

UNIVERZITET CRNE GORE

Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta

PREDMET: Izvještaj komisije o ocjeni master rada „Ispitivanje antioksidativnog potencijala različitih ekstrakata kore i tropa cvekle (*Beta Vulgaris* L.) sa područja Crne Gore“, kandidatkinje Nikoline Mijušković BSc biologija.

Na CXXV sjednici Vijeća Prirodno-matematičkog fakulteta održanoj 9.07.2024. godine imenovana je Komisija za ocjenu magistarskog rada pod nazivom „Ispitivanje antioksidativnog potencijala različitih ekstrakata kore i tropa cvekle (*Beta Vulgaris* L.) sa područja Crne Gore“, kandidatkinje Nikoline Mijušković, 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 antioksidativnog potencijala različitih ekstrakata kore i tropa cvekle (*Beta Vulgaris* L.) sa područja Crne Gore“ napisan je na ukupno 104 stranice. Poglavlja rada su: *Izvod (Abstract)*, *Uvod*, *Ciljevi istraživanja*, *Pregled literature*, *Materijali i metode*, *Rezultati i diskusija*, *Zaključak i Literatura*. U radu je predstavljeno 12 tabela, 24 grafika i 25 slika. Poglavlje Literatura sadrži 189 referenci.

Predmet istraživanja i ciljevi rada:

Predmet ovog istraživanja jesu kora i trop cvekle (*Beta vulgaris* L.) uzorkovane sa dva lokaliteta (Nikšić i Mojkovac) na području Crne Gore. Cilj ovog istraživanja je određivanje antioksidativnog potencijala kao i ukupnog sadržaja bioaktivnih materija i to fenola, flavonoida, tanina i betalaina u različitim ekstraktima kore, tropa i iscijeđenog soka vrste *Beta vulgaris* L. Istraživanje sprovedeno

u ovom radu je takođe imalo za cilj utvrditi da li postoje statistički značajne razlike u antioksidativnom potencijalu i sadržaju sekundarnih metabolita uzoraka sa različitih lokaliteta kao i koji od organskih rastvarača je najefikasniji i koja od metoda ekstrakcije je najpogodnija pri izolovanju bioaktivnih komponenti. Rezultati dobijeni u ovom istraživanju potvrđuju visok antioksidativni potencijal cvekle a naročito kore što je u skladu sa opisanom literaturom. Podaci dobijeni prilikom izrade ove master teze mogu predstavljati važnu osnovu za dalje proučavanje metoda ekstrakcije, kao i proučavanje efikasnosti različitih rastvarača.

Materijali i metode rada:

Za potrebe ovog istraživanja uzorak cvekle je sakupljen na dva lokaliteta: na području opština Nikšić i Mojkovac, septembra 2023. godine. Uzorak cvekle je prikupljen sa obradivih njiva/bašti od lokalnih domaćinstava koji cveklu uzgajaju isključivo za potrebe domaćinstva. Sakupljena cvekla je oprana, od korijena su odvojene lisne drške i listovi. Korijen cvekle je oguljen, isjeckan na komadiće i postavljen na sušenje na sobnoj temperaturi. Sok je odvojen od tropa sokovnikom pri čemu je trop dodatno iscijeđen i postavljen na sušenje. Ekstrakti kore i tropa dobijeni su tečno-čvrstim metodama ekstrakcije i to Soxhlet metodom i metodom maceracije. Prilikom ekstrakcije u aparaturi po Soxhlet-u korišćena su dva rastvarača: metanol i etil-acetat, dok su se prilikom maceracije koristila tri rastvarača: etil-acetat, metanol i voda. U ovako dobijenim ekstraktima ukupan sadržaj fenola određen je primjenom Folin-Ciocalteu kolorimetrijske metode prema Singleton i Rossi - u (1965); sadržaj flavonoida registrovan je aluminijum- hlorid kolorimetrijskom metodom prema Shams Ardekani i sar. (2011); sadržaj tanina određen je modifikovanim metodom prema Price i Butler – u (1977) dok je sadržaj betalaina određen dvijema metodama zasnovanim na spektrofotometrijskom mjerenju betacijanina i betaksantina, a zatim njihovom matematičkom proračunu. Antioksidativni potencijal je određen primjenom DPPH testa Shimanda i sar. (1992)., i primjenom FRAP testa prema Benzie i Devaki, (2017). sve analize su urađene i na svježe iscijeđenom soku u cilju detaljnije komparacije rezultata.

Rezultati rada:

Najveći sadržaj ukupnih fenola je registrovan u etil acetatnom ekstraktu kore dobijenim Soxhlet metodom sa lokaliteta Nikšić (70.01 mg GA/g suve materije), a najmanji u vodenom ekstraktu tropa dobijenog metodom maceracije sa lokaliteta Mojkovac (27.97 mg GA/g suve materije).

Najviše vrijednosti flavonoida registrovane su na lokalitetu Mojkovac, a dobijene su etil acetatnom Soxhlet ekstrakcijom kore (88.31 mg QuE/g suve materije). Na lokalitetu Nikšić je registrovan najniži sadržaj flavonoida dobijen etil acetatnom ekstrakcijom tropa metodom maceracije (26.20 mg QuE/g suve materije). Najveći sadržaj tanina izmjeren je u ekstraktu kore pripremljenog metodom Soxhlet i etil acetatom kao rastvaračem (49.27 mg TAE/g suve materije), a najniži u etil acetatnom ekstraktu tropa 7.34 (mg TAE/g suve materije) metodom maceracije. Oba uzorka pripadaju lokalitetu Nikšić. Sadržaj betalaina se kretao u rasponu od 30.8 do 132.825 (mg/L) za betaksantine i od 71.696 do 206.25 (mg/L) za betacijane. Najbolje rezultate betalaina pokazuje kora lokaliteta Nikšić, a najlošiji pripadaju iscijeđenom soku lokaliteta Mojkovac. U sva tri ispitana uzorka (kora, trop i sok) registrovan je veći sadržaj betacijana u odnosu na betaksantine.

Najbolju antioksidativnu aktivnost, ispitivanu DPPH testom, pokazao je etil acetatni ekstrakt kore lokaliteta Mojkovac (Soxhlet metod) i iznosio je IC_{50} vrijednosti 52.98 $\mu\text{g/ml}$. Jako nisku antioksidativnu aktivnost imao je ekstrakt tropa pripremljen metodom maceracije i rastvaračem etil acetatom (IC_{50} vrijednosti 5298.82 $\mu\text{g/ml}$) lokaliteta Nikšić. Koristeći FRAP test utvrđen je najveći antioksidativni potencijal u metanolnom ekstraktu kore (metoda Soxhlet) lokaliteta Nikšić (21. 37 mmol Fe^{2+} /g suve materije), a najmanji u etil acetatnom ekstraktu tropa (metoda maceracije) lokaliteta Mojkovac (3.55 mmol Fe^{2+} /g suve materije).

Sadržaj ukupnih fenola (722.6 mgGA/L soka), flavonoida (698.44 mg QuE/L soka), tanina (336.84 mg TAE/Lsoka), betacijana (185.625 mg/ml) i betaksantina (94.5 mg/ml) je bio značajno veći u iscijeđenom soku lokaliteta Nikšić. Sok sa ovog lokaliteta je imao najveći antioksidativni potencijal (IC_{50} vrijednosti 25 $\mu\text{g/ml}$) izmjeren DPPH testom. FRAP metoda je takođe pokazala veći antioksidativni potencijal soka lokaliteta Nikšić (398.6 mmol Fe^{2+} /L soka).

Veći antioksidativni potencijal određen metodama DPPH i FRAP je pokazala kora u odnosu na trop oba lokaliteta, međutim, najveću antioksidativnu aktivnost imaju cijedeći sokovi i to naročito sok lokaliteta Nikšić. Primjećuje se da su DPPH i FRAP testovi u skladu, kada se radi o antioksidativnom potencijalu iscijeđenih sokova, međutim, to nije slučaj kod antioksidativne aktivnosti različitih ekstrakata. Korelacione analize pokazale su da je FRAP test dao bolje rezultate u određivanju antioksidativnog potencijala u poređenju sa DPPH testom.

Etil acetat se izdvojio kao najefikasniji rastvarač što je utvrđeno i analizom glavnih komponenti koja je pokazala da se metanol i voda većim dijelom preklapaju. Ovom analizom potvrđen je uticaj metode ekstrakcije na sadržaj sekundarnih metabolita vrste *Beta vulgaris* L., a zaključak na osnovu dobijenih rezultata ovog istraživanja jeste da se efikasnijom pokazala Soxhlet metoda. Sadržaj sekundarnih metabolita, a samim tim i antioksidativni potencijal različitih ekstrakata kore i tropa, nijesu imali uočljive pravilnosti kada je u pitanju lokalitet, dok je sok lokaliteta Nikšić imao znatno bolje rezultate.

Rezultati ovog istraživanja mogu dati značajan doprinos u boljem razumijevanju bioloških karakteristika korijena vrste *Beta vulgaris* L. Primijetno je značajno variranje rezultata u zavisnosti od klimatskih faktora, metode ekstrakcije i odabranog rastvarača. U cilju što detaljnije biohemijske karakterizacije vrste *Beta vulgaris* L., a zbog njenih brojnih zdravstvenih i nutritivnih vrijednosti, fokus bi se trebalo staviti na komparaciju različitih sorti ove biljke, kao i na dodatne metode ekstrakcije, a takođe bi se buduća istraživanja mogla usmjeriti i na analizu sadržaja bioaktivnih komponenti i antioksidativne aktivnosti listova koji se najčešće ne koriste u ishrani, a posjeduju potencijalne zdravstvene benefite.

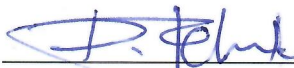
Zaključak i predlog komisije

Nakon pregledanog master rada i analize predstavljenih rezultata, Komisija konstatuje da master rad Nikoline Mijušković pod naslovom „**Ispitivanje antioksidativnog potencijala različitih ekstrakata kore i tropa cvekle (*Beta Vulgaris* L.) sa područja Crne Gore**“ zadovoljava sve kriterijume naučno-istraživačkog rada. Master rad je dobro struktuiran, tema rada je naučno zasnovana i aktuelna, a ciljevi su jasno definisani.

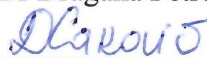
Na osnovu gore navedenog, Komisija predlaže Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta da master rad kandidatkinje Nikoline Mijušković pod naslovom „**Ispitivanje antioksidativnog potencijala različitih ekstrakata kore i tropa cvekle (*Beta Vulgaris* L.) sa područja Crne Gore**“ prihvati i omogući dalju proceduru, odnosno javnu usmenu odbranu.

Podgorica, 2024.

KOMISIJA



Dr Dragana Petrović doc., PMF - mentor



Dr Danka Caković red. prof., PMF - član



Dr Mijat Božović doc., PMF - član