

UNIVERZITET CRNE GORE

Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta

PREDMET: Izvještaj komisije o ocjeni master rada „Ispitivanje antioksidativne aktivnosti različitih ekstrakata ploda vrste *Rosa canina* L. “, kandidatkinje Tamare Džarić BSc biologija.

Na CIV sjednici Vijeća Prirodno-matematičkog fakulteta održanoj 26. 09. 2023. godine, imenovana je Komisija za ocjenu master rada pod nazivom „Ispitivanje antioksidativne aktivnosti različitih ekstrakata ploda vrste *Rosa canina* L.“, kandidatkinje Tamare Džarić, u sastavu: doc.dr Dragana Petrović (mentor), prof. dr Danka Caković (član) i doc. dr Mijat Božović (član). Nakon pregleda master rada, Komisija podnosi sljedeći

IZVJEŠTAJ

Struktura master rada

Master rad pod nazivom „Ispitivanje antioksidativne aktivnosti različitih ekstrakata ploda vrste *Rosa canina* L.” napisan je na ukupno 76 strana. Poglavlja rada su: Izvod (Abstract), Uvod, Ciljevi istraživanja, Pregled literature, Materijal i metode, Rezultati i diskusija, Zaključak i Popis literature. U radu je predstavljeno 8 tabela, 16 grafika i 15 slika. Poglavlje Popis literature sadrži 131 referenci.

Predmet rada

Predmet ovog istraživanja jeste plod *Rosa canina* L. i to divlji i komercijalni uzorak.

Novija istraživanja ukazuju na značaj upotrebe biljnih preparata prirodnog porijekla u odnosu na komercijalne, s obzirom na značajne razlike u njihovom hemijskom sastavu. Shodno tome predmet istraživanja u okviru ovog rada je komparativna analiza sadržaja bioaktivnih materija (fenola, flavonoida i tanina) u različitim tipovima ekstrakata (ekstrakti dobijeni organskim

rastvaračima i infuzni (vodeni ekstrakt)), kod dva odabrana uzorka ploda ove vrste (divlji i komercijalni), kao i utvrđivanje ukupne antioksidativne aktivnosti pomenutih ekstrakata primjenom različitih testova.

Ciljevi istraživanja

Ciljevi ovog istraživanja su:

- Određivanje sadržaja fenola, flavonoida i tanina u etanolnom, acetonskom i heksanskom ekstraktu komercijalnog i divljeg uzorka ploda vrste *Rosa canina* L.;
- Određivanje sadržaja fenola, flavonoida i tanina u infuzima komercijalnog i divljeg uzorka ploda vrste *Rosa canina* L. pripremanim 5, 15 i 30 minuta;
- Upoređivanje efikasnosti etanola, acetona i heksana u izolovanju bioaktivnih materija iz ploda vrste *Rosa canina* L.;
- Utvrđivanje vremena stajanja pripremljenih infuza koje u najvećoj mjeri doprinosi izolovanju bioaktivnih materija iz ploda vrste *Rosa canina* L.;
- Utvrđivanje antioksidativne aktivnosti pomenutih ekstrakata i infuza ploda divlje ruže korišćenjem DPPH i FRAP testa radi njihove potencijalne primjene u ishrani i liječenju različitih oboljenja;
- Određivanje korelacije sadržaja fenola, flavonoida i tanina sa antioksidativnim potencijalom različitih ekstrakata i infuza ispitivanih plodova divlje ruže.

Metode, dobijeni rezultati i zaključci

Za potrebe ovog magistarskog uzorak divljeg šipurka sakupljen je na lokalitetu Moračkih planina (Tali) septembra 2021. godine. Kao komercijalni uzorak korišten je šipurak proizvođača „Bilje Borča“ iz Srbije, kupljen u lokalnoj prodavnici zdrave hrane. Sakupljeni plodovi divlje ruže su osušeni na sobnoj temperaturi i čuvani u staklenim teglama na suvom i tamnom mjestu. Prije početka ekstrakcije, plodovi su mehanički usitnjeni u električnom blenderu. Ekstrakcija uzoraka je izvršena u aparaturi po Soxhlet-u uz upotrebu tri različita rastvarača: etanola, acetona i heksana. 40 g mehanički usitnjenog uzorka je stavljeno u vrećicu napravljenu od filter papira i

ubačeno u ekstraktor Soxhlet aparata sa kojim je povezan povratni kondenzator. 300 ml odgovarajućeg rastvarača, koji je zagrijavan do tačke ključanja, je korišteno u procesu ekstrakcije, koji je sproveden kontinuirano u toku 6 sati. Postupak je ponovljen za svaki od tri rastvarača, sa divljim i komercijalnim uzorkom šipurka. Na taj način dobijeno je 6 različitih uzoraka. Za pravljenje infuza (čajeve) korišteno je 2 g mehanički usitnjenog šipurka, koji je stavljen u filter kesicu. Vodeni ekstrakti su pripremani po tipu infuza u trajanju od 5, 15 i 30 minuta (slika 11). Tako je dobijeno 6 infuza, po tri za divlji i komercijalni uzorak. Nakon što je isteklo vrijeme ekstrakcije, infuzi su dodatno filtrirani kako bi se uklonile čestice uzorka koje su prošle kroz filter kesicu.

U uzorcima dobijenim Soxhlet ekstrakcijom, korišćenjem etanola, acetona i heksana kao rastvarača kao i u vodenim ekstraktima (infuzima) određen je sadržaj bioaktivnih jedinjenja i njihov antioksidativni potencijal primjenom DPPH i FRAP testa. Ukupan sadržaj fenola u analiziranim ekstraktima određen je Folin-Ciocalteu kolorimetrijskom metodom prema Singleton i Rossi - u (1965); sadržaj flavonoida ispitan je aluminijum- hlorid kolorimetrijskom metodom prema Shams Ardekani i sar. (2011); i sadržaj tanina određen je primjenom modifikovane metode prema Price i Butler – u (1977). Ispitana je antioksidativna aktivnost primjenom DPPH testa Shimanda i sar. (1992)., i antioksidativna aktivnost primjenom FRAP testa prema Benzie & Devaki, 2017.

Najveći sadržaj ukupnih fenola zabilježen je kod acetonskog ekstrakta komercijalnog uzorka (177,63 mg GA/g suve materije), a najmanji kod etanolnog ekstrakta istog uzorka (11,06 mg GA/g suve materije). Kada su infuzi u pitanju najveći sadržaj fenola je zabilježen kod infuza divljeg uzorka od 30 minuta (26,66 mg GA/g suve materije), a najmanji kod infuza komercijalnog uzorka od 5 minuta (7,7 mg GA/g suve materije).

Kada je u pitanju sadržaj flavonoida, najbolji rezultat postignut je kod heksanskog ekstrakta divljeg uzorka (64,2 µg QuE/g suve materije), a najslabiji kod acetonskog ekstrakta divljeg uzorka (6,65 µg QuE/g suve materije). Kod infuza, količina flavonoida je bila suviše niska da bi se mogla očitati.

Najveća vrijednost sadržaja tanina zabilježena je kod acetonskog ekstrakta divljeg uzorka (21,74 µg TAE/g suve materije), a najmanja kod heksanskog ekstrakta komercijalnog uzorka (4,74 µg TAE/g suve materije). Infuz komercijalnog uzorka od 30 minuta je sadržao najveću količinu

tanina (17,98 μg TAE/g suve materije), a infuz istog uzorka od 5 minuta najmanju (7,48 μg TAE/g suve materije).

Efikasnost etanola i acetona kao rastvarača se razlikuje u zavisnosti od vrste uzorka i tipa jedinjenja koje je ispitivano. Analiza glavnih komponenti pokazala je da se heksan jasno izdvojio kao najmanje efikasan rastvarač u okviru ovog istraživanja. Kada su u pitanju infuzi, duža vodena ekstrakcija dovodi do izolovanja veće količine bioaktivnih materija.

Ispitivanja antioksidativne aktivnosti primjenom DPPH testa, pokazala su da je najbolji rezultat zabilježen za etanolni ekstrakt komercijalnog uzorka (IC_{50} vrijednost 115,88 $\mu\text{g/ml}$), a najslabiji antioksidativni potencijal je imao heksanski ekstrakt divljeg uzorka (1154,22 $\mu\text{g/ml}$). Infuz komercijalnog uzorka od 5 minuta je imao najveći antioksidativni potencijal (4,2 $\mu\text{g/ml}$), a infuz divljeg uzorka od 30 minuta najmanji (151,36 $\mu\text{g/ml}$).

Analiza antioksidativnog potencijala primjenom FRAP metode pokazala je nešto drugačije rezultate u odnosu na one koji su dobijeni DPPH metodom. Najveći potencijal je, prema ovom testu, imao acetonski ekstrakt divljeg uzorka (572,61 mmol Fe^{2+}/g suve materije), a najmanji acetonski ekstrakt komercijalnog uzorka (232,09 mmol Fe^{2+}/g suve materije). Infuz divljeg uzorka od 30 minuta je pokazao najveći antioksidativni potencijal (1251,26 mmol Fe^{2+}/g suve materije), dok je infuz komercijalnog uzorka od 5 minuta imao najmanji potencijal (148,85 mmol Fe^{2+}/g suve materije).

Infuzi su za razliku od ekstrakata pokazali značajno veći antioksidativni potencijal kada je u pitanju DPPH metoda, što može sugerisati da je metoda pripreme infuza efikasnija za izolovanje komponenti koje doprinose većem antioksidativnom potencijalu.

Ispitivanja sprovedena u okviru ovih istraživanja takođe su pokazala da oba uzorka ploda *Rosa canina* L. imaju značajan antioksidativni potencijal, pri čemu je komercijalni uzorak pokazao neznatno bolje rezultate. S obzirom da se radi o komercijalnom uzorku može se prepostaviti da je taj uzorak vjerovatno odgajan u optimalnijim uslovima sredine u odnosu na uzorak ploda divljeg šipurka, što je svakako imalo uticaja kako na sadržaj ispitivanih bioaktivnih materija, tako i na nivo antioksidativnog potencijala.

S obzirom da u Crnoj Gori do sada nisu vršena istraživanja ovog tipa, rezultati koji su dobijeni mogu predstavljati značajan doprinos u cilju što detaljnije biohemijske karakterizacije ploda divljeg šipurka (*Rosa canina* L.). Naredna istraživanja bi trebalo usmjeriti u pravcu ispitivanja dodatnih metoda ekstrakcije, koje bi potencijalno mogle biti efikasnije. Takođe bi se pažnja

trebalo posvetiti i analizi ekoloških faktora, koji nesumnjivo imaju uticaja na sadržaj bioaktivnih materija kao i na nivo antioksidativne aktivnosti ispitivanog uzorka. Shodno tome optimizacija uslova, imala bi za posledicu efikasniju izolaciju ispitivanih metabolita, što bi svakako doprinijelo većoj upotrebi ploda divlje ruže kako u ishrani tako i u farmakološke svrhe, u prevenciji i liječenju različitih oboljenja.

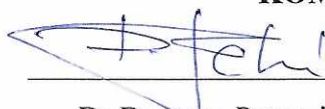
Zaključak i predlog komisije

Nakon pregledanog master rada i analize predstavljenih rezultata, Komisija konstatuje da master rad Tamare Džarić pod naslovom „ **Ispitivanje antioksidativne aktivnosti različitih ekstrakata ploda vrste *Rosa canina* L.** “ zadovoljava sve kriterijume naučno-istraživačkog rada. Master rad je dobro struktuiran, tema rada je naučno zasnovana i aktuelna, a ciljevi su jasno definisani.

Na osnovu gore navedenog, Komisija predlaže Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta da master rad kandidatkinje Tamare Džarić pod naslovom „**Ispitivanje antioksidativne aktivnosti različitih ekstrakata ploda vrste *Rosa canina* L.**“ prihvati i omogući dalju proceduru, odnosno javnu usmenu odbranu.

Podgorica, 08. 01. 2024.

KOMISIJA



Dr Dragana Petrović doc., PMF - mentor



Dr Danka Caković red. prof., PMF - član



Dr Mijat Božović doc., PMF - član