

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

Наставно-научно веће

Предмет: Образложење теме докторске дисертације кандидаткиње Снежане Андрић

Тема: Фитохемијски састав, антиоксидативна и антимикуробна активност меда од багремца (*Amorpha fruticosa* L.)

1. Научна област: Аналитичка хемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет истраживања ове докторске дисертације је одређивање фитохемијског и шећерног профила, физичко-хемијских параметара, вредности односа стабилних изотопа угљеника $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, антиоксидативне и антимикуробне активности меда од багремца. Такође су планирана истраживања која би указала на могуће маркере аутентичности ове ретке врсте меда, односно омогућила успостављање стандарда квалитета меда од багремца.

3. Основне хипотезе

Одређивање биљног порекла меда је веома битна тема са аспекта контроле квалитета и безбедности ове значајне намирнице, односно оцене њене аутентичности. Багремац (*Amorpha fruticosa* L.) је инвазивна биљна врста (Kozuharova, 2017) пореклом из Северне Америке која је све присутнија у Европи као и на територији Србије захваљујући чињеници да може да расте на различитим врстама земљишта. Истовремено багремац представља медоносну биљку нарочито значајну за подручја са влажним земљиштем (обале река и слично). Мед од багремца је још увек ретка, недовољно испитана врста меда, али се због брзог ширења његовог биљног извора може очекивати веће присуство меда од багремца на тржишту. Због тога је битно одредити поуздан параметре за процену аутентичности овог монофлоралног меда, како би била искључена могућност његовог фалсификовања (Wang, 2010a) или употреба као замене за много цењеније и скупље врсте меда. Потенцијални маркери биљног порекла меда су полифеноли, минерали, испарљиве супстанце, нижи шећери и њихови карактеристични односи (Wang i Qing, 2011). Полифеноли у мед доспевају преко нектара, прополиса и полена и њихов садржај у меду зависи од врсте биљака са којих су прикупљени. Такође шећерни профил и односи појединих шећера у меду директно су повезани са врстом медоносне биљке од које потичу (Kaškonienė i Venskutonis, 2010). Поред полифенолног и шећерног профила, за процену

биљног порекла меда се последњих година користе и физичко-хемијски параметри у комбинацији са мултиваријантном анализом података (Lazarević, 2012), садржај минерала (Јоветић,... 2017,. амино-киселина, као и однос стабилних изотопа угљеника (Kropf, 2010a). Како мед од багремца није детаљно испитан, а спорадични литературни наводи указују на његов потенцијал као сортног меда са специфичним биолошким дејством (Jerковић, 2009; Zhu, 2020), од великог је значаја одредити поуздане параметре његовог квалитета као и антиоксидативну и антимикуробну активност.

4. Циљ истраживања и очекивани резултати

Циљ истраживања је успостављање стандарда квалитета меда од багремца и идентификација индикатора његове аутентичности на основу систематске анализе физичко-хемијских параметара, профила шећера, полифенола, макро- и микроелемената, односа стабилних изотопа угљеника као и антиоксидативне и антимикуробне активности. На основу резултата испитивања ова ретка врста меда ће по први пут бити детаљно окарактерисана, биће одређен њен фитохемијски профил и е предложени параметри на основу којих се може оцењивати аутентичност меда од багремца. Очекује се да резултати планираних истраживања допринесу унапређењу аналитичких поступака за откривање лоше праксе фалсификовања медова како додатком шећерних сирупа у мед тако и заменом скупљих медова јефттинијом врстом меда.

У складу са постављеним циљевима, планирана су следећа истраживања:

- Планирана је екстракција полифенола из узорака меда методом чврсто-течне екстракције (SPE) и одређивање полифенолног профила из добијених екстраката применом високоефикасне течне хроматографије спрегнуте са хибридном масеном спектрометријом (UHPLC-MS). Раздвајање и идентификација полифенола који показују антиоксидативна својства извршиће се и високоефикасном танкослојном хроматографијом (HPTLC), док ће се одређивање антиоксидативног капацитета извршити DPPH^{*} тестом. Садржаја укупних фенолних једињења (TPC) биће одређен *Folin-Ciocalteu* тестом. Након наведених испитивања имаћемо комплетан увид у полефенолни профил, антиоксидативни капацитет и укупан садржај фенолних једињења испитиваних узорака. Одређивањем физичко-хемијских параметара доказаћемо исправност испитиваних узорака меда. Анализом стабилних изотопа угљеника ¹³C и шећера по први пут ћемо добити увид у специфичне односе анализираних параметара и евентуалне маркере ботаничког порекла меда од багремца. Биоаутографија комбинована са високоефикасном танкослојном хроматографијом (HPTLC) даће нам визуални приказ антимикуробне активности испитиваних узорака меда од багремца.

5. Методе истраживања

У оквиру ове докторске дисертације биће коришћене следеће методе у складу са циљевима рада:

- метода чврсто-течне екстракције (Solid-Phase Extraction, SPE) за екстракцију полифенола из узорака меда
- ултра-високоефикасна течна хроматографија спрегнута са масеном спектрометријом (Ultra-High-Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry, UHPLC-MS) за одређивање полифенолног профила
- високоефикасна танкослојна хроматографија (High-Performance Thin-Layer Chromatography, HPTLC) за раздвајање и идентификацију полифенола који показују антиоксидативна својства
- DPPH тест за одређивање антиоксидативног капацитета и *Folin-Ciocalteu* тест за одређивање садржаја укупних фенолних једињења (TPC)
- масена спектрометрија стабилних изотопа (Isotope Ratio Mass Spectrometry – IRMS) за одређивање стабилних изотопа угљеника $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
- индуковано спрегнута плазма са оптичко-емисионом спектроскопском детекцијом (ICP-OES) за одређивање елементалног састава
- високоефикасна јонска хроматографија са пулсно-амперометријском детекцијом (HPLC/PAAD) за одређивање шећера
- класичне методе физичкохемијске анализе (рефрактометрија, кондуктометрија, полариметрија, и др.)
-
- високоефикасна течна хроматографија
- биоаутографија са високоефикасном танкослојном хроматографијом за одређивање антимикробне активности

6. Литература

Kozuharova E., Matkowski A., Woźniak D., Simeonova R., Naychov Z., Malainer C., Mocan A., Nabavi S.M., Atanasov A.G. (2017) *Amorphia fruticosa* – A Noxious Invasive Alien Plant in Europe or a Medicinal Plant against Metabolic Disease? A review *Frontiers in Pharmacology* 8, 333.

Wang, J., Kliks, M.M., Jun, S., Jackson, M., Li, Q.X. (2010a). Rapid analysis of glucose, fructose, sucrose, and maltose in honeys from different geographic regions using Fourier

Transform Infrared spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Food Science*, 75, C208-C214.

Wang, J., Qing, X.L. (2011). Chemical Composition, Characterization, and Differentiation of Honey Botanical and Geographical Origins, (Chapter 3), In Taylor, S.L. (Ed.). *Advances in Food and Nutrition Research*, 62, 89-137. Amsterdam, Holland: Elsevier. ISBN: 978-0-12-385989-1.

Kaškonienė, V., Venskutonis, P.R. (2010). Floral Markers in Honey of Various Botanical and Geographic Origins: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 620-634.

Kropf, U., Golob, T., Nečemer, M., Kump, P., Korošec, M., Bertoneclj, J., Ogrinc, N. (2010a). Carbon and nitrogen natural stable isotopes in Slovene honey: adulteration and botanical and geographical aspects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12794-12803.

Lazarević, K., Andrić, F., Trifković, J., Tešić, Ž., Milojković-Opsenica, D. (2012). Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food Chemistry*, 132(4), 2060-2064.

Nalda, M.J.N., Yague, J.L.B., Calva, J.C.D., Gomez, M.T.M. (2005). Classifying honeys from the Soria Province of Spain via multivariate analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382, 311-319.

Jerković I., Marijanović Z., Kezić J., Gugić M. (2009) Headspace, Volatile and Semi-Volatile Organic Compounds Diversity and Radical Scavenging Activity of Ultrasonic Solvent Extracts from *Amorpha fruticosa* Honey Samples. *Molecules*, 14, 2717-2728.

Zhu, M., Zhao, H., Wang, Q., Wu, F., & Cao, W. (2020). A Novel Chinese Honey from *Amorpha fruticosa* L.: Nutritional Composition and Antioxidant Capacity In Vitro. *Molecules*, 25(21), 5211.