

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Jan MUNDA

**VPLIV NAČINOV SUŠENJA LISTOV ŽAJBLJA
(*Salvia officinalis* L.) NA KAKOVOST**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Jan MUNDA

**VPLIV NAČINOV SUŠENJA LISTOV ŽAJBLJA
(*Salvia officinalis* L.) NA KAKOVOST**

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

**EFFECT OF DRYING SAGE LEAVES
(*Salvia officinalis* L.) ON QUALITY**

GRADUATION THESIS
Higher professional studies

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega strokovnega študija agronomije. Delo je bilo opravljeno na Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko; Oddelek za agronomijo; Biotehniška fakulteta; Univerza v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. dr. Deo Baričevič.

Komisija za oceno in zagovor :

Predsednik: izr. prof. dr. Marijana JAKŠE
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Dea BARIČEVIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: izr. prof. dr. Robert VEBERIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svojega diplomskega dela v polnem besedilu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddal v elektronski obliki identično tiskani verziji.

Jan Munda

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Vs
 DK UDK 582.929.4:633.88.615.322:66.047.4/.5(043.2)
 KG zdravilne rastline/žajbelj/*Salvia officinalis*/sušenje/načini sušenja/ustreznost droge/kakovost droge
 KK AGRIS A50
 AV MUNDA, Jan
 SA BARIČEVIČ, Dea (mentor)
 KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
 LI 2012
 IN VPLIVI NAČINOV SUŠENJA ŽAJBLJA (*Salvia officinalis* L.) NA KAKOVOST
 TD Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
 OP VIII, 34 str., [4] str., 7 pregl., 11 sl., 3 pril., 32 vir.
 IJ sl
 JI sl/en
 AL Izvedli smo raziskavo o vplivu načinov sušenja listov žajblja na njihovo kakovost. V ta namen smo ovrednotili dve naravni populaciji žajblja na Petrinjskem Krasu. Po predpisih Evropske farmakopeje smo preverjali vsebnost tujih primesi, vode, pepela, eteričnega olja, opravljena pa je bila tudi TLC analiza vzorcev. Rastlinske droge so ustrezale vsem zahtevam. Ugotovili smo, da so imele mlajše rastline (populacija 36) večji delež tujih primesi (tujih organov oz. elementov, ki ne izvirajo iz vzorčene rastline), višjo vsebnost vode in celokupnega pepela. Starejše rastline (populacija 50) pa so imele pri treh načinih sušenja (gospodinjska sušilnica, industrijski sušilnik, sušenje v sobi) višjo vsebnost eteričnega olja, le pri sušenju na podstrehi so imele mlajše rastline (populacija 36) višjo vsebnost. Pri temu načinu sušenja so bile med populacijama tudi največje razlike. Vsebnost eteričnega olja se je v vseh vzorcih gibala med 24,70 in 27,54 ml/kg. V Evropski farmakopeji pa je določena mejna vrednost 15 ml/kg. Naši vzorci močno presegajo to vrednost, kar potrjuje kakovost žajblja na teh naravnih rastiščih.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Vs
 DC UDC 582.929.4:633.88.615.322:66.047.4/.5(043.2)
 CX medicinal plants/sage/salvia officinalis/drying /drying methods/appropriateness of drug/drug quality
 CC AGRIS A50
 AU MUNDA, Jan
 AA BARIČEVIČ, Dea (supervisor)
 PP SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
 PY 2012
 TI EFFECT OF DRYING SAGE LEAVES (*Salvia officinalis* L.) ON THEIR QUALITY
 DT Graduation thesis (Higher professional studies)
 NO VIII, 34 p., [4] p., 7 tab., 11 fig., 3 ann., 32 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB A survey on the effects of drying methods of sage leaves on their quality has been conducted. For this purpose two natural populations of sage in the region Petrinjski Kras (Petrinje Karst, Slovenia) were evaluated. Under the regulations of European pharmacopoeia test for foreign matter, water, total ash and volatile oil contents have been carried out. TLC analysis of samples has been made as well. The herbal drugs fit all requirements. We found out that the younger plants (population 36) had higher content of foreign matter (foreign organs or elements, which does not originate from sampled plant), higher content of water and of total ash. After drying older plants with three different methods (household dryer, industrial dryer, drying in room) a higher content of essential oil has been detected, except after drying in the attic. In this case the content of essential oil was higher in the younger plants (population 36). This method showed the biggest differences between the various populations, as well. The content of essential oil in all samples was between 24.70 and 27.54 ml/kg. The European pharmacopoeia allows the limit of 15 ml/kg. Our samples are well above this value, which confirms the quality of sage in sampled natural habitats.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	II
KEY WORDS DOCUMENTATION	III
KAZALO PREGLEDNIC	VI
KAZALO SLIK	VII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	VIII
1 UVOD	1
1.1 UPORABA ZDRAVILNIH RASTLIN	1
1.2 NAMEN DELA IN DELOVNA HIPOTEZA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ZGODOVINA ŽAJBLJA	3
2.2 TAKSONOMSKA KARAKTERIZACIJA	3
2.3 BOTANIČNI OPIS	4
2.4 SESTAVA ŽAJBLJA	4
2.4.1 Eterično olje	5
2.5 UPORABA OZ. DELOVANJE DROGE	7
2.5.1 Stranski učinki	8
2.5.2 Kontraindikacije	8
2.5.3 Oblike in odmerjanje	8
2.6 GOJENJE	8
2.6.1 Gojenje žajblja	9
2.7 NABIRANJE OZ. ŽETEV ZDRAVILNIH RASTLIN	10
2.7.1 Nabiranje žajblja	10
2.8 SUŠENJE ZDRAVILNIH RASTLIN	10
2.9 VREDNOTENJE KAKOVOSTI RASTLINSKIH DROG	12
3 MATERIALI IN METODE	13
3.1 PODATKI O NABRANEM ŽAJBLJU	13
3.2 SUŠENJE	15
3.2.1 Gospodinjska sušilnica	15
3.2.2 Industrijski sušilnik	15
3.2.3 Sušenje na podstrehi	15
3.2.4 Sušenje v sobi	15
3.3.1 Postopek	16
3.4 MLETJE VZORCEV	16

3.5	DOLOČANJE VSEBNOSTI VODE	16
3.5.1	Postopek	17
3.6	DOLOČANJE CELOKUPNEGA PEPELA	17
3.6.1	Postopek	17
3.7	DOLOČANJE VSEBNOSTI ETERIČNEGA OLJA	18
3.7.1	Postopek	18
3.8	TLC (TANKOPLASTNA KROMOTOGRAFIJA)	19
3.8.1	Postopek	19
4	REZULTATI	22
4.1	VSEBNOST TUJIH PRIMESI	22
4.1.1	Primerjava med populacijama in načini sušenja	22
4.2	VSEBNOST VODE IN PEPELA	24
4.2.1	Primerjava med populacijami in načini sušenja	24
4.3	VSEBNOST ETERIČNEGA OLJA	26
4.3.1	Primerjava med populacijama in načini sušenja	26
4.4	TLC ANALIZA	27
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	29
5.1	RAZPRAVA	29
5.2	SKLEP	30
6	POVZETEK	32
7	VIRI	33
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Primerjava deleža tujih organov in tujih elementov med populacijama in načini sušenja	20
Preglednica 2: Primerjava vsebnosti vode in deleža celokupnega pepela med populacijama in načini sušenja	22
Preglednica 3: Primerjava mase vzorca, volumna eteričnega olja, deleža eteričnega olja in količine EO na 1 kg droge med populacijama in načini sušenja	24
Preglednica 4: Primerjava retencijskih faktorjev standardov med ploščami	26
Preglednica 5: Primerjava deleža tujih organov in tujih elementov med populacijama in načini sušenja	31
Preglednica 6: Primerjava vsebnosti vode in deleža celokupnega pepela med populacijama in načini sušenja	32
Preglednica 7: Primerjava mase vzorca, volumna eteričnega olja, deleža eteričnega Olja in količine EO na 1 kg droge med populacijama in načini sušenja	33

KAZALO SLIK

Slika 1: Topografski prikaz lokacije obeh naravnih rastišč	2
Slika 2: Satelitski posnetek dveh rastišč na Petrinjskem Krasu	2
Slika 3: Clevengerjeva aparatura	6
Slika 4: Primer razvite TLC plošče z eteričnimi olji	8
Slika 5: Primer razvite TLC plošče z alkoholnimi izvlečki	9
Slika 6: Primerjava povprečja deleža tujih organov (%) med populacijama	10
Slika 7: Primerjava povprečja deleža tujih elementov (%) med populacijama	10
Slika 8: Primerjava povprečja vsebnosti vode (ml/kg) med populacijama	12
Slika 9: Primerjava povprečja količine celokupnega pepela (%) med populacijama	12
Slika 10: Primerjava povprečja deleža eteričnega olja (%) med populacijama	14
Slika 11: Primerjava povprečja količine EO na kilogram droge (ml/kg) med populacijama	16

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

BF	Biotehniška fakulteta
B.P.C.	Komisija britanske farmakopeje (British pharmacopoea commission)
°C	Stopinj Celzija
DAP	Dobra agronomska praksa
EMA	Evropska agencija za zdravila
EO	Eterično olje
FIP	Mednarodno farmacevtsko združenje (Federation Internationale Pharmaceutique)
GAP	Good agricultural practice
L.	Linnaeus (Carl Linnaeus, avtor imena vrste <i>Salvia officinalis</i>)
TLC	Tankoplastna kromatografija (Thin Layer Chromatography)
HPLC	Visoko ločljivostna tekočinska kromatografija (High Performance Liquid Chromatography)
HMPC	Odbor za zdravila rastlinskega izvora

1 UVOD

1.1 UPORABA ZDRAVILNIH RASTLIN

Uporaba zdravilnih rastlin ima v vseh medicinskih tradicijah velik pomen. Še pred slabimi dvesto leti so bile zdravilne rastline in druge v naravi rastoče surovine edina zdravila, ki jih je imel človek na razpolago. Zato je njihov učinek skrbno preučeval, dokumentiral in razvijal (Grünwald in Jänicke, 2006). Do 14. stoletja so bili vsi medicinski učbeniki napisani v latinskem jeziku in zato uporabni le za zdravnike. Nato so začele izhajati knjige v narodnih jezikih s številnimi navodili za zdravljenje različnih bolezni in poškodb, ki so jih lahko uporabljali ljudski zdravniki in laiki (Galle-Toplak, 2002). Med najstarejšimi ljudsko-medicinskimi rokopisi v slovenskem jeziku je delo »Bedezin Dohtarske bukve u tih visozih planinah u notrainim krainskim« iz leta 1720 (Mlakar, 2009). Zdravilne rastline so se pojavile tudi v samostanskih vrtovih, kjer so menihi iz leta v leto dopolnjevali znanje in ga prenašali tudi na kmečko prebivalstvo, ustanovili pa so tudi že bolnišnice in lekarne. Najbolj znani samostani pri nas, ki so se ukvarjali z zeliščarstvom so samostan Stična, kartuzija Žiče in samostan Olimje, kjer je bila ustanovljena prva lekarna pri nas in tretja v Evropi (Mlakar, 2009).

Z uvajanjem sintetskih zdravil v terapijo v začetku 20. stoletja se je zlasti v razvitih državah začela uporaba zdravilnih rastlin zmanjševati. Zdelo se je, da bodo za vedno potisnjene v pozabo, ker jih uradna medicina ne potrebuje več. Po letu 1980 pa se je zanimanje zanje znova začelo povečevati. Zdravila rastlinskega izvora sodijo dandanes po prodaji v sam vrh zdravil, ki se izdajajo brez recepta (Priatelj, 2003). Po svetu uporabljajo približno 20 000 zdravilnih rastlin, od tega jih je 1100 vrst dobro raziskanih, iz 250 vrst pa dobijo osnovne sestavine za izdelavo sodobnih zdravil z rastlinskimi učinkovinami (Galle-Toplak, 2002).

S pojmom fitoterapija danes označujemo zdravljenje in preprečevanje bolezni ter motenj počutja z rastlinami, rastlinskimi deli in pripravki iz njih. Takšni rastlinski pripravki imajo zaradi posebne sestave iz učinkovin in spremljajočih snovi širok terapevtski učinek in v primerjavi s sintetskimi zdravili običajno manj neželenih stranskih učinkov. Moderno zdravljenje z zdravilnimi rastlinami temelji na spoznanjih naravoslovnih ved in je tako del naravoslovno pogojene medicine (Galle-Toplak, 2002). Za zdravila rastlinskega izvora veljajo enake zahteve kot za sintetska zdravila. Z ustrezno dokumentacijo mora biti dokazana njihova kakovost, varnost in učinkovitost. To je možno le, če so izdelana iz rastlinskih drog dobre kakovosti. Kakovost rastlinskih drog je odvisna od vseh procesov na poti od zdravilne rastline do droge: pridelovanja oz. nabiranja, sušenja, drobljenja, rezanja in shranjevanja. Droga je kakovostna le, če so vsi naštet procesi izvedeni strokovno (Priatelj, 2003).

1.2 NAMEN DELA IN DELOVNA HIPOTEZA

Namen dela je ovrednotiti kakovost žajblja (*Salvia officinalis* L.) in njegovega eteričnega olja iz dveh naravnih rastišč na Krasu, pri čemer smo uporabili 4 različne načine sušenja. Ugotoviti želimo, kateri način sušenja je imel vpliv na kakovost droge in eteričnega olja.

Menimo, da kakovost droge in eteričnega olja ne bo močno nihala glede na način sušenja. Najvažnejše je, da ne sušimo pri previsoki temperaturi in na direktni sončni svetlobi, saj bi tako pospešili razgradnjo snovi. Manjše razlike v opazovanih spremenljivkah se bodo pojavile že zaradi dveh različnih populacij.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ZGODOVINA ŽAJBLJA

Nekaj ljudskih imen: čistec, prava kadulja, vrtni žajbelj, žajbl, žavbej (Rode, 2001; Willfort, 1983).

Že antični pisci so visoko cenili zdravilno moč te rastline (Galle-Toplak, 2002). V rimskih časih je Plinij starejši v zbirki *Naturalis historia* (Clebsch, 2003) prvi zapisal latinsko ime za to rastlino – *Salvia*. Ime izvira iz besede *salvare*, ki pomeni rešiti oz. zdraviti, kar odraža njegov ugled (Grünwald in Jänicke, 2006). Plinij piše, da naj bi se ga uporabljalo kot diuretik, lokalni anestetik, sredstvo za pospeševanje menstruacije (Dweck, 2000). Za Rimljane je bil sveta rastlina, ki so jo nabirali z obredi. Nabiralec je daroval kruh in vino, nosil belo tuniko in se bližal dobro umit in bosonog. Rimske inštrukcije so odsvetovale uporabo železnih orodij, češ da so železove soli nezdružljive z žajbljem (Bremness, 1997). V 6. stoletju je najverjetneje pripotoval v prtljagi benediktinskih menihov prek Alp v Srednjo evropo (Grünwald in Jänicke, 2006). Cesar Karel Veliki je ukazal gojenje žajblja po svojem celotnem cesarstvu (Galle-Toplak, 2002). Žajbelj je v srednjem veku veljal kot sredstvo za podaljšanje življenja in preganjanje demonov (Galle-Toplak, 2002). V spisih medicinske šole iz Salerna (11. in 12. stoletje) piše: » Zakaj bi človek umrl, če mu na vrtu žajbelj raste« (Dweck, 2000). Hieronimus Bock v svoji knjigi o zeliščih iz leta 1539 priporoča žajbelj revnejšim ljudem, ki si ne morejo privoščiti zdravnika (Kothe, 2009). Kitajci so ga v 17. stoletju tako cenili, da so nizozemskim trgovcem ponudili tri zaboje kitajskega čaja za le en zaboj žajbljevih listov (Bremness, 1997).

Dandanes je žajbelj v zdravniški praksi po Evropi nekoliko zapostavljen, še vedno pa se ga veliko uporablja v ljudski medicini, domačih lekarnah in kot začimbo (Dweck, 2000). Zadnje čase je žajbelj tudi priljubljena sestavina zobnih past in ustnih vod (Baričevič in Bartol, 2000).

Liste žajblja kot monografijo opisujejo Evropska farmakopeja (European pharmacopoeia 7.0, 2010), B.H.P. (British Herbal Pharmacopoeia) (že od leta 1934), pa tudi avstrijska, češkoslovaška, nemška, madžarska, jugoslovanska, nizozemska, poljska, portugalska, romunska, ruska in švicarska farmakopeja (Martindale, 1967, cit. po Dweck, 2000).

2.2 TAKSONOMSKA KARAKTERIZACIJA

Žajbelj (*Salvia officinalis* L.) spada v deblo semenk (Spermatophyta), poddeblo kritosemenk (Magnoliophytina), razred dvokaličnic (Magnoliopsida), nadred Lamianae, red ustnatičevcev (Lamiales), družino ustnatic (Lamiaceae), rod kadulj (*Salvia*) (Martinčič in sod., 1999).

Rod kadulj, ki je en izmed večjih skupin v družini ustnatic, vsebuje približno 900 vrst, ki jih lahko najdemo po celem svetu. Kot glavno središče izvora žajblja pa se upošteva jugo zahodna in centralna Azija (Hedge 1992, cit. po Karousou in sod., 2000).

Vrsta žajblja (*Salvia officinalis* L.) kot divja rastlina raste na območju severnega Sredozemlja, v apnenčastih in kraških pogorjih severne in osrednje Španije, južne Francije in zahodnega dela Balkanskega polotoka (Hedge, 1972).

2.3 BOTANIČNI OPIS

Žajbelj je do 60 cm visoka lesnata trajnica, ki raste v obliki polgrma s pokončnimi in razvejanimi stebli (Priatelj, 2003). Spodnji deli stebela so oleseneli in rjavi, mlajši poganjki pa so zeleni in imajo stebela kvadratastega prereza (Rode, 2001).

Listi so suličaste oz. jajčaste oblike, celorobi in dolgi do 7 cm. Imajo dolg, izrazit pecelj in na obeh ploskvah izražene listne žile (na spodnji strani izrazitejše). Njihova sivkasto zelena barva je posledica dlakavosti na površini lista (Rode, 2001). Mladi listi so gosto dlakavi, odrasli pa so na zgornji strani manj poraščeni in zelenkasti, na spodnji pa bolj porasli in svetlejši (Priatelj, 2003).

Cvetovi so modri do vijolični, redkeje bele ali rožnate barve. So značilne oblike za ustnate. Na vrhu poganjkov sestavljajo klasasto socvetje, to pa je sestavljeno iz več vretenc s tremi do osmimi cvetovi. Cveti junija in julija, po cvetenju pa se najpogosteje razvijejo štiri drobna, okrogla črna semena. Cela rastlina ima močen oster vonj in grenak priokus (Rode, 2001).

Je termofilna, na sušo zelo odporna rastlina, ki glede tal ni zahtevna, le da imajo dobro zračno in vodno kapaciteto. Slabo uspeva na težkih in zbitih tleh. Za rast in razvoj zadostujejo minimalne količine hranil, vendar pa bogata tla prispevajo k bujnejši rasti (Baričevič, 1996a).

Razmnožujemo ga lahko s semeni, mogoče pa je tudi vegetativno razmnoževanje (potaknjenci, delitev korenin) (Baričevič, 1996a).

2.4 SESTAVA ŽAJBLJA

V žajblju najdemo eterično olje, diterpensko grenčino karnozol (pikrosalvin), sorodno negrenko karnozolno kislino, triterpenske kisline (ursolna in oleanolna) in triterpen germanikol. Pomembni so tudi flavoni in njihovi glikozidi (salvigenin) in čreslovine lamiacej (rožmarinska kislina) (Galle-Toplak, 2002).

Glavne komponente v vrstah *Salvia* so flavonoidi in terpenoidi. Nadzemni deli rastline ponavadi vsebujejo flavonoide in terpenoide, kot tudi hlapne spojine, kot so monoterpenoidi. Medtem ko so glavne sestavine v koreninah diterpenoidi (Ulubelen, 2000).

2.4.1 Eterično olje

Eterična olja so zmesi različnih hitro hlapljivih, biološko aktivnih kemičnih spojin, ki nastajajo v rastlinah kot produkt rastlinske presnove (Poštić, 2006). Glavni sestavni deli (90%) so terpenske spojine (ogljikovodiki cikloheksanske vrste), poleg tega še fenilpropani derivati, neciklični ogljikovodiki, enostavni fenoli (Galle-Toplak, 2002).

Pri nekaterih rastlinah so eterična olja razširjena v celi rastlini, pri drugih le v nekaterih organih. Zbirajo se v žleznih laskih ali žleznih luskah povrhnjice, v posebnih oljnih celicah ali večjih oljnih zbirnih kanalih (Galle-Toplak, 2002). Rastline oziroma droge, ki vsebujejo od 1-2%, včasih tudi 20% eteričnih olj, združimo v skupino drog z eteričnimi olji (Galle-Toplak, 2002).

Eterična olja so najpogostejše brezbarvna ali pa rumenkaste barve. Imamo pa tudi nekaj izjem, kot so temno modra barva olja nemške kamilice in navadnega rmana in rjavkasta barva olja vetiverja (Poštić, 2006).

Eterična olja so v vodi netopna, čeprav nekatera vsebujejo vodotopne sestavine (rožno olje). Ker so lažja od vode plavajo na površini. Odtod so tudi dobila ime »olje«, čeprav nimajo nič skupnega z maščobnimi olji (Galle-Toplak, 2002). Prava eterična olja preverimo tako, da kanemo kapljico olja na papir ali robček. Če je eterično olje pravo, naravno in nima primesi nosilnih olj, ko izhlapi, na papirju ne pusti mastnega madeža (Poštić, 2006).

Obstaja več načinov pridobivanja eteričnih olj iz rastlinskega materiala. Izbira je odvisna od vrste surovin, od količine eteričnega olja v rastlini, od lastnosti olja, ki ga želimo pridobiti in od namenskosti olja (Poštić, 2006). Najpogostejše uporabljena metoda za pridobivanje eteričnega olja je destilacija z vodno paro. Eterično olje skupaj z vodno paro izhlapi in nato ob ohladihvi kondenzira, na koncu pa eterično olje in vodo lahko ločimo zaradi razlike v gostoti (Galle-Toplak, 2002). Hlapna olja, ki ne prenesejo povišanih temperatur ali pa so v rastlini le v malih količinah, pridobivamo z ekstrakcijo. Pri tem načinu si pomagamo s topilom, ki je lahko maščoba (loj, svinjska mast) ali organsko topilo (metanol, bencin, benzol). V eteričnih oljih lahko zasledimo ostanke topil, zato ta metoda ni zelo priljubljena (Galle-Toplak, 2002). S stiskanjem pa pridobivamo eterična olja iz lupin različnih citrusov. Po stiskanju nastane emulzija (voda, eterično olje, pektin). Čisto olje nato pridobimo z destilacijo, filtriranjem ali centrifugiranjem (Galle-Toplak, 2002).

Rastlinska eterična olja se uporabljajo v aromaterapiji, v parfumih, v različnih izdelkih za zaščito zdravja, kot sredstva za preprečevanje pokvarljivosti živil in kot arome za živila (Giannouli & Kintzios, 2000, cit. po Lima, 2006).

Pri daljšem shranjevanju oziroma pod vplivom kisika in svetlobe se kažejo spremembe, predvsem zasmolitve, zato jih shranjujemo v temnih, dobro zaprtih stekleničkah (Galle-Toplak, 2002).

Na donos in sestavo eteričnega olja vpliva veliko faktorjev. Izvor rastline, kemotipi posameznih rastlin, čas nabiranja in razmerje delov rastline, ki smo jo destilirali (Perry in sod., 1999). Poštić (2006) kot dejavnike, ki vplivajo na kakovost eteričnega olja, navaja

lastnosti tal, vremenske razmere, nadmorsko višino, način gojenja, čas in način pridobivanja surovin in tehniko izdelave.

Baričevič (1996a) navaja parametre, ki učinkujejo na vsebnost sekundarnih metabolitov in kakovost sestavin zdravilnih in dišavnih rastlin. To so:

- ekološki dejavniki, ki se delijo na podnebne dejavnike (temperatura, svetloba, nadmorska višina) in podnebno - edafske dejavnike (vodne, talne razmere);
- izbor genotipa;
- tehnološki vidiki pridelovanja zdravilnih in dišavnih rastlin.

2.4.1.1 Eterično olje žajblja

Žajbelj je vrsta iz rodu *Salvia*, ki ima največji donos eteričnega olja, skupaj z večjo vsebnostjo celokupnih ketonov in manjšo vsebnostjo celokupnega alkohola (Ivanic in Savin, 1976, cit. po Giannouli in Kintzios, 2000).

Posušeni listi žajblja vsebujejo od 1-2,5% eteričnega olja (Baričevič, 1996b).

Eterično olje žajblja je kemično kompleksna mešanica, ki pogosto vsebujejo več kot 100 posameznih komponent, vedno pa prevladujejo terpenoidi (Giannouli in Kintzios, 2000). Glavne komponente eteričnega olja žajblja so α in β tujoni (30-35%, predvsem α). Ostale so še 1,8 cineol, borneol, kafra, kariofilen in linalil acetat (Newall in sod., 1996, cit. po Giannouli in Kintzios, 2000).

Olje žajblja, ki je dobre kakovosti, naj bi vsebovalo visok odstotek (več kot 50%) α in β tujona in nizek delež (manj kot 20%) kafe, čeprav zdajšnji standardi dovoljujejo 18-43 % α tujona in 3-8,5% β tujonov (ISO 1997) (Perry in sod., 1999). Obstajata vsaj dva kemotipa žajblja. Eden z nizko vsebnostjo (4-8%) in drugi z relativno visoko vsebnostjo α -tujona (16-32%) (Boelens in Boelens 1997).

Tujon je brezbarven, nepolaren, biciklični, monoterpenski keton, ki je netopen v vodi, topen pa v etanolu, etru in kloroformu. 1,8 cineol je znan tudi kot evkaliptol. Je brezbarvna, oljnata tekočina z značilnim vonjem po kafri in je vnetljiv. Je monoterpenski epoksid. Borneol pa je v vodi netopen monoterpenski alkohol, ki draži kožo (Voda in sod., 2011). Tujon in 1,8 cineol vplivata na osrednji živčni sistem. V majhnih odmerkih delujeta stimulatивно, pri visokih odmerkih in rednem uživanju pa toksično. Tujon povzroča hitro bitje srca, vročico, vrtoglavico, mišične trzaje in krče, ki podobno kot pri epilepsiji zajamejo celotno telo (Priatelj, 2003; Bernotiene in sod., 2007).

Vsebnost eteričnega olja doseže maksimalne vrednosti poleti, medtem ko minimalne pozimi ali zgodaj spomladi (Manou, 1990, cit. po Karousou in sod., 2000; Skoula, 1992, cit. po Karousou in sod., 2000; Hanlidou, 1996, cit. po Karousou in sod., 2000). Yoshida in Sawasaki (1978) sta odkrila, da je maksimalna vsebnost olja na koncu obdobja cvetenja (Giannouli in Kintzios, 2000).

Olja iz cvetočih in necvetočih akcesij pa imajo tudi različno sestavo. Tista iz cvetočih imajo večjo vsebnost tujona, β -kariofilena in viridiflorola (Giannouli in Kintzios, 2000).

YanLi in sod. (1996) so opravili raziskavo, kjer so žajbelj gojili pod različnimi senčnimi mrežami ali pa brez. Tako so dobili 15%, 27%, 45% in 100% sončne svetlobe. Najvišja koncentracija eteričnega olja (0.38% FW) je bila v rastlinah, ki so bile gojene pod 45% osvetljenostjo. Olje je imelo tudi večjo vsebnost α -tujona in manjšo vsebnost kafe v primerjavi z eteričnimi olji rastlin, ki so rastle pod drugimi nivoji osvetlitve.

Zaradi izrazito kserofitnih karakteristik komercialno gojenih vrst žajblja, je bilo pred tem domnevano, da žajbelj (skupaj z ostalimi zelišči, ki imajo poreklo v mediteranski coni) proizvede olja višje kakovosti v stresnih pogojih (visoke temperature, suša, manj hranil) (Hay, 1993, cit. po Giannouli in Kintzios, 2000).

Na najpomembnejših nabiralnih območjih Dalmacije, se vsebnost eteričnega olja v listih giblje med 16-36 ml/kg (Tobias, 1995).

2.5 UPORABA OZ. DELOVANJE DROGE

Kot droga se uporabljajo listi (*Salviae folium*) in eterično olje (*Salviae aetheroleum*), ki je pridobljeno z vodno destilacijo (Galle-Toplak, 2002).

Zunanje deluje žajbelj antiseptično (prepreči ali zaustavi rast in aktivnost mikroorganizmov z inhibicijo njihove aktivnosti ali njihovim uničenjem), baktericidno, fungicidno, virostatično, antiflogistično (zavira nastanek vnetij) in adstringentno (koagulira vrhnji sloj kože ali sluznice in jo tako varuje pred draženjem) (Priatelj, 2003; Galle-Toplak, 2002). Zunanje torej žajbelj uporabljamo pri vnetjih in infekcijah ustne sluznice, dlesni in žrela. Uporabljeno razstopino, ki vsebuje izvlečke iz listov žajblja ali eterično olje po uporabi izpljunemo. Zunanje ga lahko uporabimo tudi pri blagih vnetjih na koži (Priatelj, 2003).

Notranje (peroralno) pa žajbelj zmanjšuje znojenje, zato ga uporabimo pri hiperhidrozi (čezmerno znojenje, ki lahko prizadene celotno površino kože, pogosto pa je omejeno le na dlani, podplate, pazduhe in dimlje). Znojenje je lahko posledica stresa, infekcijskih bolezni (tuberkuloza), čezmernega delovanja ščitnice ali pa nizke koncentracije glukoze v krvi (Priatelj, 2003). Veliko ga uporabljamo tudi pri prebavnih motnjah, vetrovih, vnetjih črevesne in želodčne sluznice in driskah. Pospešuje tudi menstruacijo in izboljšuje prebavo (poveča tek), zato ga velikokrat uporabljamo kot začimbo (Galle-Toplak, 2002).

Po Pravilniku o razvrstitvi zdravilnih rastlin je uvrščen v kategorijo H, ko se uporablja v vodnem izvlečku ali kot začimba, in v kategorijo Z, ko se uporablja kot etanolni izvleček (Grünwald in Jänicke, 2006).

V zadnjih desetletjih je bil žajbelj podvržen številnim raziskavam zaradi njegovih antioksidativnih lastnosti. Sintetični antioksidanti, kot sta butiliran hidroksitoluen (BHT) in butiliran hidroksianizol (BHA), ki se uporabljata za konzerviranje hrane, povzročata stranske učinke in povečujeta možnost za pojav rakavih obolenj, zato se je zanimanje za antioksidante naravnega izvora v zadnjih nekaj letih močno povečalo. Žajbelj je postal pomenben vir naravnih antioksidantov v živilski industriji (Deans in Simpson, 2000, cit. po Lima, 2006).

V ljudskem zdravilstvu so žajbljeve liste zavreli v vinu in jih dajali piti sušičnim, ljudem z bolečinami v kolku, pri drgetanju, pri kapi in božjasti. Žajbelj so uporabljali tudi za žuželčje pike in gnojne čire, sveže liste pa so žvečili ali drgnili po zobeh in dlesnih, da bi le ti ostali zdravi in lepi. Kopeli večkrat na dan ozdravijo ekceme in garje. Izpiranje z žajbljevim čajem naj bi pomagalo tudi pri belem toku (Willfort, 1983).

2.5.1 Stranski učinki

Pri predpisani uporabi žajblja kot zdravilne droge ali začimbe v glavnem ni pričakovati nezaželenih učinkov. Pri dnevnih količinah, večjih kot 15 g, pa lahko pride do stranskih učinkov (Galle-Toplak, 2002). Žajbljevo eterično olje vsebuje tujon. Pri visokih odmerkih ali dolgotrajni rabi pospešuje bitje srca, povzroča vročico, vrtoglavico, mišične trzaje in krče, ki podobno kot pri epilepsiji zajame celo telo. Nakopiči se predvsem v alkoholnih izvlečkih. V pripravkih čaja in sredstvih za grgranje pa se tujon ne izloča. Previdnost je torej priporočljiva predvsem pri eteričnih oljih in alkoholnih pripravkih. Zunanja uporaba ni vprašljiva (Grünwald in Jänicke, 2006). Toksična doza olja je 2 g (Galle-Toplak, 2002).

2.5.2 Kontraindikacije

Žajbelj je kontraindiciran med nosečnostjo, saj naj bi deloval abortivno (povzročal splav) in imel učinek na menstrualni cikel. Tudi med dojenjem naj se ne bi uporabljal (Barnes, 2007).

2.5.3 Oblike in odmerjanje

Uporabljamo narezane liste žajblja (v obliki čaja ali poparkov), eterično olje, vodne ali alkoholne izvlečke v obliki standariziranih pripravljenih zdravil (dražeji, kapljice ali geli). Priporočen dnevni odmerek pri notranji uporabi je 4-6 g žajbljevih listov ali 0,1-0,3 g eteričnega olja (Grünwald in Jänicke, 2006). Doziranje EO žajblja je odvisno oz. določeno s količino njegovih konstituent, kar se še posebno nanaša na kvantiteto tujonov (Bernotiene in sod., 2007).

2.6 GOJENJE

Zdravilne rastline gojimo, kadar se pojavijo potrebe po zelo kakovostnih zdravilnih rastlinah ali kadar so zdravilne rastline zaščitene oz. jih je v naravi premalo in bi lahko z obsežnim nabiranjem škodovali naravi (Grünwald in Jänicke, 2006).

Z nadzorovano pridelavo je rastlinski material točno določen, kakovosten in homogen, pa tudi možnost pomot oz. zamenjave rastlin je bistveno manjša. Takšno gojenje tudi omogoča proizvodnjo primerljivih serij skozi daljše obdobje, kar omogoča znanstvene rezultate, ki jih je mogoče ponoviti. Pri rastlinah lahko tudi z namenskim gojenjem obogatimo ali povečamo količino sestavin oz. učinkovin, ki jih potrebujemo (Grünwald in Jänicke, 2006).

Gojenje poteka v skladu z dobro agronomsko prakso (DAP) (GAP - good agricultural practice), ki je skupek navodil, ki omogoča strokovno pridelovanje zelišč, vse posege pa je potrebno tudi dokumentirati (Priatelj, 2003). Osnovni namen DAP pri pridelovanju zdravilnih in dišavnih rastlin je zagotoviti, da rastlinske droge (Baričevič, 1996a):

- zadovoljujejo najvišje zahteve po kakovosti;
- se higiensko proizvajajo, da bi s tem zmanjšali mikrobiološko obremenitev;
- se skrbno pridelujejo, da bi s tem zmanjšali fizikalna in kemična onesnaženja.

DAP je razdeljena v več različnih točk, ki se nanašajo na določena opravila (Baričevič, 1996a):

- DAP pridelovanje;
- DAP žetev;
- DAP sušenje;
- DAP pakiranje;
- DAP hranjenje in prevoz;
- DAP oprema;
- DAP osebje in naprave;
- DAP dokumentacija;
- DAP šolanje;
- DAP kontrola kakovosti.

2.6.1 Gojenje žajblja

Žajbelj lahko gojimo 5-7 let, vendar pridelek po 4. letu naglo upade (Baričevič, 1996a).

Glede tal in hranil žajbelj ni zahteven, neugodna so le težka, zbita glinasto-ilovnata tla. Pri obdelavi oz. pripravi tal se priporoča globoko jesensko oranje in spomladanska osnovna predsetvena obdelava, saj tako zagotovimo primerno mrvičasto teksturo. Med prvo obdelavo tudi založno gnojimo s hlevskim gnojem ali mineralnimi gnojili. V naslednjih letih pa mineralna gnojila dodajamo ob zadnjem jesenskem okopavanju, z dušikom pa dognojujemo takoj po začetku rastne dobe. Kolobarjenje ni potrebno, pa tudi glede predkulture rastlina ni zahtevna (Baričevič, 1996a).

Da zagotovimo visoke pridelke, 2. leto spomladi porežemo vse rastline na 8-10 cm višine. S tem povzročimo razrast stranskih poganjkov in povečamo pridelek. V aprilu odstranimo tudi vse pozeble nadzemne dele rastline. Nasad pa moramo med rastjo redno pleti in plitvo okopavati (Baričevič, 1996a).

Na žajblju se lahko pojavi pegavost listov in stebel (povzročitelja sta *Ascochyta vicina* Sacc. in *Phoma salviae* Brun.) in pepelasta plesen (*Oidium erysiphoides* Fr.). Od škodljivcev pa najdemo listne sovke (*Mamestra* spp.), listne uši, ki povzročajo sesalne poškodbe na listih, ličinke hroščev (*Cassida* spp., *Phytometra chrystis* L.), ki povzročajo objede (Baričevič, 1996a).

Žajbelj lahko razmnožujemo generativno ali vegetativno. Generativno razmnožujemo z direktno setvijo, ki jo opravimo jeseni ali pa prek vzgoje sadik, kjer v marcu ali aprilu posejemo rastline v zavarovan prostor in nato presejemo na stalno mesto v oktobru. Vegetativno pa žajbelj razmnožujemo z delitvijo korenin ali pa s potaknjenci (Baričevič, 1996a).

2.7 NABIRANJE OZ. ŽETEV ZDRAVILNIH RASTLIN

Zdravilne rastline nabiramo takrat, ko vsebujejo največ zdravilnih učinkovin (Priatelj, 2003). Zelišča nabiramo na začetku cvetenja. Cvetove, ko se ravno odprejo, liste popolnoma razvite, plodove pa, ko so zreli. Korenine in korenike nabiramo spomladi ali jeseni. Nabirali naj bi ob suhem, lepem vremenu v dopoldanskih urah. To še posebej velja za rastline s hlapnimi olji, saj je vsebnost takrat najvišja (Galle-Toplak, 2002).

Nabiramo le rastline, za katere smo prepričani, da so prave, da ne pride do zamenjave. Redkih in zaščitene vrste ne nabiramo. Nabiramo le dele rastlin in količino, ki jih potrebujemo. Tako obvarujemo okolje. Rastline je potrebno nabirati v neonesnaženem okolju. Izogibamo se cestnih robov, bližine tovarn, škropljenih njiv ter sprehajalnih poti (Galle-Toplak, 2002).

Dobra agronomska praksa za žetev (Baričevič, 1996a):

- žetev ne sme potekati v vlagi, temveč v suhih pogojih;
- orodje in rezalni stroji morajo biti negovani in čisti;
- reznine naj bojo tako postavljene, da se zmanjša onesnaženje z zemljo;
- poškodovan rastlinski material se mora odbrati in uničiti;
- požeti material se mora zbirati v primerni embalaži (vreče, košare, zabojčki) in ga ne smemo zbirati neposredno na tleh. Vreče ne smejo biti prenapolnjene.

2.7.1 Nabiranje žajblja

Prvo žetev opravimo v času cvetenja (konec maja-záčetek junija). Rastline porežemo s srpom, koso ali s kosilnico iznad olesenelih stebel. Pomembno je, da pazimo na višino reza, saj prenizko porezane rastline lahko pozebejo. Liste takoj po žetvi osmukamo iz stebel. Če smo rastline posadili jeseni, lahko naslednje leto že žanjemo. V 1. letu lahko pričakujemo le eno žetev z majhnim pridelkom. Največji pridelek bomo dosegli v 3. in 4. letu, saj je takrat možna 2 do 3-kratna žetev (Baričevič, 1996a).

2.8 SUŠENJE ZDRAVILNIH RASTLIN

Sušenje je najpogostejša oblika stabilizacije in ohranjanja zdravilnih in dišavnih rastlin. Najpomembnejša dejavnika pri sušenju sta temperatura in trajanje. Kot splošno pravilo velja, da s hitrim sušenjem blokiramo encime. Rastline z eteričnimi olji naj se sušijo pri 40-42 °C, najpogostejše pa je droga posušena v 2 do 3 dneh. S sušenjem požetih rastlin je potrebno začeti čimprej, najkasneje po 10 urah. Rastline med sušenjem izgubijo 60-80% (lahko celo 90%) vode (Baričevič, 1996a).

Sušimo lahko z naravno ali umetno toploto. Pri naravnem sušenju moramo poskrbeti za zračen, topel prostor, kjer ni neposrednega sonca (sončna svetloba lahko pospeši razgradne procese in spremeni barvo zelišč). Najprimernejša so zračna podstrešja ali drugi prostori s preprihom. Zaradi higienskih razlogov mora biti prostor snažen in nedostopen za živali. Rastline razporedimo v tenki plasti, če pa imamo manjšo količino rastlin, jih lahko povežemo v šopke. Hitreje in bolj nadzorovano lahko sušimo z različnimi sušilnimi pripravami, kot so namizni sušilniki, sušilne omare, kuhinjska pečica, mikrovalovna pečica. Nujno pa je potrebno nadzirati temperaturo, ki povečini ne sme preseči 40 °C, saj je pri tej temperaturi izhlapevanje olj in drugih hlapnih komponent še razmeroma majhno. Pri temperaturah med 50-60 °C lahko sušimo le korenine in lubje (Rode, 2011).

Primerno posušena zelišča naj bi imela 10-12 % vode. Takrat se zelišče lepo lomi, vendar ne razpade v prah. Nepravilno osušena droga, ki vsebuje več kot 10-13% vode (odvisno od droge), je izpostavljena mikrobiološki kontaminaciji in posledičnemu kvarjenju. Zaradi aktivnosti v rastlinskih tkivih prisotnih encimov, ki razgrajujejo sekundarne metabolite, pa postane oporečna tudi s kakovostnega gledišča (Rode, 2001).

Požete rastline hitro ovenijo, nato porabijo rezervne snovi, končno pa kot posledica dehidracije (ki je odvisna od teksture organov, temperature in vlažnosti zraka) nastopi odmiranje celic. Encimatske razgradne reakcije, ki med rastjo rastline ne potekajo ali jih je takrat nadomestila (kompenzirala) sinteza, potekajo po odmiranju rastline, dokler imajo encimi (večinoma lokalizirani v plazmi) za svoje učinkovanje zadostno količino vode (Baričevič, 1996a).

Zelišča, liste in nekatere cvetove sušimo cele. Šele pred uporabo ali pripravo čajne mešanice jih zdrobimo ali zrežemo. Korenine in korenike razrežemo po dolgem v pol centimetra debele dele, da jih hitreje posušimo. Pred uporabo jih nato zdrobimo. Tudi plodove kobulnic in drugih rastlin stremo, da bolj ekstrahiramo učinkovine (Galle-Toplak, 2002).

Dobra agronomska praksa za sušenje (Baričevič, 1996a):

- požeti material mora biti neposredno po prevozu do sušilnice razložen in ne sme biti dalj časa izpostavljen neposredni sončni svetlobi, prav tako je potrebno je tudi varstvo pred dežjem;
- poslopje, ki je namenjeno sušenju pridelka mora biti dobro zračno in nikdar uporabljeno za nastanjanje živine, pridelek mora prav tako biti zavarovan pred ptiči, žuželkami in drugimi živalmi;
- pridelek mora biti razporejen na mrežaste sušilne okvirje, ki so dovolj dvignjeni od tal, da omogočajo nemoteno kroženje zraka, občasno je potrebno nadzorovati enakomernost sušenja in s tem preprečevati gnitje;
- posušeni pridelek se mora prebrati in presejati, da se odstranijo plesnivi ali poškodovani deli, zemlja, kamenje in druge nečistoče;
- osušen pridelek mora biti zaradi zaščite pred škodljivci nemudoma pakiran.

2.9 VREDNOTENJE KAKOVOSTI RASTLINSKIH DROG

Kot navaja Baričevič (1996b) kakovost in standarde rastlinskih drog opredeljujejo:

- Farmakopejske zahteve, veljavne v posameznih državah. Predpisuje identifikacijo droge, določitev čistote in določitev vrednosti (mimimalna vsebnost aktivne učinkovine);
- FIP pravila (Federation Internationale Pharmaceutique);
- Pravila, ki usmerjajo kakovost zdravilnih proizvodov v Evropski skupnosti;
- Zahteve in standardi o kriterijih kakovosti po Codex Alimentarius;
- Zasebni standardi - Farmacevtske korporacije in drugi kooperanti na podlagi medsebojnih pogodb določijo standarde. Ta pravila so večinoma strožja kot farmakopejski predpisi.

3 MATERIALI IN METODE

Vrednotili smo kakovost žajblja (*Salvia officinalis* L.) in njegovega eteričnega olja iz dveh naravnih rastišč na Krasu (Petrinje), pri čemer smo uporabili 4 različne načine sušenja. Za vsako populacijo in način sušenja smo imeli 4 ponovitve.

V raziskavi smo vrednotili kakovost žajblja po merilih Evropske farmakopeje (Evropska farmakopeja 7.0, 2010), ki predpisuje:

- določitev vsebnosti eteričnega olja v drogi (minimalno 15 ml/kg eteričnega olja v celi drogi in minimalno 10 ml/kg v rezani drogi);
- vsebnost tujih primesi v drogi (maksimalno 3% stebel in maksimalno 2% drugih tujih primesi);
- vsebnost vode v drogi (maksimalno 100 ml/kg);
- vsebnost skupnega pepela (maksimalno 10% skupnega pepela).

S pomočjo tankoplastne kromatografije (TLC), pa je poleg omenjenih predpisov potrebno opraviti še identifikacijski test določitve skupnih tujonov in cineola.

Predpisi Evropske farmakopeje se nanašajo zgolj na identifikacijo in ekonomsko vrednost droge.

Delo je potekalo na Oddelku za agronomijo na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, v laboratorijih Katedre za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko ter Katedre za pedologijo in varstvo okolja.

3.1 PODATKI O NABRANEM ŽAJBLJU

Liste smo nabirali julija 2009 na Petrinjskem Krasu. Nabirali smo vzorce dveh populacij, na lokacijah BFL 50 in BFL 36. Vsako lokacijo smo razdelili na 4 kvadrate (5x5m) in v vsakem kvadratu nabrali 4 vzorce, skupaj 16 vzorcev na lokacijo. Vzorce smo shranili v papirnatih vrečkah. Populacija na lokaciji BFL 50 je bila starejša od populacije na lokaciji BFL 36. To je bilo razvidno iz morfologije rastlin, saj so imele starejše rastline debelejša in bolj olesenela stebila in manjše število listov na rastlini. Starejše rastline so tudi rastle nekoliko višje.

Lokacija A – *Statejše rastline* (BFL 50)

0.9 km južno od Petrinj

Geografska širina (N): 45° 33' 59,6"

Geografska dolžina (E): 13° 54' 19,4"

Nadmorska višina: 464 m

Lokacija B – *Mlajše rastline* (BFL 36)

0.6 km jugo-zahodno od Petrinj

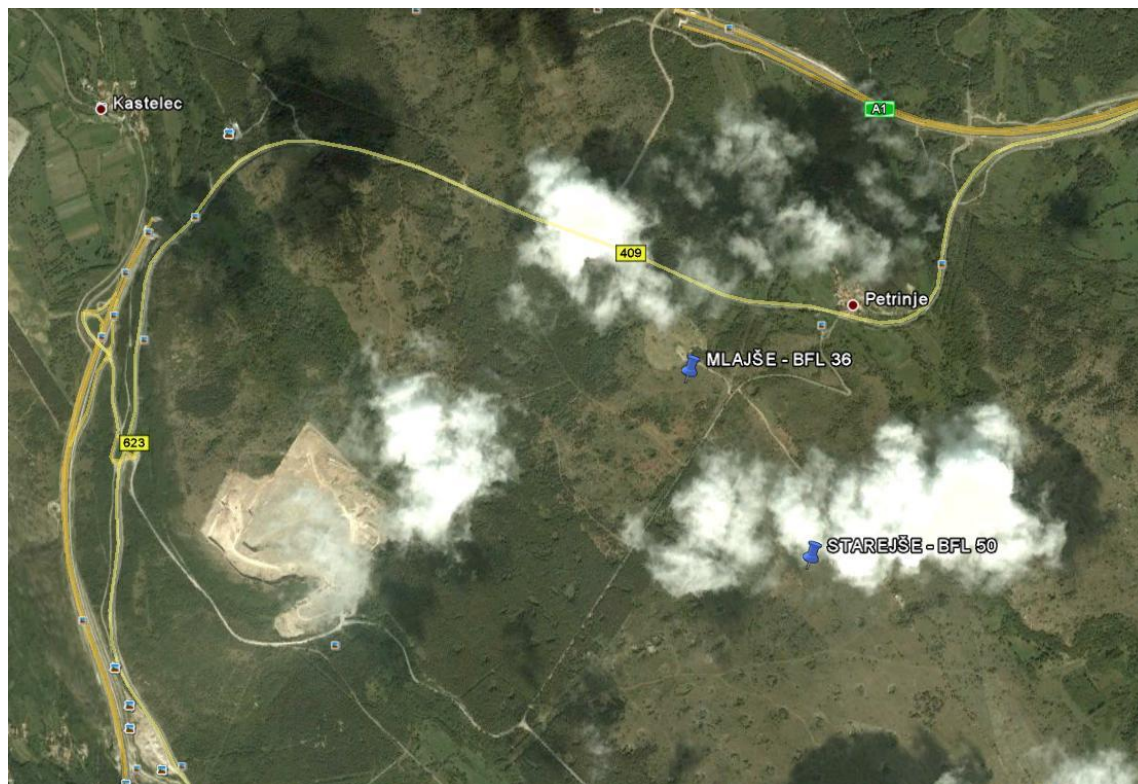
Geografska širina (N): 45° 34' 21,6"

Geografska dolžina (E): 13° 53' 58,9"

Nadmorska višina: 450 m



Slika 1: Topografski prikaz lokacije obeh naravnih rastišč (modra točka na zemljevidu)
(Interaktivni atlas Slovenije 3.0, 2000)



Slika 2: Satelitski posnetek dveh rastišč na Petrinjskem Krasu (Google Earth, 2012)

3.2 SUŠENJE

Vzorke obeh populacij smo sušili na 4 različne načine: sušenje z gospodinjstvo sušilnico (A), z industrijskim sušilnikom (B), sušenje na podstrehi (C) in sušenje v sobi (D).

3.2.1 Gospodinjstvo sušilnica

Na razpolago smo imeli 2 gospodinjstvo sušilnici. V vsako sušilnico sta prišla 2 vzorca, tako da smo celotno sušenje opravili v 2 ponovitvah. Vzorce smo sušili 14 ur oziroma do konstantne mase. Najprej smo jih sušili po 8 h, ker pa to ni zadostovalo, smo sušenje 2x podaljšali za 2 h in enkrat za 1 h. Vlažnost in temperaturo smo merili štirikrat ob določenih urah (8:30 h in 12:00 h). Pri sušilnici št.1 je bila povprečna temperatura med sušenjem 25,7 °C, vlažnost pa 77,7%. Pri sušilnici št. 2 pa je povprečna temperatura znašala 28,2 °C vlažnost pa 70,5%.

3.2.2 Industrijski sušilnik

Uporabili smo sušilno omaro na Biotehniški fakulteti (Heraeus TU 3). Vzorce smo sušili od jutra (7.00 h) do opoldneva naslednjega dne (12.00 h). Vlažnost in temperaturo smo merili petkrat ob določenih urah (8:30 h, 12:00 h in 15:00 h). Povprečna temperatura je bila 40,2 °C . Povprečna vlažnost pa 46%.

3.2.3 Sušenje na podstrehi

Na podstrehi strojne lope na BF smo ločeno na papirnatih vrečkah (ki so bile na mizah) razprostrli vse vzorce, ki so bili namenjeni temu načinu sušenja. Vzorce smo sušili 12 dni (od 23. 07. 09 do 03. 08. 09). Temperaturo in vlažnost smo preverjali trikrat na dan (8:30 h, 12:00 h, 15:00 h). Merili smo jo vsak dan, razen konec tedna med 25. 07 in 26. 07.. Povprečna temperatura je znašala 24,4 °C, medtem ko je povprečna vlažnost v prostoru znašala 71,3%. Minimalna temperatura je bila 15 °C (27. 07. ob 8:30 h), maksimalna pa 32 °C (27. 07. ob 15:00 h).

3.2.4 Sušenje v sobi

Tudi tukaj smo vzorce sušili na papirnatih vrečkah, ki so bile na mizi. Sušenje je potekalo v učilnici v strojni lopi na BF. Vzorce smo prav tako sušili 12 dni (od 23. 07. 09 do 03. 08. 09). Temperaturo in vlažnost smo preverjali trikrat na dan (8:30 h, 12:00 h, 15:00 h). Merili smo jo vsak dan, razen konec tedna med 25. 07 in 26. 07.. Povprečna temperatura prostora je znašala 24,4 °C, povprečna vlažnost prostora pa je znašala 74,6%. Minimalna temperatura prostora je znašala 23 °C (vsak dan), maksimalna temperatura v prostoru pa je bila 29 °C (23. 07. ob 15:00 h).

3.3 DOLOČANJE TUJIH PRIMESI

Na materialu zdravilnih rastlin ne sme biti vidnih znakov kontaminacije s plesnijo, žuželkami in drugimi živalskimi kontaminanti, vključno z živalskimi iztrebki.

Za določanje tujih primesi v celi ali rezani drogi je primerna makroskopska determinacija, medtem ko je pri uprašenem materialu nujna mikroskopska determinacija.

Tuje primesi so lahko (European pharmacopoeia 7.0, 2010):

- tuji organi - so deli rastline, ki niso definirani kot droga
- tuji elementi - so snovi, ki niso del preiskovane rastline. Takšni delci so lahko rastlinskega, živalskega ali mineralnega izvora (pesek, zemlja, prah...)

3.3.1 Postopek

Naši vzorci so bili celi, zato smo uporabili metodo makroskopske determinacije. Celoten vzorec smo razprostrli v tanki plasti. S prostim očesom smo vzorec pregledali in ločili tuje organe in tuje primesi. Oboje smo nato stehali in izračunali njihov delež glede na celotno suho maso rastlinskega vzorca (European pharmacopoeia 7.0, 2010).

Formula za izračun vsebnosti tujih primesi, podane kot masni delež (%)

$$100 * M_t / M_v \quad \dots (1)$$

M_v - masa suhega rastlinskega vzorca (g)

M_t - masa tujih primesi (g)

3.4 MLETJE VZORCEV

Vzorci smo zmleli s pomočjo vodno hlajenega analitskega mlinčka. Od že očiščenega vzorca smo vzeli del in ga zmleli, tako da smo dobili 5-10 g fino uprašenega vzorca. Zmlete vzorce smo shranili v stekleničkah iz temnega stekla v temnem prostoru na sobni temperaturi. Po vsaki uporabi smo mlinček dobro očistili z vodo in etanolom.

3.5 DOLOČANJE VSEBNOSTI VODE

Želeli smo ugotoviti, koliko vode je ostalo v posušenih vzorcih žajbljevih listov. To smo storili s pomočjo dodatnega sušenja vzorca pri 105 °C, tako da smo dobili absolutno suh vzorec. Uporabili smo metodo izgube vode pri sušenju vzorca na 105 °C. Ta metoda se razlikuje od farmakopejsko predpisane azeotropske metode, ki zahteva uporabo velikih količin organskega topila (200 ml toluena na vzorec). Zaradi manjše škodljivosti in nevarnosti smo se odločili za metodo s sušenjem vzorca (WHO, 1998). Pri uporabljeni metodi sicer pride do hlapenja vode in eteričnega olja, vendar smo predvidevali, da je prispevek mase izhlapelega eteričnega olja zanemarljiv in ne vpliva bistveno na končni rezultat.

3.5.1 Postopek

Tehtiče smo predhodno stehali in v njih dali približno 2 g zmletga vzorca. Tehtiče z vzorci smo ponovno stehali in nato odprte sušili v sušilniku na 105 °C čez noč do konstantne mase. Po sušenju smo tehtiče zaprli in jih prestavili v eksikator, da so se ohladili. Ko so se tehtiči ohladili, smo jih ponovno stehali.

Formula za izračun vsebnosti vode

$$100 * (M_{tv} - M_{ov}) / (M_{tv} - M_t) \quad \dots (2)$$

M_{tv} - masa tehtiča in vzorca (g)

M_{ov} - masa tehtiča in osušenega vzorca (g)

M_t - masa tehtiča (g)

3.6 DOLOČANJE CELOKUPNEGA PEPELA

Metoda celokupnega pepela determinira celokupno količino materiala, ki ostane po žganju. Ta količina vključuje fiziološki pepel, ki izhaja iz rastlinskega tkiva in nefiziološki pepel, ki je ostanek tujih primesi na površini rastlinskega materiala (pesek ali zemlja). (Ratajc, 2008)

3.6.1 Postopek

Za določanje smo uporabili metodo določitve razlike v masi materiala pred in po sežigu vzorca.

Najprej smo talilne lončke segrevali 1 uro v peči pri temperaturi 550 °C, da so rdeče zažareli. Nato smo jih v eksikatorju ohladili in stehali. V lonček smo nato dali med 2-4 g osušenega vzorca in ga ponovno stehali. Sledil je sežig na sežigalniku, dokler se ni pojavilo rdeče žarenje. Potem smo lončke postavili v peč in jih žarili do konstantne mase. To je trajalo čez noč pri temperaturi 550 °C. Po končanem žarenju smo vzorce ponovno ohladili v eksikatorju in jih stehali. Pazili smo, da v nobeni fazi ni prišlo do tvorbe plamenov.

Formula za izračun vsebnosti pepela, podane kot masni delež (%):

$$100 * (M_1 - M_2) / (M_o - M_2) \quad \dots (3)$$

M_o - masa talilnega lončka in osušenega vzorca (g)

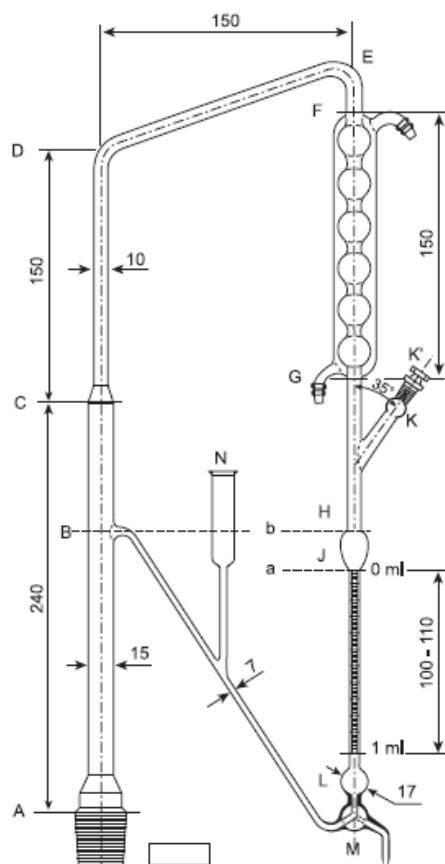
M_1 - masa talilnega lončka in ostanka po žarenju (g)

M_2 - masa pripravljenega talilnega lončka (g)

3.7 DOLOČANJE VSEBNOSTI ETERIČNEGA OLJA

Vsebnost eteričnih olj rastlinskih drog se določi z vodno destilacijo v posebni aparaturi in pod določenimi pogoji. Ta steklena aparatura se imenuje Clevenger in je primerna za destilacijo eteričnega olja v analitske namene (Ratajc, 2008).

Aparatura je sestavljena iz steklene bučke s kratkim vratom, iz katere vodi kondenzorska cev proti hladilniku. Za hladilnikom se nahaja bočna cev z oddušnikom in zbirnik z merilno skalo. Na koncu se nahaja trikotni ventil in graduirana cevka. Celotna aparatura je sestavljena tako, da omogoča kroženje vode. Pomemben pa je tudi primeren vir toplote, ki segreva bučko in omogoča natančno kontrolo (Ratajc, 2008).



Slika 3: Clevengerjeva aparatura Vir: Evropska farmakopeja 7.0

3.7.1 Postopek

Zatehtali smo 20 g droge, jo grobo zdrobili in dali v 500 ml bučko. Dodali smo še 250 ml destilirane vode in vzorec s pomočjo ustreznega grelca destilirali 2 uri. Po končani destilaciji smo odčitali volumen eteričnega olja, ki se je nabral v zbirniku z merilno skalo. Nato smo destilat odlili, eterično olje pa smo ujeli v vialo iz temnega stekla, ki smo jih do nadaljnjne uporabe hranili v hladilniku pri temperaturi 4 °C. Celotno aparaturo smo po vsaki uporabi dobro oprali z vodo in detergentom, sprali z etanolom in nato še z destilirano vodo.

Po farmakopejski metodi se destilacija izvede z dodatkom organskega topila ksilena, ki pomaga pri prevzemu par eteričnega olja, mi pa smo destilacijo izvedli brez, saj smo vzorce uporabili še za druge analize in bi bila prisotnost ksilena moteča.

Formula za izračun vsebnosti eteričnega olja v drogi (ml/kg)

$$1000 * Ve / Mo \quad \dots (4)$$

Ve - odčitani volumen eteričnega olja (destilata) (ml)

Mo - masa vzorca droge (g)

3.8 TLC (TANKOPLASTNA KROMOTOGRAFIJA)

Je ena najbolj uporabljenih in najpreprostejših kromatografskih tehnik za ločevanje zmesi in mešanic. Ločevanje poteka na stekleni plošči, ki je prekrita s tanko plastjo (0,2 mm) adsorpcijskega materiala (silikagel).

Vzorce, ki jih želimo ločiti, naneseemo na spodnji rob plošče kot majhne lise. Nato ploščo prestavimo v razvijalno komoro s topilom (mobilno fazo). Mobilna faza potuje proti vrhu plošče in ločuje posamezne komponente vzorca, ki se zaradi različne polarnosti ločujejo z različnimi hitrostmi. Ko se proces v komori zaključi, ploščo poškopimo z derivatizacijskim reagentom, s čimer postanejo posamezne komponente vidne in jih lahko ovrednotimo (retencijski faktor). Spojine lahko identificiramo le s pomočjo standardnih spojin, ki jih naneseemo na ploščo hkrati z vzorci (Ratajc, 2008).

3.8.1 Postopek

Najprej smo pripravili alkoholni ekstrakt. V centrifugirko smo zatehtali 0,5 g zmlete droge in dodali 5 ml absolutnega etanola. Centrifugirke smo zatesnili s parafilmom in jih postavili v ultrazvočno kadičko za 5 minut. Sledilo je 2 minutno centrifugiranje vzorcev pri 4000 obratih na minuto. Supernatant smo odpipetirali v steklene vialle in vzorce do analiz shranili v hladilniku.

Nato smo pripravili še vzorce z eteričnim oljem, ki smo ga zredčili na 1% koncentracijo.

Potrebno je bilo pripraviti tudi raztopine standardov. Za redčenje smo uporabili absolutni etanol. Uporabiti smo hoteli 4 različne standarde v koncentraciji: tujon (25 µl/ml), 1,8 cineol (5 µl/ml), borneol (5 mg/ml) in α terpineol (3 µl/ml). Pri prvi plošči smo opazili, da so lise standardov slabo ali preveč obarvane, zato smo spremenili koncentracije standardov: tujon (100 µl/ml), 1,8 cineol (10 µl/ml), borneol (10 mg/ml) in α terpineol (1 µl/ml).

Sledilo je nanašanje vzorcev na ploščo (TLC silikagel, 200 x 100 mm) s pomočjo avtomatskega nanašalca vzorcev (Camag Linomat IV). Vzorce smo vzeli iz vialle z injekcijsko brizgo, ki smo jo namestili na nanašalec in določili mesto nanosa vzorca. Na vsako ploščo smo nanegli 8 vzorcev in 4 standarde. Volumen nanašenega vzorca je znašal 20 µl. Najprej smo nanegli alkoholne ekstrakte (4 plošče po 8 vzorcev), nato smo isto storili še z eteričnimi olji.

Plošče smo po končanem nanosu prenesli v avtomatsko razvijalno komoro (Camag ADC), kjer se je dovedla mobilna faza (v našem primeru toluen in etil-acetat v volumskem razmerju 95:5). Razvijanje je trajalo približno 10-15 minut. Po razvijanju smo ploščo potopili za nekaj sekund v derivatizacijski reagent (fosfomolibdenska kislina) in pustili, da se odteče. Na koncu smo plošče sušili 5 minut pri 105 °C.

Plošče smo nato vizualno ocenili (jakost obarvanja), zmerili dolžino fronte in oddaljenost sredine lis posameznih snovi (tujon, cineol, borneol, terpineol) od mesta nanosa ter izračunali retencijske faktorje. Te smo izračunali tudi lisam, ki so bile močnejše ali slabše obarvane in so pripadale snovem, za katere nismo imeli standarda.

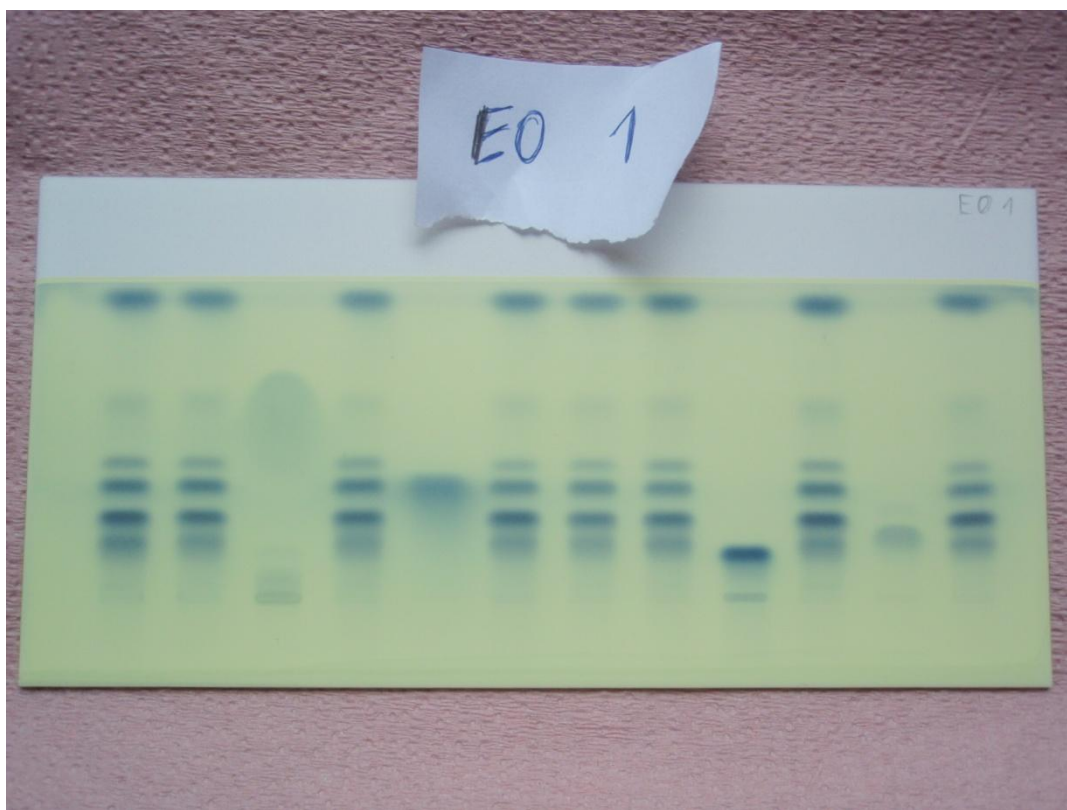
Formula za retencijski faktor:

$$R_f = dx / df \quad \dots (5)$$

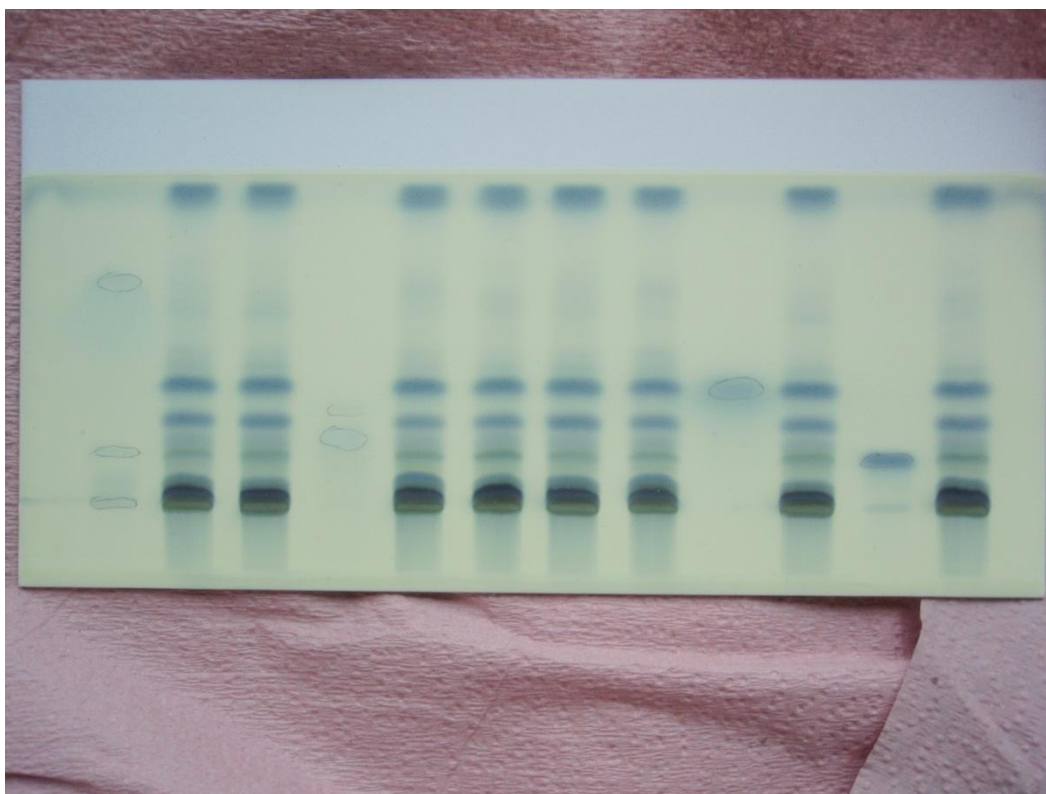
R_f - retencijski faktor

dx - oddaljenost sredine lise od mesta nanosa

df - dolžina fronte (mm)



Slika 4: Primer razvite TLC plošče z eteričnimi olji (Vzorci in standardi so si sledili iz leve proti desni: 50 B 1; 36 C1; tujon; 36 A 1; 1,8 cineol; 50 D 1; 36 D 1; 50 C 1; α terpineol; 36 B 1; borneol, 50 A 1)



Slika 5: Primer razvite TLC plošče z alkoholnimi izvlečki (Vzorci in standardi so si sledili iz leve proti desni: tujon; 50 B 4; 50 D 4; borneol; 36 A 4; 36 C 4; 50 A 4; 36 B 4, 1,8 cineol; 50 C 4; α terpineol; 36 D 4)

4 REZULTATI

4.1 VSEBNOST TUJIH PRIMESI

Farmakopeja določa, da naj bi bil delež tujih organov (deli rastline, ki ne ustrezajo definiciji droge) v drogi do 3%. Ta vrednost je bila presežena v dveh vzorcih, ki sta pripadala populaciji 36. Eden od vzorcev iz populacije 50 pa se je tej mejni vrednosti zelo približal (2,96%) (Glej prilogo 1).

Pri deležu tujih elementov (snovi, ki ne izhajajo iz preiskovane rastline) pa naj bi bila mejna vrednost 2%. V tem primeru noben vzorec te vrednosti ni presegal. Vrednosti so bile zelo nizke, nobena ni presegala 1% (Glej prilogo 1).

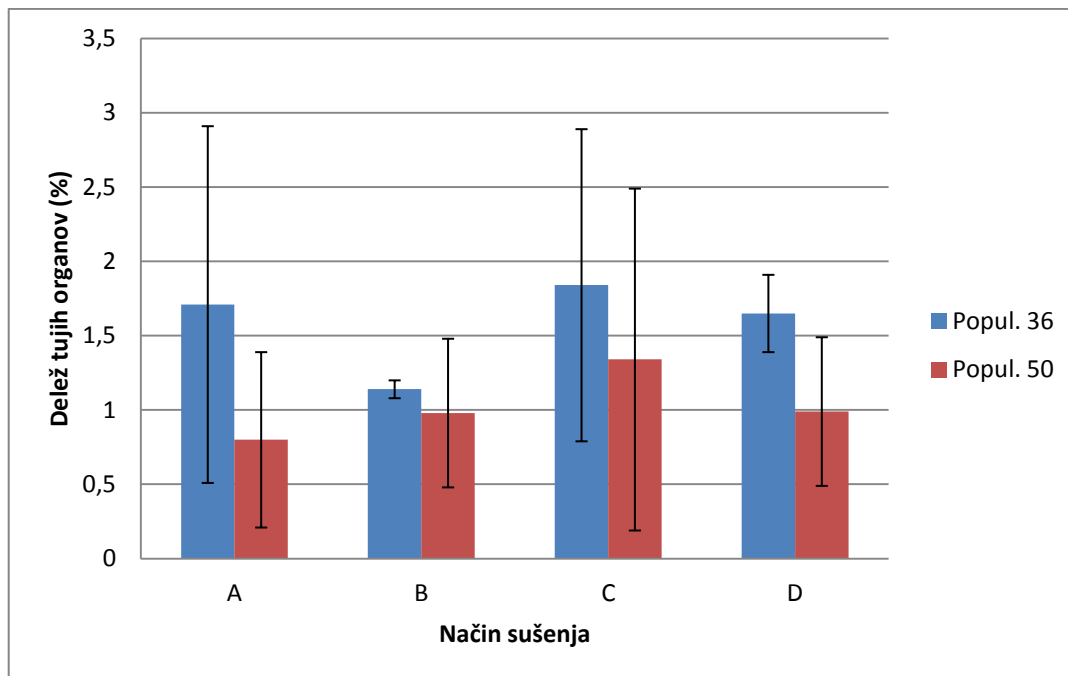
4.1.1 Primerjava med populacijama in načini sušenja

Preglednica 1: Primerjava deleža tujih organov in tujih elementov med populacijama in načini sušenja (povprečje)

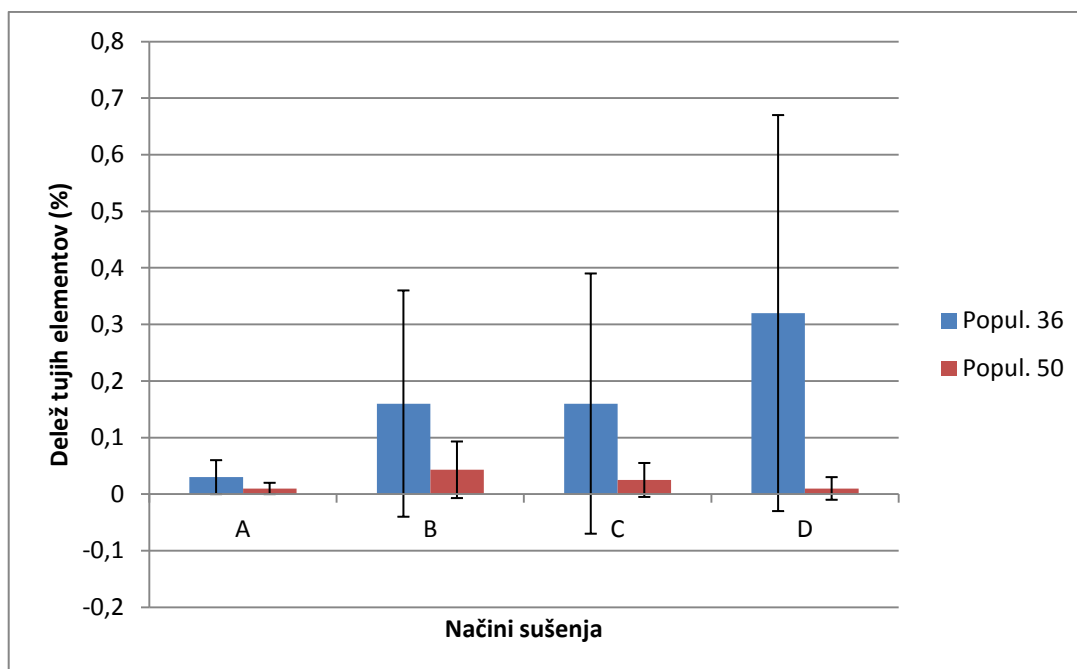
36	Mc (g)	Dto (%)	Dte (%)	50	Mc (g)	Dto (%)	Dte (%)
A	100,38	1,71	0,03	A	89,27	0,80	0,01
Sd. A	26,11	1,20	0,03	Sd. A	14,66	0,59	0,01
B	108,40	1,14	0,16	B	95,36	0,98	0,043
Sd. B	8,02	0,06	0,20	Sd. B	25,51	0,50	0,05
C	89,44	1,84	0,16	C	94,63	1,34	0,025
Sd. C	11,95	1,05	0,23	Sd. C	9,12	1,15	0,03
D	85,61	1,65	0,32	D	107,88	0,99	0,01
sd. D	12,30	0,26	0,35	Sd. D	29,30	0,50	0,02

Mc –povprečna masa celotnega vzorca ; Dto – povprečni delež tujih organov; Dte – povprečni delež tujih elementov; Sd – standardna deviacija; A,B,C,D – načini sušenja

Tukaj lahko primerjamo le vsebnost tujih primesi med populacijama, saj način sušenja nima vpliva. Ugotovljeno je bilo, da populacija 36 vsebuje večji delež tujih organov in tudi tujih elementov.



Slika 6: Primerjava povprečja deleža tujih organov (%) med populacijama



Slika 7: Primerjava povprečja deleža tujih elementov (%) med populacijama

4.2 VSEBNOST VODE IN PEPELA

Pri analizi vsebnosti vode je bilo ugotovljeno, da noben vzorec ni presegel dovoljene vrednosti, ki po farmakopejskih predpisih znaša 100 ml vode na 1 kg droge (Glej prilogo 2).

Pri pepelu pa je v skladu s farmakopejskimi predpisi maksimalna dovoljena vrednost 10% m/m skupnega pepela. Ta vrednost pri nobenemu vzorcu ni bila presežena (Glej prilogo 2).

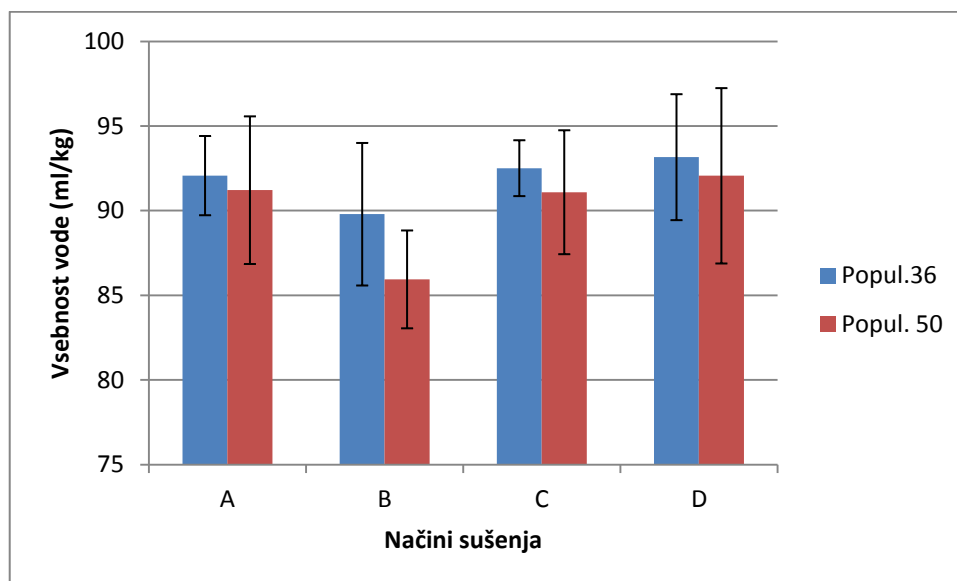
4.2.1 Primerjava med populacijami in načini sušenja

Preglednica 2: Primerjava vsebnosti vode in deleža celokupnega pepela med populacijama in načini sušenja (povprečje)

36	Cv (ml/kg)	Xp (%)	50	Cv (ml/kg)	Xp (%)
A	92,07	8,09	A	91,21	7,16
Sd. A	2,34	0,66	Sd. A	4,36	0,57
B	89,79	8,22	B	85,94	7,25
Sd. B	4,21	0,64	Sd. B	2,89	0,36
C	92,51	7,95	C	91,09	7,14
Sd. C	1,65	0,23	Sd. C	3,66	0,55
D	93,16	8,05	D	92,06	7,24
Sd. D	3,72	0,91	Sd. D	5,18	0,71

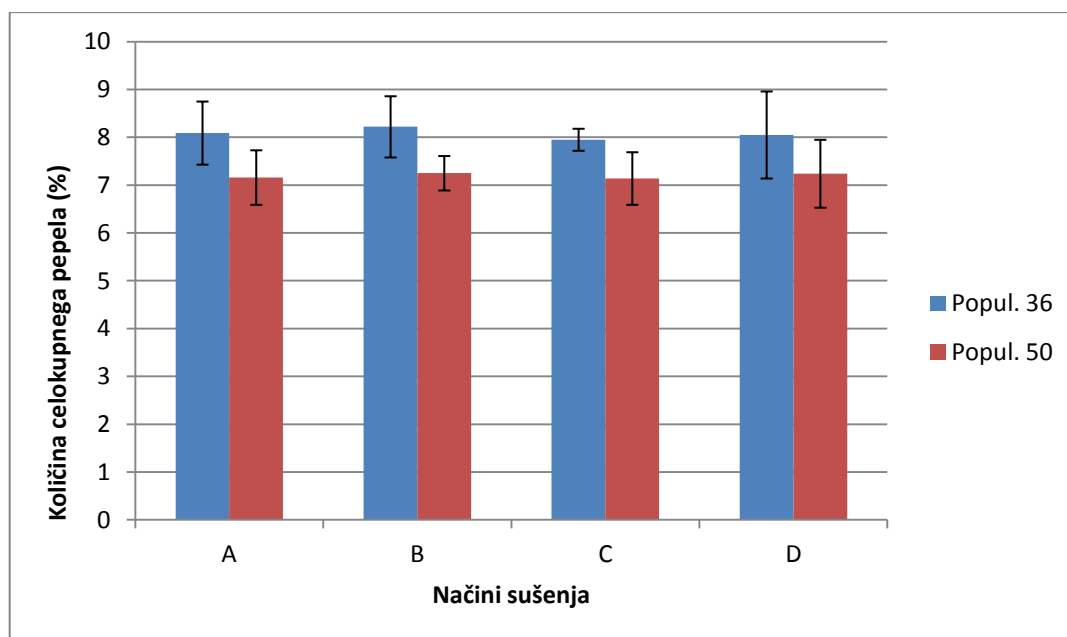
Cv – vsebnost vode ; Xp – delež celokupnega pepela; Sd – standardna deviacija A,B,C,D- načini sušenja

Pri vsebnosti vode smo ugotovili, da je imela populacija 50 manjšo vsebnost vode. Če pa smo primerjali načine sušenja, pa je bila vsebnost vode pri obeh populacijah vidno najmanjša pri sušenju z industrijskim sušilnikom (način B). Tako so imeli najmanjšo vsebnost vode vzorci 50 – B. Največja vsebnost vode je bila pri obeh populacijah dosežena pri sušenju v sobi (način D), vendar se ni močno razlikovala od drugih načinov sušenja. Tako so imeli vzorci iz populacije 36, ki so bili sušeni v sobi največjo vsebnost vode.



Slika 8: Primerjava povprečja vsebnosti vode (ml/kg) med populacijama

Celokupnega pepela je bilo v populaciji 36 več kot v populaciji 50. Razlika med populacijama se giblje okoli 0,8%. Med različnimi načini sušenja pa ni bilo bistvenih razlik.



Slika 9: Primerjava povprečja količine celokupnega pepela (%) med populacijama

4.3 VSEBNOST ETERIČNEGA OLJA

Pri vsebnosti eteričnega olja je v farmakopeji določena minimalna vsebnost eteričnega olja na kilogram droge. Ta znaša 15 ml/kg. V naši raziskavi noben izmed vzorcev ni bil pod to določeno vrednostjo, vsi vzorci pa so kar močno odstopali navzgor. Povprečji obeh populacij je presegalo vrednosti za več kot 10 ml/kg (glej prilogo 3).

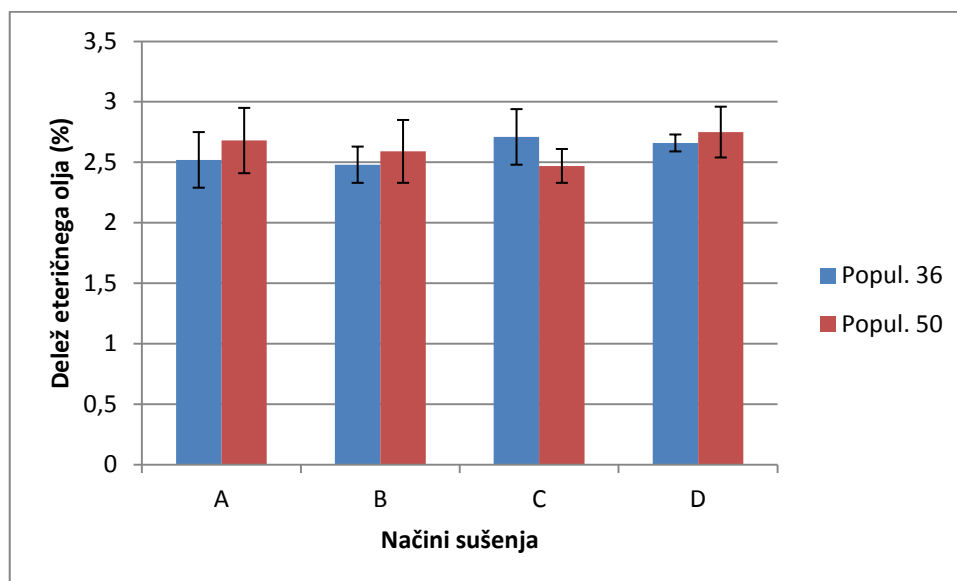
4.3.1 Primerjava med populacijama in načini sušenja

Preglednica 3: Primerjava mase vzorca, volumna eteričnega olja, deleža eteričnega olja in količine EO na 1 kg droge med populacijama in načini sušenja (povprečje)

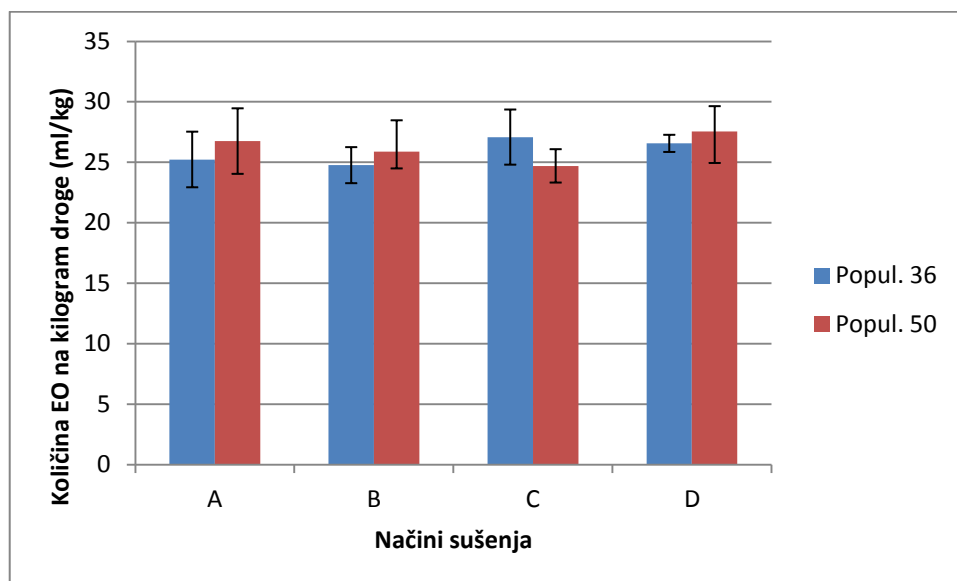
36	Mv (g)	Veo (ml)	Xeo (%)	C (ml/kg)	50	Mv (g)	Veo (ml)	Xeo (%)	C (ml/kg)
A	20,31	0,51	2,52	25,23	A	20,29	0,54	2,68	26,75
Sd. A	0,16	0,05	0,23	2,30	Sd. A	0,14	0,05	0,27	2,71
B	20,29	0,50	2,48	24,76	B	20,20	0,52	2,59	25,87
Sd. B	0,25	0,03	0,15	1,49	Sd. B	0,04	0,05	0,26	2,60
C	20,21	0,55	2,71	27,08	C	20,34	0,50	2,47	24,70
Sd. C	0,10	0,05	0,23	2,28	Sd. C	0,13	0,03	0,14	1,38
D	20,33	0,54	2,66	26,56	D	20,34	0,56	2,75	27,54
Sd. D	0,17	0,01	0,07	0,71	Sd. D	0,09	0,04	0,21	2,10

Mv – masa vzorca iz katerega smo destilirali eterično olje ; Veo- volumen eteričnega olja ; Xeo – delež eteričnega olja ; C – količina eteričnega olja na 1 kg droge; Sd – standardna deviacija A,B,C,D- načini sušenja

Vsebnost eteričnega olja je bila pri populaciji 50 večja od vsebnosti EO pri populaciji 36 v vseh primerih, razen pri sušenju v sobi (C načinu sušenja). Največja vrednost eteričnega olja se je nahajala v vzorcih 50 – D, najmanjša pa v vzorcu 50 – C.



Slika 10: Primerjava povprečja deleža eteričnega olja (%) med populacijama



Slika 11: Primerjava povprečja količine EO na kilogram droge (ml/kg) med populacijama

4.4 TLC ANALIZA

Razvili smo 8 kromatogramskih plošč (4 za analizo eteričnih olj in 4 za alkoholne ekstrakte). Prvo ploščo smo dvakrat ponovili, saj se standardi niso dobro obarvali, zato smo morali spremeniti koncentracije standardov.

Ob vizualnem pregledu plošč smo s pomočjo standardov ugotovili prisotnost tujona, 1,8 cineola, borneola in α -terpineola v vseh vzorcih, tako pri alkoholnih izvlečkih, kot tudi pri eteričnih oljih. Vsi vzorci so tako ustrezali farmakopejskim zahtevam.

Pri vseh štirih ploščah z alkoholnimi izvlečki nismo opazili razlik v obarvanosti lis tujona, 1,8 cineola, borneola in α -terpineola med vzorci. Smo pa opazili, da so lise z retencijskim faktorjem 0,61 pri vzorcih 50 C in 50 D izrazitejše od ostalih. Spojine nismo identificirali, ker ni ustrezala nobenemu uporabljenemu standardu. Ostalih razlik ni bilo.

Pri ploščah z eteričnimi olji pa je bilo več razlik. Manj 1,8 cineola smo opazili pri vzorcih 50 D, 36 C, 36 D (4 ponovitve), medtem ko manj α -terpineola pri vzorcih 50 C in 50 B (2 ponovitvi). Lisa z retencijskim faktorjem 0,46 je bila manj izrazita pri kar nekaj vzorcih: 36 A (3 ponovitve), 36 D (3 ponovitve), 50 D (2 ponovitvi), 50 A (1 ponovitev), 50 C (1 ponovitev). Tudi tukaj spojine nismo identificirali, ker ni ustrezala nobenemu standardu. V dveh primerih smo našli tudi slabše obarvano liso z retencijskim faktorjem 0,28. To je bilo pri vzorcih 36 C 3 in 50 C 3. Spojine nismo identificirali, ker ni ustrezala nobenemu standardu.

Če smo vizualno primerjali plošče z alkoholnimi izvlečki listov in plošče z eteričnimi olji med seboj, smo ugotovili da:

- je vsebnost tujona večja v vzorcih eteričnih olj
- je vsebnost 1,8 cineol in α -terpineola večja v alkoholnih izvlečkih
- pri borneolu ni vidnejših razlik, zato je v obeh primerih enakovredno zastopan

Preglednica 4: Primerjava retencijskih faktorjev standardov med ploščami

Plošča	Rf tujon	Rf 1,8 cineol	Rf borneol	Rf α -terpineol
Ae 1	0,70	0,40	0,24	0,16
Ae 2	0,73	0,42	0,25	0,12
Ae 3	0,71	0,37	0,23	0,16
Ae 4	0,71	0,39	0,23	0,15
Et 1	0,67	0,38	0,22	0,16
Et 2	0,66	0,36	0,20	0,14
Et 3	0,68	0,39	0,21	0,16
Et 4	0,67	0,38	0,22	0,16

Ae- alkoholni ekstrakt; Et- eterično olje; Rf- retencijski faktor

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Pri vsebnosti tujih organov in elementov smo ugotovili, da je v obeh primerih vsebovala populacija 36 večji delež le teh. Razlike so bile velike, vendar sta od vseh vzorcev le dva prekoračila mejno vrednost vsebnosti tujih organov, ki jo dovoljuje farmakopeja. Ta vzorca sta pripadala populaciji 36. Vzrok se lahko skriva v tem, da so bile to mlade rastline, celi grmički, ki smo jih lahko prijeli in tako naenkrat odrezali večjo maso vzorca. S tem pa smo odrezali tudi druge dele rastline in tudi druge rastline, kar je v vzorcu predstavljalo tuje primesi. Pri starejših rastlinah (populacija 50) pa smo morali iz zelo razraščanih rastlin previdno odrezati vsak vršiček posebej, zato je bilo manj tujih primesi, ker smo bili že med nabiranjem bolj pozorni.

Pri analizi vsebnosti vode in pepela so bili vsi vzorci znotraj farmakopejskih zahtev. Če smo primerjali populacije pri vsebnosti vode, je bilo ugotovljeno, da populacija 50 vsebuje manjše količine vode. Manjšo količino vode pa vsebujejo, ker so to starejše rastline, ki že več časa akumulirajo mineralne snovi in jih vlagajo v biomaso in strukturne elemente in je zato vsebnost vode manjša.

Iz primerjave načinov sušenja je bilo razvidno, da je bila najmanjša vsebnost vode pri načinu B (industrijski sušilnik). To je bilo tudi pričakovano, saj so bile rastline posušene hitro s pomočjo vročega zraka v sušilniku, ki je primeren za sušenje velike količine rastlin in so se rastline zato zelo dobro posušile. Bile so zelo krhke. Predvsem pri vzorcih 50 – B je bilo veliko odstopanje, kar je razumljivo, saj so bile to starejše rastline, ki imajo že same po sebi manjšo vsebnost vode, posušene pa so bile v sušilniku. Največja vsebnost vode je bila pri obeh populacijah dosežena pri sušenju v sobi (način D). Tudi to je bilo pričakovano, saj se je pri tem načinu sušenja droga sušila počasi in pri višji zračni vlagi (povprečna vlažnost v prostoru je bila 74,58%), kot na primer pri industrijskem sušilniku. Največ vode so vsebovale mlajše rastline, ki so bile posušene v sobi, torej vzorci 36-D.

Celokupnega pepela je bilo več v vzorcih iz populacije 36. Razlika med populacijama se je gibala okoli 0,8%. Med različnimi načini sušenja ni bilo bistvenih razlik, kar smo pričakovali. Sestave pepela nismo preverjali, zato ne vemo, katere snovi je bilo največ in bi najpomembnejše vplivala na količino pepela.

Torej lahko ugotovimo, da je populacija 36, to so mlajše rastline, vsebovala več pepela in tudi vode. Razlike med populacijama so bile bolj opazne pri celokupnem pepelu kot pa pri vsebnosti vode.

Vsebnost eteričnega olja je bila v obeh populacijah zelo velika in je močno presegala (za nekaj več kot 10 ml/kg) določeno minimalno vsebnost eteričnega olja v farmakopeji (15 ml/kg). Populacija 36 (mlajše rastline) je v povprečju vsebovala 25,91 ml/kg droge, medtem ko je populacija 50 (starejše rastline) vsebovala v povprečju 26,22 ml/kg droge. Tobias (1995) navaja vsebnost eteričnega olja v listih žajblja za najpomembnejša nabiralna področja Dalmacije v vrednosti 16-36 ml/kg. Tako vidimo, da imajo iz tega vidika naše rastline povprečne količine EO, medtem ko so iz vidika farmakopejskih zahtev rastline kakovostne.

Zanimvo je, da je populacija 50 (starejše rastline) pri treh načinih sušenja (A, B in D) imela večjo vsebnost eteričnega olja kot populacija 36 (mlajše rastline). Razlike niso bile velike, največ približno 1,5 ml/kg. Pri sušenju na podstrehi (C način sušenja) je populacija 36 (mlade rastline) imela večjo vsebnost eteričnega olja kot populacija 50 (starejše rastline). Razlika med populacijama je bila rahlo večja kot 2 ml/kg EO. Najmanjšo vsebnost so imeli vzorci iz populacije 50 (starejše rastline), ki so bili posušeni na podstrehi (C način sušenja). Vsebovali so 24,70 ml eteričnega olja na kilogram droge. Največjo vsebnost EO pa so imeli ravno tako vzorci iz populacije 50 in sicer pri sušenju v sobi. Ta vrednost je znašala 27,54 ml/kg.

Ker razlike niso velike, lahko sklepamo, da način sušenja bistveno ne vpliva na količino eteričnega olja. Pomenbnejše je, da temperatura med sušenjem ne preseže mejne vrednosti (40 °C), ki bi povzročila izhlapevanje eteričnega olja in bi s tem zmanjšala končno količino. Večji vpliv na količino EO imajo čas nabiranja, genske lastnosti rastlin in zunanji vplivi (glej 2.4.1.1).

Tankoplastna kromatografija je potrdila prisotnost tujona, 1,8 cineola, borneola in α -terpineola v vseh vzorcih, tako pri alkoholnih izvlečkih, kot tudi eteričnih oljih. S tem so izpolnjeni vsi pogoji Evropske farmakopeje za kakovost droge *Salviae folium*. Ugotovljeno je bilo tudi, da je vsebnost tujona večja v vzorcih eteričnih olj, medtem ko je vsebnost 1,8 cineola in α -terpineola večja pri vzorcih v alkoholnih izvlečkih. Pri borneolu ni bilo vidnejših razlik, zato je v obeh primerih enakovredno zastopan. Rezultati nam kažejo, da je naš nabrani žajbelj tujonskega kemotipa (Boelens in Boelens, 1997). Rezultati so tudi pokazali, da način sušenja ne vpliva bistveno na sestavo eteričnega olja in alkoholnega izvlečka. Ker količine teh snovi nismo določali, ne moremo natančno ugotoviti, v kakšnih vrednostih so se nahajale. Če bi želeli natančnejšo določitev o sestavi eteričnega olja in alkoholnega izvlečka, bi bila primernejša metoda HPLC.

5.2 SKLEP

- Ugotovljeno je bilo, da je droga *Salviae folium*, ki smo jo nabrali na dveh naravnih rastiščih na Petrinjskem Krasu, skladna s predpisi Evropske farmakopeje.
- Mlajše rastline (populacija 36) so imele večji delež tujih elementov in organov, pa tudi večjo vsebnost vode in celokupnega pepela. Pri deležu eteričnega olja je bila vsebnost v treh primerih višja pri starejših rastlinah (populacija 50), le pri sušenju na podstrehi je imela večjo vsebnost mlajša populacija (36). Pri tem načinu sušenja so bile tudi največje razlike med obema populacijama.
- Vsebnost eteričnega olja se je v vseh vzorcih gibala med 24,70 in 27,54 ml/kg droge. V farmakopeji je določena minimalna vrednost 15 ml/kg droge, medtem ko Tobias (1995) navaja vsebnost eteričnega olja v listih žajblja za najpomembnejša nabiralna področja Dalmacije v vrednosti 16-36 ml/kg. Tako vidimo, da imajo iz tega vidika naše rastline povprečne količino EO, medtem ko so iz vidika farmakopejskih zahtev rastline kakovostne.

- Če primerjamo vse rezultate, ugotovimo, da načini sušenja bistveno ne vplivajo na kakovost, sestavo in količino eteričnega olja. Pomenbnejše je, da pazimo, da med sušenjem temperatura ne preseže mejnih vrednosti (40 °C) in da listov ne sušimo na direktni sončni svetlobi, saj bi tako uničili veliko učinkovin in vplivali na količino in kakovost eteričnega olja.
- Eterična olja so imela večjo vsebnost tujona kot alkoholni izvlečki, medtem ko so imeli alkoholni izvlečki večjo vsebnost 1,8 cineola in α - terpineola. Načini sušenja na to niso imeli vpliva.

6 POVZETEK

V naši raziskavi smo hoteli ugotoviti, kakšen vpliv ima način sušenja žajblja (*Salvia officinalis* L.) na kakovost droge in na kakovost ter količino eteričnega olja. Uporabili smo 4 različne načine sušenja: sušenje z gospodinjsko sušilnico (A), z industrijskim sušilnikom (B), sušenje na podstrehi (C) in sušenje v sobi (D). Preverili smo tudi ustreznost droge po merilih Evropske farmakopeje (Evropska farmakopeja 6.0, 2008), kjer je bilo potrebno določiti vsebnost tujih primesi, vsebnost vode, vsebnost celokupnega pepela in vsebnost eteričnega olja. Na koncu smo s pomočjo TLC preverjali prisotnost tujona, 1,8 cineola, borneola in α -terpineola. S TLC smo primejali tudi razlike med alkoholnimi izvlečki listov in eteričnimi olji. Drogo smo nabrali na dveh naravnih rastiščih na Petrinjskem Krasu. Na prvem rastišču BFL 36 so bile rastline mlajše, s kompaktnejšo rastjo, medtem ko so bile na rastišču BFL 50 rastline starejše.

Ugotovljeno je bilo, da droga, ki smo jo nabrali na naravnem rastišču, ustreza zahtevam farmakopeje in je primerna za predelavo in uporabo. Različni načini sušenja niso imeli bistvenega vpliva na kakovost droge ter kakovost in količino eteričnega olja. Pomenbno je le, da listov ne sušimo pri previsokih temperaturah (ne nad 40 °C) in ne na direktni sončni svetlobi, saj bi tako povzročili razpad nekaterih pomenbnih učinkovin ter izhlapevanje eteričnih olj. Na kvaliteto in količino tako eteričnih olj kot droge v večji meri vplivajo genetske lastnosti rastlin, zunanji dejavniki in čas nabiranja. Pri vseh vzorcih se je količina eteričnih olj gibala med 24,70 - 27,54 ml/kg droge. V farmakopeji je določena minimalna vrednost 15 ml/kg droge, kar kaže, da so rastline, ki smo jih nabrali, kakovostne. Pri primerjanju alkoholnih izvlečkov listov in eteričnega olja pa smo ugotovili, da več tujona vsebujejo eterična olja, medtem ko več 1,8 cineola in α -terpineola vsebujejo alkoholni izvlečki.

Ljudje že od nekdaj radi prisegajo na uporabo zdravilnih rastlin tako preventivno kot kurativno in žajbelj (*Salvia officinalis* L.) je rastlina, ki ima s svojimi širokim spektrom delovanja v ljudski medicini že bogato tradicijo, ki se bo še nadaljevala.

7. VIRI

- Barnes J., Anderson L.A., Phillipson J.D. 2007. Herbal medicines 3. London, Chicago. Pharmaceutical Press: 721 str.
- Baričevič D., Bartol T. 2000. The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. V: Sage: The genus *Salvia*. Kintzios S.E. (ur.). Amsterdam, Harwood Academic Publishers: 143-184
- Baričevič D. 1996a. Priročnik za ciklus predavanj pridelovanje zdravilnih rastlin 1.del. Ljubljana, samozaložba: 117 str.
- Baričevič D. 1996b. Rastlinske droge in njihovi sekundarni metaboliti – surovina rastlinskih zdravilnih pripravkov. Ljubljana, samozaložba: 81 str.
- Bernotiene G., Nivinskiene O., Butkiene R., Mockute D. 2007. Essential oil composition variability in sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemija*, 18, 4: 38-43
- Boelens M. H., Boelens H. 1997. Chemical and sensory evaluation of three sage oils. *Perfumer and Flavorist*, 22: 19-40
- Bremness L. 1997. Velika knjiga o zeliščih. Ljubljana. Mladinska knjiga: 286 str.
- Clebsch B. 2003. The new book of *Salvias*: sages for every garden. Cambridge, Tiber Press: 338 str.
- Dweck A. C. 2000. The Folklore and Cosmetic Use of various *Salvia* species. V: Sage: The genus *Salvia*. Kintzios S.E. (ur.). Amsterdam, Harwood Academic Publishers: 1-26
- European pharmacopoeia. 7th edition. 2010. Strasbourg. Council Of Europe. European Pharmacopoeia Commission: 3307 str.
- Google maps. 2012.
<http://maps.google.si/maps?hl=sl&tab=wl> (13.maj 2012)
- Galle- Toplak K. 2002. Zdravilne rastline na Slovenskem. 2. izd. Ljubljana, Mladinska knjiga: 310 str.
- Giannouli A.L., Kintzios S.E. 2000. Essential oils of *Salvia* spp: examples of intraspecific and seasonal variation. V: Sage: The genus *Salvia*. Kintzios S.E. (ur.). Amsterdam, Harwood, Academic Publishers: 69- 80
- Grünwald J., Jänicke C. 2006. Zelena lekarna. Ljubljana, Mladinska knjiga: 414 str.
- Hedge, I. C. 1972. *Salvia*. V: Flora Europaea, vol. 3. Tutin, T.G. in sod. (ur.). Cambridge, Cambridge University Press: 188-192
- Interaktivni atlas Slovenije 3.0. 2000. Ljubljana. Mladinska knjiga: CD-ROM

- Karousou R., Hanlidou E., Kokkini S. 2000. The Sage plants of Greece: Distribution and infraspecific variation. V: Sage: The genus *Salvia*. Kintzios S.E. (ur.). Amsterdam, Harwood Academic Publishers: 27- 46
- Kothe H. 2009. Zelišča. Tržič, Učila international: 288 str.
- Lima C.F.M. 2006. Effects of *Salvia officinalis* in the liver: Relevance of glutathione levels. Tese de Doutorado. Universidade do Minho. Escola de ciências. 238 str.
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Ravnik V., Podobnik A., Turk B., Vreš B. 1999. Mala flora Slovenije, ključ za določanje praprotnic in semenk. 3. Izd. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 845 str.
- Mlakar V. 2009. Zdravilne rastline v ljudski medicini na slovenskem. Geina sredica. <http://www.gea-on.net/clanek.asp?ID=733>
- Perry N. B., Anderson R. E., Brennan N. J., Douglas M. H., Heaney A. J., McGimpsey J. A., Smallfield B. M., 1999. Essential oils from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.):Variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 5: 2048-2054
- Prijatelj N. 2003. Farmakognozija- Rastlinske droge. Ljubljana, DZS: 159 str.
- Poštić S. 2006. A kot aromaterapija. Izola, Založba Meander: 291 str.
- Ratajc P. 2008. Vrednotenje kakovosti rastlinskih drog po priporočilih Evropske farmakopeje in WHO, Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 16 str. (interno gradivo)
- Rode J. 2001. Zeliščni vrt: domača lekarna. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 231 str.
- Tobias T. 1995. Analiza vsebnosti eteričnega olja in rožmarinske kisline v drogi *Salvia officinalis* L. z metodama GC in HPLC. Diplomsko delo. Ljubljana, Fakulteta za farmacijo: 50 str.
- Ulubelen A. 2000. Terpenoids in the genus *Salvia*. V: Sage: The genus *Salvia*. Kintzios S.E. (ur.). Amsterdam, Harwood Academic Publishers: 55-68
- Voda K., Boh B., Dolničar D. Eterična olja. Oddelek za kemijsko izobraževanje in informatiko. Naravoslovnotehnična fakulteta. Univerza v Ljubljani. <http://www.kii.ntf.uni-lj.si/etolja/naslov.htm> (5. jan 2011)
- World Health Organization. 1998. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva. WHO. 115 str.
- Willfort R. 1983. Zdravilne rastline in njih uporaba. 3. Izd. Maribor, Založba Obzorja: 507 str.
- YanLi L., Craker L. E., Potter T. 1996. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). Acta Horticulturae, 426: 419–426.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Dei Baričevič in Petri Ratajc za ves čas, ki sta mi ga namenili, ter za pomoč pri izdelavi diplomske naloge.

Posebna zahvala je namenjena mojima staršema, ki sta mi omogočila študij in v tem času pokazala veliko mero potrpljenja in mi namenila veliko vzpodbudnih besed.

PRILOGA A

Primerjava deleža tujih organov in tujih elementov med populacijama in načini sušenja

	Mc (g)	Dto (%)	Dte (%)		Mc (g)	Dto (%)	Dte (%)
36-A-1	68	1,6	0	50-A-1	68,15	0,82	0,01
36-A-2	90,43	0,9	0,07	50-A-2	90,8	1,62	0
36-A-3	120,37	0,9	0,02	50-A-3	100,53	0,38	0,01
36-A-4	122,7	3,45	0,04	50-A-4	97,6	0,37	0,02
36-B-1	112,77	1,07	0,39	50-B-1	64,65	1,09	0,12
36-B-2	113,29	1,17	0,05	50-B-2	117,72	0,59	0,03
36-B-3	/	/	/	50-B-3	84,15	1,64	0
36-B-4	99,15	1,18	0,04	50-B-4	114,93	0,6	0,02
36-C-1	95,83	0,78	0,03	50-C-1	88,2	2,96	0,04
36-C-2	96,99	1,25	0,5	50-C-2	86,16	0,39	0
36-C-3	71,67	2,16	0,02	50-C-3	105,63	0,68	0,06
36-C-4	93,25	3,16	0,07	50-C-4	98,54	1,32	0
36-D-1	79,81	1,63	0,75	50-D-1	64,05	1,55	0
36-D-2	71,03	1,73	0	50-D-2	123,83	0,5	0
36-D-3	96,12	1,31	0,07	50-D-3	119,54	1,26	0,04
36-D-4	95,48	1,93	0,46	50-D-4	124,11	0,66	0

Mc – masa celotnega vzorca ; Dto – delež tujih organov; Dte – delež tujih elementov

PRILOGA B

Primerjava vsebnosti vode in deleža celokupnega pepela med populacijama in načini sušenja

	Cv (ml/kg)	Xp (%)		Cv (ml/kg)	Xp (%)
36-A-1	92,29	7,6	50-A-1	93,79	7,99
36-A-2	93,46	8,07	50-A-2	84,71	6,96
36-A-3	88,69	7,66	50-A-3	93,6	6,93
36-A-4	93,82	9,02	50-A-4	92,72	6,74
36-B-1	92,82	8,16	50-B-1	81,68	7,58
36-B-2	87,92	7,82	50-B-2	88,04	7,17
36-B-3	84,75	7,76	50-B-3	87,24	6,78
36-B-4	93,67	9,14	50-B-4	86,79	7,47
36-C-1	91,92	7,78	50-C-1	96,06	7,73
36-C-2	90,49	7,77	50-C-2	88,83	6,58
36-C-3	93,39	8,25	50-C-3	87,91	7,49
36-C-4	94,23	8,01	50-C-4	91,54	6,77
36-D-1	91,78	7,35	50-D-1	85,79	8,28
36-D-2	93,56	7,89	50-D-2	93,02	6,99
36-D-3	89,23	7,57	50-D-3	91,08	7,01
36-D-4	98,07	9,37	50-D-4	98,33	6,66

Cv – vsebnost vode ; Xp – delež celokupnega pepela

PRILOGA C

Primerjava mase vzorca, volumna eteričnega olja, deleža eteričnega olja in količine EO na 1 kg droge med populacijama in načini sušenja

	Mv (g)	Veo (ml)	Xeo (%)	C (ml/kg)		Mv (g)	Veo (ml)	Xeo (%)	C (ml/kg)
36-A-1	20,49	0,5	2,44	24,40	50-A-1	20,14	0,52	2,58	25,82
36-A-2	20,29	0,54	2,66	26,62	50-A-2	20,48	0,48	2,34	23,44
36-A-3	20,37	0,56	2,75	27,50	50-A-3	20,26	0,6	2,96	29,61
36-A-4	20,10	0,45	2,24	22,39	50-A-4	20,26	0,57	2,81	28,14
36-B-1	20,43	0,54	2,64	26,43	50-B-1	20,23	0,6	2,97	29,65
36-B-2	20,11	0,51	2,54	25,37	50-B-2	20,18	0,48	2,38	23,78
36-B-3	20,05	0,46	2,29	22,95	50-B-3	20,15	0,51	2,53	25,31
36-B-4	20,57	0,5	2,43	24,31	50-B-4	20,23	0,5	2,47	24,72
36-C-1	20,10	0,53	2,64	26,37	50-C-1	20,20	0,49	2,43	24,26
36-C-2	20,20	0,5	2,48	24,75	50-C-2	20,27	0,53	2,62	26,15
36-C-3	20,35	0,55	2,70	27,03	50-C-3	20,46	0,52	2,54	25,41
36-C-4	20,21	0,61	3,02	30,18	50-C-4	20,45	0,47	2,30	22,99
36-D-1	20,38	0,55	2,70	26,99	50-D-1	20,34	0,56	2,75	27,53
36-D-2	20,12	0,55	2,73	27,33	50-D-2	20,38	0,51	2,50	25,03
36-D-3	20,30	0,53	2,61	26,11	50-D-3	20,43	0,56	2,74	27,41
36-D-4	20,52	0,53	2,58	25,82	50-D-4	20,22	0,61	3,02	30,17

Mv – masa vzorca iz katerega smo destilirali eterično olje ; Veo- volumen eteričnega olja ; Xeo – delež eteričnega olja ; C – količina eteričnega olja na 1 kg droge