

Република Србија - Универзитет у Нишу
FACULTAS MEDICINAE
22. 09. 2015.
06 8923

MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERZITET U NIŠU
Nastavno-naučnom veću, Odboru za doktorske disertacije

Predmet: Izveštaj komisije o izrađenoj doktorskoj disertaciji kandidata dipl.farm – med. biohemičara Bojane Miladinović

Odlukom Nastavnog–naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu, a na predlog odbora za doktorske disertacije prihvaćen je izveštaj mentora prof. dr Dušanke Kitić o izrađenoj doktorskoj disertaciji pod nazivom: "Potencijalna upotreba sokova i ekstrakta biljnih sorti crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) kao funkcionalne hrane".

Tom prilikom je imenovana komisija:

Prof. dr Dušica Stojanović, predsednik
Prof. dr Dušanka Kitić, mentor i član
Prof. dr Suzana Branković, član
Prof. dr Tatjana Mihajilov–Krstev, član sa Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu
Naučni savetnik dr Katarina Šavikin, počasni član sa Instituta za proučavanje bilja „Dr Josif Pančić”

Nakon detaljnog pregleda doktorske disertacije komisija podnosi sledeći:

IZVEŠTAJ

I Opšti podaci

Tema za izradu doktorske disertacije dipl. farm – med. biohemičara Bojane Miladinović je odobrena odlukom Nastavnog-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu održanog 4. 7. 2014. godine. Doktorand Bojana Miladinović obavila je istraživanje u periodu od 2008. do 2013. godine u laboratorijama Katedri za farmaciju, hemiju i fiziologiju i laboratoriji za hromatografiju Naučno-istraživačkog centra za biomedicinu Medicinskog fakulteta i laboratoriji za mikrobiologiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu.

II Odnos izrađene doktorske disertacije prema prijavljenoj i odobrenoj temi

Doktorska disertacija "Potencijalna upotreba sokova i ekstrakta biljnih sorti crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) kao funkcionalne hrane " predstavlja originalan i samostalan istraživački rad iz oblasti Farmacije, Toksikologije i Bromatologije. Naslov doktorske disertacije se u potpunosti podudara sa sadržajem sprovedenog istraživanja. Ciljevi i metodologija su ostali nepromenjeni tokom čitave studije.

Република Србија - Универзитет у Нишу
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ У НИШУ

Примљено: 22. 09. 2015			
Организација	Број	Датум	Место
06	8923		

MEDICINSKI FAKULTET
 UNIVERZITET U NIŠU
 Nastavno-naučnom veću, Odboru za doktorske disertacije

Predmet: Izveštaj komisije o izrađenoj doktorskoj disertaciji kandidata dipl.farm – med. biohemičara Bojane Miladinović

Odlukom Nastavnog–naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu, a na predlog odbora za doktorske disertacije prihvaćen je izveštaj mentora prof. dr Dušanke Kitić o izrađenoj doktorskoj disertaciji pod nazivom: "Potencijalna upotreba sokova i ekstrakta biljnih sorti crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) kao funkcionalne hrane".

Tom prilikom je imenovana komisija:

Prof. dr Dušica Stojanović, predsednik
 Prof. dr Dušanka Kitić, mentor i član
 Prof. dr Suzana Branković, član
 Prof. dr Tatjana Mihajilov–Krstev, član
 Dr Katarina Šavikin, počasni član

Nakon detaljnog pregleda doktorske disertacije komisija podnosi sledeći:

IZVEŠTAJ

I Opšti podaci

Tema za izradu doktorske disertacije dipl. farm – med. biohemičara Bojane Miladinović je odobrena odlukom Nastavnog-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu održanog 4. 7. 2014. godine. Doktorand Bojana Miladinović obavila je istraživanje u periodu od 2008. do 2013. godine u laboratorijama Katedri za farmaciju, hemiju i fiziologiju i laboratoriji za hromatografiju Naučno-istraživačkog centra za biomedicinu Medicinskog fakulteta i laboratoriji za mikrobiologiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu.

II Odnos izrađene doktorske disertacije prema prijavljenoj i odobrenoj temi

Doktorska disertacija "Potencijalna upotreba sokova i ekstrakta biljnih sorti crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) kao funkcionalne hrane " predstavlja originalan i samostalan istraživački rad iz oblasti Farmacije, Toksikologije i Bromatologije. Naslov doktorske disertacije se u potpunosti podudara sa sadržajem sprovedenog istraživanja. Ciljevi i metodologija su ostali nepromenjeni tokom čitave studije.

III Tehnički opis disertacije

Doktorska disertacija je napisana na 207 strana i sastoji se iz sedam poglavlja i tri priloga: uvod i ciljevi istraživanja, opšti deo, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključak i literatura. Disertacija sadrži 30 tabela i 387 slika (320 u priložima).

IV Sadržajna struktura doktorske disertacije

Izrađena doktorska disertacija predstavlja originalan i samostalan naučno-istraživački rad sa jasno predstavljenim ciljevima koji su u skladu sa zadatom temom.

U **Uvodu** je prikazan značaj i svrha pravilne ishrane u savremenom društvu, kao i značaj specifičnih sastojaka hrane, nutritivnih ili nenu nutritivnih, karakterističnih za jagodasto voće, sa akcentom na *Ribes nigrum* L. Crna ribizla (*R. nigrum* L.) je danas jedna od najproučavanijih biljnih vrsta jagodastog voća zbog izuzetno visokog sadržaja polifenla i vitamina C.

U ovom poglavlju utvrđeni su i ciljevi istraživanja: određivanje antioksidativne i antimikrobne aktivnosti, određivanje ukupnih i dominantnih antocijana, ukupnih polifenola i tanina, flavonoida i vitamina C sokova i ekstrakta četiri sorte crne ribizle: Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa. Ispitivanje je obuhvatilo i određivanje biološke aktivnosti u vidu ispitivanja dejstva sokova i ekstrakta na glatku muskulaturu tankog creva pacova, kao i sposobnost da redukuju krvni pritisak i kontrakciju pretkomora srca kunića. Sva četiri ispitivana varijeteta uzgajana su na teritoriji Srbije i sakupljeni u toku tri uzastopne godine (2008-2010), pa je istraživanje obuhvatilo i uticaj agroekoloških faktora na hemijski sastav svake sorte. Pored toga, procenjena je i statistička značajnost između promene sastava sokova i ekstrakta ispitivanih sorti crne ribize i fiziološke aktivnosti usled godišnjih promena temperature vazduha, vlažnosti i količine padavina u periodima cvetanja, rasta i razvoja ploda ribizli.

U **Opštem delu** detaljno su opisana familija Grossulariaceae kojoj pripada biljna vrsta *R. nigrum*, njene morfološke osobine, kao i proučavane sorte *R. nigrum*. Dat je detaljan pregled novije literature o sintezi vitamina C u ribizlama tokom njihovog rasta i sazrevanja, funkcijama i ulogama vitamina C, kao i dejstvu na ljudski organizam. U ovom poglavlju su opisani i sekundarni metaboliti crne ribizle, u koje spadaju polifenoli (tanini, flavonoidi i antocijani), putevi njihove sinteze u biljkama, metabolizam nakon ingestije kao i njihovog ispoljavanja u različitim uslovima životne sredine. U vezi sa sekundarnim metabolitima, dat je i osvrt na antioksidativnu sposobnost koja ova jedinjenja ispoljavaju, kao i antimikrobnu aktivnost. U opštem delu su još opisani mehanizmi delovanja bioaktivnih jedinjenja na inhibiciju kontrakcija tankog creva pacova, kao i dejstvo na kardiovaskularni sistem.

U poglavlju **Materijal i metode** detaljno su opisani biljni materijal i način njegove obrade, kao i metodološki postupci korišćeni pri izradi disertacije. U istraživanju su korišćeni sokovi, etanolni (96, 80 i 70%), metanolni (100, 80 i 70%) i vodeni ekstrakti. Kvantitativno su određeni sadržaji vitamin C, ukupnih polifenola, tanina, dominantnih klasa antocijana i flavonoida. Antioksidativna aktivnost sokova i ekstrakta je ispitana putem dve metode – prvi je DPPH-metod, koji se zasniva na neutralizaciji slobodnih radikala, a druga je inhibicija lipidne peroksidacije u emulziji β -karoten/linolna kiselina, koji se zasniva na zaustavljanju lančane reakcije i posledičnom sprečavanju obezbojenja β -karotena. Mikrodilucionom metodom je proverena antimikrobna aktivnost svih sokova i ekstrakta na tri soja Gram (-), tri soja Gram (+)

bakterija i dve vrste gljivica. Ispitivano je i relaksantno dejstvo sokova i ekstrakta na spontane kontrakcije tankog creva pacova Wistar soja, kao i kontrakcije indukovane KCl i acetilholinom. Proučavano je i dejstvo sokova na krvni pritisak i frekvenciju srčanog rada kunića, injektovanjem rastvorenog uzorka u marginalnu ušnu venu kunića i praćenjem ponašanja pritiska preko fiziograma. Sve eksperimentalne procedure vršene su u skladu sa Evropskom Direktivom 2010/63/EU za eksperimente na životinjama, uz odobrenje Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu (rešenje broj 01-206-7).

Rezultati istraživanja detaljno su prikazani tabelarno i grafički. Dobijeni rezultati su pokazali da postoji statistički značajna razlika u skoro svim ispitivanim parametrima istih sorti između godina. Najveći sadržaj ukupnog vitamina C imao je sok sorte Tenah iz 2010. godine kao i etanolni ekstrakt sorte Tenah iz iste godine. Sok Omete iz 2010. godine je najbogatiji u sadržaju polifenola. Najveći sadržaj ukupnih antocijana nalazi se u soku sorte Tenah iz 2008. godine. Delfinidin-3-*O*-rutenozyd (D3R) je dominantan antocijan u sortama Triton, Tenah i Ben Sarek u sve tri godine, i Omete u 2010. Cijanidin-3-*O*-rutinozyd (C3R) je drugi antocijan po količini zastupljen kod sorti Triton, Tenah i Ben Sarek. Cijanidin-3-*O*-glukozid (C3G) je detektovan u najmanjoj količini u uzorcima sve 4 sorte. Najzastupljeniji flavonoid u svim uzorcima je miricetin, a 2008. je godina u kojoj je određen njihov najveći sadržaj. Čist etanol se pokazao kao najbolje ekstrakciono sredstvo flavonoida. Ne postoji značajna razlika u sadržaju flavonoida ekstrahovanih etanolom, 80% i 70% etanolom. Najveći sadržaj miricetina sadrži sok sorte Triton iz 2008, njegov etanolni i 80% etanolni ekstrakt. Najbolju antioksidativnu aktivnost određenu uz DPPH-radikal i izraženu preko IC₅₀ vrednosti, pokazali su sokovi sorte Ometa iz 2008. i 2009. godine, kao i sok sorte Tenah iz 2009. godine. Sok sorte Ometa iz 2009. godine je imao najbolju vrednost inhibicije lipidne peroksidacije u emulziji β -karoten/linolna kiselina. Ispitivani sokovi i ekstrakti pokazali su antimikrobnu aktivnost ka različitim alimentarnim i patogenim mikroorganizmima. Nije bilo značajne razlike u dejstvu prema Gram (+) i Gram (-) bakterijama. Fungalni soj *A. niger* je pokazao najveću rezistentnost i prema sokovima i prema ekstraktima, dok je *C. albicans* bila osetljivija na dejstvo sokova ispitivanih sorti. Najosetljiviji sojevi su bili *L. monocytogenes* i *P. aeruginosa*. Rezultati *in vitro* ispitivanja pokazali su da sokovi i ekstrakti crne ribizle ispoljavaju relaksantno dejstvo na spontane kontrakcije tankog creva pacova, kao i kontrakcije indukovane KCl i acetilholinom. Od ekstrakta je najbolje relaksantno dejstvo pokazao vodeni ekstrakt sorte Ometa iz 2010. godine, dok je od sokova je najbolje delovao Ben Sarek iz 2010. godine. Vodeni ekstrakt Tritona iz 2008. godine pokazao je najbolji efekat na crevu prekontrahovanom 80 mM KCl. Kod sokova je najbolji efekat pokazao sok sorte Tenah iz 2010. godine. Najbolju inhibiciju kontrakcija indukovanih acetilholinom ispoljio je vodeni ekstrakt Tenaha iz 2009. godine, a od sokova Ben Sarek iz 2010. godine. Intravenska primena sokova crnih ribizli Tenah, Ben Sarek, Ometa i Triton, dovela je do sniženja srednjeg arterijskog krvnog pritiska i frekvencije srčanog rada kod anesteziranih kunića. Najbolje se pokazao sok Ben Sareka iz 2009. i 2010. godine

U poglavlju **Diskusija** detaljno su analizirani rezultati sprovedene studije i upoređeni sa nalazima drugih autora. Ispitivanja sokova i ekstrakta plodova sorti crnih ribizli (*Ribes nigrum* L.) Ben Sarek, Ometa, Triton i Tenah pokazala su da se svaka sorta razlikuje od ostalih po hemijskom sastavu i biološkim aktivnostima koje pokazuje. Dosadašnja istraživanja su pokazala da su crne ribizle bogat izvor vitamin i sekundarnih proizvoda metabolizma, čija se sinteza odvija kao odgovor na uslove spoljašnje sredine. Kako su sorte Triton, Tenah, Ben Sarek i Ometa strane sorte, koje su relativno skoro introdukovane na naše prostore, još uvek je aktuelno njihovo


proučavanje kao i ponašanje u našim klimatskim uslovima. Na osnovu analize rezultata obavljenog istraživanja može se reći da sve četiri sorte crne ribizle ispoljavaju dobru antioksidativnu, relaksantnu i hipotenzivnu aktivnost, s tim da se preporučuje upotreba i dalje ispitivanje pre svega sorti Ben Sarek i Ometa.

U šestom poglavlju su kroz 17 tačaka jasno i koncizno izneti **Zaključci** sprovedenog istraživanja, na osnovu kojih se vidi da sokovi i ekstrakti crne ribizle sorti Triton, Tenah, Ben Sarek i Ometa ispoljavaju dobru antioksidativnu i biološku aktivnost i da se mogu koristiti za unapređenje zdravlja i prevenciju bolesti kod ljudi, kao i za poboljšanje funkcionalnih karakteristika odgovarajućih proizvoda. Pored funkcionalnog dejstva, mogu se izvući značajne smernice za selekciju sirovina i mesta za sadnju (proizvodnju, uzgoj) crnih ribizli za dalju komercijalnu upotrebu.


U sedmom poglavlju je navedena **Literatura** korišćena u izradi disertacije koja sadrži 247 naslova sa visokim udelom literature novijeg datuma.


Zbog svega navedenog Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu da usvoji pozitivnu ocenu izrađene doktorske disertacije i da odobri dipl.farm-med. biohemičaru Bojani Miladinović javnu odbranu.


Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:

Prof. dr Dušica Stojanović, predsednik


Prof. dr Dušanka Kitić, mentor i član


Prof. dr Suzana Branković, član


Prof. dr Tatjana Mihajilov-Krstev, član


Dr Katarina Šavikin, počasni član


U Nišu, 22.09.2015. godine

Na osnovu iznetih podataka Komisija donosi sledeći

ZAKLJUČAK

Doktorska disertacija Bojane Miladinović pod naslovom "Potencijalna upotreba sokova i ekstrakta biljnih sorti crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) kao funkcionalne hrane" izrađena je prema savremenim principima naučno-istraživačkog rada i predstavlja aktuelan i naučno zasnovan rad. Kandidat je pokazao sposobnost za koncipiranje istraživanja, adekvatno korišćenje metodologije rada i literature, kao i sposobnost za interpretaciju dobijenih rezultata. Radne hipoteze su jasne, a predloženi ciljevi su adekvatno postavljeni radi provere hipoteza, a korišćenjem najsavremenije metodologije dobijeni su korisni i primenljivi rezultati. Doktorska disertacije Bojane Miladinović predstavlja originalni naučni rad iz oblasti Farmacije, Toksikologije i Bromatologije, sa jasnim osvrtom na mogućnost i značaj upotrebe sokova i ekstrakta četiri sorte crnih ribizli – Tenah, Triton, Ben Sarek i Ometa, kao funkcionalne hrane. Zaključci su formulisani tako da daju jasne odgovore na postavljene ciljeve istraživanja.

Doprinos doktorske disertacije:

Potencijalna upotreba sokova i ekstrakta biljnih sorti crne ribizle (*Ribes nigrum* L.) kao funkcionalne hrane

Disertacija je zasnovana na originalnim rezultatima naučno - istraživačkog rada, koji su publikovani i prihvaćeni od strane stručne naučne javnosti. Naučni doprinos se zasniva na hemijskom, mikrobiološkom i biološkom dejstvu, koji su sokovi i ekstrakti ispoljili ispitivanim metodama. Rezultati sprovedenog istraživanja ukazuju da su sokovi i ekstrakti ispoljili odličnu antioksidativnu, spazmolitičku i hipotenzivnu aktivnost, te se kao takvi, ili u obliku preparata preporučuju se za dalju upotrebu u farmaceutskoj, kozmetičkoj i industriji hrane.

Contribution of the doctoral dissertation:

Potential use of black currants (*Ribes nigrum* L.) juices and extracts as functional food

The dissertation is based on original scientific research results, which are published and accepted by the professional scientific community. The scientific contribution is based on chemical, microbial and biologic potential that black currants (*Ribes nigrum* L.) juices and extracts exhibited in applied tests. The research results showed good antioxidative, relaxant and hypotensive effect of juices and extracts as such, or in the form of the preparation, are recommended for further use in pharmaceutical, cosmetic and food industries.

Autorski radovi doktoranta Bojane Miladinović sa SCI iz teme doktorske disertacije – 1 rad

2014-2015, 2015