolphthalein> (16. 8. 2022.)
- [24] <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:PhenolphthaleinSynthesis.png> (16. 8. 2022.)
- [25] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenol-red> (16. 8. 2022.)

- [26] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC323325/pdf/pnas00312-0222.pdf> (16. 8. 2022.)
- [27] <https://patents.google.com/patent/CN102911153A/en> (16. 8. 2022.)
- [28] https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structure-of-phenol-red_fig2_6568223 (16. 8. 2022.)
- [29] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bromocresol-green> (16. 8. 2022.)
- [30] https://www.researchgate.net/figure/Molecule-structure-of-Bromocresol-Green-BCG_fig1_286715669 (16. 8. 2022.)
- [31] <https://www.ridacom.com/en/products/view/3773> (17. 8. 2022.)
- [32] <https://www.carlroth.com/medias/SDB-9949-HR-HR.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyODUxODJ8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oOGIvaDUxLzkwNTk5Njc1NjU4NTQucGRmfDIyYzIzMjliYjE3NjRiYmVIMWY3NTUxMGZiMTAzMjVhODNhNjMwNDJmN2NIN2M0MzFIOTI5ZDBhMDRkZDQwZGY> (17. 8. 2022.)
- [33] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bromothymol-blue> (17. 8. 2022.)
- [34] https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bromothymol_blue_colors_at_different_pH.png (17. 8. 2022.)
- [35] <https://www.toppr.com/guides/science/acids-bases-and-salts/natural-indicators-around-us/> (17. 8. 2022.)
- [36] https://www.profil-klett.hr/system/files/repositorij/pdf/biljke_kao_kiselo_bazni_indikatori.pdf (22. 8. 2022.)
- [37] H. Coklar, M. Akbulut, J. *Funct. Foods* **35** (2017) 166-174.
- [38] <https://www.embibe.com/exams/natural-indicators/> (22. 8. 2022.)
- [39] <http://www.sciencemadness.org/smwiki/index.php/Curcumin> (22. 8. 2022.)
- [40] https://www.researchgate.net/figure/The-shoe-flower-Hibiscus-rosa-sinensis-extract-as-an-indicator-at-different-pH_fig2_317062843 (22. 8. 2022.)
- [41] <https://www.pinterest.com/pin/exploring-plant-chemistry-with-a-red-cabbage-phindicator-plantae-community--1124492600680476535/> (22. 8. 2022.)
- [42] <https://www.thoughtco.com/home-and-garden-ph-indicators-601971> (22. 8. 2022.)
- [43] <https://www.britannica.com/plant/Berberidaceae> (25. 8. 2022.)
- [44] R. Domac, *Flora Hrvatske, Školska knjiga*, Zagreb, 2002.
- [45] <https://www.plantea.com.hr/obicna-zutika/> (25. 8. 2022.)
- [46] <https://www.cabi.org/isc/datasheet/8810> (16. 9. 2022.)

- [47] S. Goodarzia , A. Khadivia, A. Abbasifara , M. Akramianb, *Sci. Hortic.* **238** (2018), 38-50.
- [48] E. Senu, K. N. Kasapoglu, M. Gültekin-Ozgüven, E. Demircan, A. Arslaner, B. Özçelik, *LWT* **140** (2021), 110820.
- [49] S. P. H. Shekarabi, M. S. Mehrgan, F. Ramezani, M. A. O. Dawood, H. Van Doan, T. Moonmanee, N. K. A. Hamid, Z. A. Kari, *Aquac. Rep.* **23** (2022), 101041.
- [50] M. Zovko-Končić, D. Kremer, K. Karlović, I. Kosalec, *Food Chem. Toxicol.* **48** (2010), 2176-2180.
- [51] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Berberine> (16. 9. 2022.)
- [52] <https://www.webmd.com/vitamins/ai/ingredientmono-1126/berberine> (16. 9. 2022.)
- [53] R. Blundell, J. Azzopardi, J. Briffa, A. Rasul, C. Vargas-de la Cruz, M. Ajmal Shah, Recent Advances in Natural Product Analysis, Elsevier, 2020.
- [54] <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids#subclasses> (16. 9. 2022.)
- [55] https://examine.com/supplements/chlorogenic-acid/research/#pharmacology-and-metabolism-1_aQYx-bioactive-metabolites (16. 9. 2022.)
- [56] M. A. Sani, M. Tavassoli, H. Hamishehkar, D. J. McClements, *Carbohydr. Polym.* **255** (2021), 117488.
- [57] M. Bakmohamadpor, A. Javadi, S. Azadmard-Damirchi, H. Jafarizadeh-Malmiri, *NFS J.* **22** (2021), 9-13.
- [58] M. Behravan, A. H. Panahi, A. Naghizadeh, M. Ziaee, R. Mahdavi, A. Mirzapour, *Int. J. Biol. Macromol.* **124** (2019), 148-154.
- [59] <https://www.plantea.com.hr/mahonija/> (25. 8. 2022.)
- [60] <https://www.cabi.org/isc/datasheet/32269#totaxonomicTree> (16. 9. 2022.)
- [61] D. Godevac, A. Damjanović, T.P. Stanojković, B. Anđelković, G. Zdunić, *J. Pharm. Biomed.* **150** (2018), 9-14.
- [62] J. M. He, Q. Mu, *J. Ethnopharmacol.* **175** (2015), 668-683.
- [63] R. Sotnikova, D. Košťalova, Š. Vaverkova, *Gen. Pharmac.* **25** (1994), 1405-1410.
- [64] L. Račkova, M. Majekova, D. Košťalova, M. Štefek, *Bioorg. Med. Chem.* **12** (2004), 4709-4715.
- [65] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Magnoflorine> (9. 9. 2022.)
- [66] Y. Tian, J. Zheng, *Adv. Mol. Toxicol.* **11** (2017), 241-272.
- [67] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.9764.html> (20. 9. 2022)