

ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ETANOLNIH EKSTRAKATA *SOLANUM RETROFLEXUM*

D. Mančić¹, D. Veličković², I. Karabegović¹, N. Nikolić¹, S. Stojičević¹, M. Lazić¹

Izvod: Rad se bavi ispitivanjem antioksidativne aktivnosti etanolnih ekstrakata ploda biljke *Solanum retroflexum* Dun. Ekstrakti su dobijeni tehnikama klasične i Soxhlet ekstrakcije. Potencijalna antioksidativna aktivnost je ispitana FRAP i DPPH metodama. Rezultati su pokazali da ekstrakt dobijen klasičnom ekstrakcijom sa 75% rastvorom etanola na 60°C i za vreme 45 minuta, ima najveću antioksidativnu aktivnost ($EC_{50} = 60,67 \mu\text{g/ml}$, $1,55 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{mg}$), kao i da postoji dobra korelacija rezultata dobijenih obema metodama u slučaju svih analiziranih ekstrakata.

Ključne reči: *Solanum retroflexum*, ekstrakcija, antioksidativna aktivnost, DPPH, FRAP

Uvod

Poznato je da stabilnost metabolizma tj. zdravlje organizma značajno zavisi od kvaliteta ishrane i od unosa bitnih mikronutrijenata. Jedan od najznačajnijih procesa koji se odvija u hrani je oksidacija koja dovodi do narušavanja njenog kvaliteta, odnosno kvarenja (Prakash i sar., 2011). Primena antioksidanasa, naročito prirodnog porekla, ima značajan uticaj na usporavanje procesa oksidacije i prevenciju raznih oboljenja (Halliwell i Gutteridge, 1989). Njihovo delovanje se zasniva na sposobnosti da deluju kao „hvatači“ slobodnih radikala, doniraju elektrone, kompleksiraju jone metala, inhibiraju neke enzime (Čanadanović-Brunet, 1998).

Voće, povrće, začinsko i lekovito bilje, žitarice i druge namirnice biljnog porekla, kao i njihovi ekstrakti, sadrže prirodne antioksidanse (polifenolna jedinjenja, vitamine, terpene), što potvrđuju dosadašnja istraživanja (Dorman i sar., 2004). Bobičasto voće je izuzetno bogato šećerom, kiselinama, vitaminima, mineralima, biljnim vlaknima i mnogim bioflavonoidima. Među deset vrsta bobičastog voća sa najvećim sadržajem antioksidanasa su borovnica, aronija, brusnica, ribizla, kupina, jagoda i višnja (Lehmann, 1990).

Malo dostupni podaci o biljnoj vrsti *Solanum retroflexum* Dun. (sunberri, wonderberri, engl.), stari naziv *Solanum × burbankii*, ukazuju da je hibridnog porekla (hibrid je *S. villosum* i *S. guineense*), poreklom iz Afrike. Ova jednogodišnja žbunasta biljka, smatrana korovom, daje tamno-plavo-ljubičasto do crne plodove prečnika od 6 do 8 mm (Hyde i sar., 2014).

Ovo ispitivanje je rađeno sa ciljem da se odredi antioksidativni kapacitet ploda biljne vrste *Solanum retroflexum* Dun. Detaljna proučavanja ekstrakata ove biljne vrste

¹ Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu, Bulevar oslobođenja 124, 16000 Leskovac, Srbija (dmancic.tfl@gmail.com)

² Visoka poljoprivredno-prehrambena škola strukovnih studija, Ćirila i Metodija 1, 18400 Prokuplje, Srbija (dvelickovic7@ptt.rs)

omogućavaju procenu njenog značaja kao potencijalnog izvora bioaktivnih jedinjenja i prirodnih antioksidanasa.

Materijal i metode rada

Biljni material

U eksperimentalnom delu korišćen je svež zreo plod *S. retroflexum* Dun. sakupljen u okolini sela Voljčinac (Toplički okrug) septembra 2013. god.

Ekstrakcija

Samleven plod podvrgnut je klasičnoj i Soxhlet ekstrakciji, sa vodenim rastvorima etanola (25, 50 i 75% v/v) kao rastvaračem i pri odnosu biljni material : rastvarač 1:10 (m/v).

Klasična ekstrakcija je vršena na tri temperature (20, 40 i 60°C), u trajanju od 15, 30 i 45 minuta. Nakon ekstrakcije tečni ekstrakti su odvajani od iscrpljenog biljnog materijala vakuum filtracijom na Büchner-ovom levku, prebačeni u bočice i čuvani u frižideru na +4°C do daljih analiza.

Soxhlet ekstrakcija je vršena u Soxhlet aparaturi sa po 25 g biljnog materijala i sve tri koncentracije vodenog rastvora etanola (250 mL). Ekstrakcija je trajala 160 minuta (11 ciklusa). Dobijeni ekstrakti su čuvani u frižideru na +4°C do daljih analiza.

Antioksidativna aktivnost

Antioksidativna aktivnost je određena DPPH i FRAP testom (Stanisavljević i sar., 2012).

Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti etanolnih ekstrakata ploda *S. retroflexum* ukazuju da su plodovi ove biljne vrste bogati jedinjenjima koja poseduju antioksidativnu aktivnost (Tabela 1.). Procenat neutralisanja DPPH radikala iskazan je vrednošću EC_{50} , odnosno efektivnom koncentracijom ekstrakta koja je potrebna za neutralizaciju 50 % DPPH radikala. Uveden je pojam antiradikalske aktivnosti A_{AE} , koja predstavlja recipročnu vrednost efektivne koncentracije EC_{50} određene DPPH testom, gde je veća vrednost A_{AE} pokazatelj veće antioksidativne aktivnosti. Dobra korelacija ($R^2 = 0,925$) između vrednosti antioksidativnih aktivnosti određenih DPPH i FRAP tehnikama pokazana je u slučajevima ekstrakata plodova *Solanum retroflexum* dobijenih pod različitim operativnim uslovima.

Utvrđeno je da u se slučaju klasične ekstrakcije, nezavisno od primenjenog rastvarača, sa povećanjem temperature i vremena ekstrakcije dobija ekstrakt sa većom antiradikalskom aktivnošću.

Tabela 1. Antioksidativna aktivnost ekstrakata plodova *Solanum retroflexum* dobijenih pod različitim operativnim uslovima određena DPPH i FRAP testom

Table 1. Antioxidant activity of *Solanum retroflexum* fruit extracts obtained under different operational conditions determined by DPPH and FRAP assay

Klasična ekstrakcija - Classical extraction											Soxhlet
25% EtOH											
20 °C			40 °C			60 °C			Tk*		
		15 min	30 min	45 min	15 min	30 min	45 min	15 min	30 min	45 min	160 min
DPPH	EC ₅₀ , µg/mL	91,99±1,32	86,50±1,19	82,57±1,38	89,44±1,18	83,05±1,13	73,74±0,91	78,98±0,94	70,97±1,02	66,88±1,03	67,89±0,85
	A _{AE} , mL/mg	10,87±0,45	11,56±0,92	12,11±0,78	11,18±0,07	12,04±0,95	13,56±0,98	12,66±0,41	14,09±0,48	14,95±0,69	14,73±0,98
FRAP	µmol Fe ²⁺ /mg	1,12±0,07	1,19±0,13	1,22±0,23	1,15±0,08	1,24±0,05	1,29±0,11	1,23±0,09	1,32±0,05	1,41±0,02	1,51±0,05
50% EtOH											
20 °C			40 °C			60 °C			Tk		
		15 min	30 min	45 min	15 min	30 min	45 min	15 min	30 min	45 min	160 min
DPPH	EC ₅₀ , µg/mL	86,65±1,11	80,51±0,53	76,45±0,96	80,38±1,05	73,26±1,07	71,17±0,89	73,74±0,31	68,07±0,52	65,10±0,41	66,27±0,96
	A _{AE} , mL/mg	11,54±0,29	12,42±0,02	13,08±0,32	12,44±0,02	13,65±0,45	14,05±0,05	13,56±0,81	14,69±0,63	15,36±0,12	15,09±0,69
FRAP	µmol Fe ²⁺ /mg	1,08±0,09	1,19±0,02	1,31±0,06	1,25±0,04	1,32±0,01	1,39±0,07	1,36±0,036	1,39±0,039	1,49±0,028	1,52±0,09
75% EtOH											
20 °C			40 °C			60 °C			Tk		
		15 min	30 min	45 min	15 min	30 min	45 min	15 min	30 min	45 min	160 min
DPPH	EC ₅₀ , µg/mL	82,44±1,23	75,47±1,17	71,22±1,07	74,40±0,62	71,27±0,84	66,40±1,06	68,82±1,12	65,14±1,08	60,67±0,96	61,87±0,93
	A _{AE} , mL/mg	12,13±0,33	13,25±0,37	14,04±0,52	13,44±0,36	14,03±0,28	15,06±0,37	14,53±0,62	15,35±0,37	16,48±0,32	16,16±0,66
FRAP	µmol Fe ²⁺ /mg	1,18±0,08	1,29±0,07	1,33±0,07	1,31±0,50	1,37±0,36	1,48±0,58	1,42±0,74	1,54±0,65	1,55±0,35	1,54±0,04

*Tk – temperatura ključanja Tk – Boiling temperature

Povećanjem udela etanola u ekstrakcionom sistemu povećava se antioksidativna aktivnost dobijenih ekstrakata. Veći sadržaj etanola u smeši omogućava i ekstrakciju nepolarnih komponenti (npr. etarska ulja), pa su ekstrakti dobijeni primenom navedenog ekstragensa u pogledu hemijskih i senzornih karakteristika kompletniji (Nađalin, 2013). Vodeni rastvori etanola odabrani su za ekstrakciju zbog niske toksičnosti, visokih prinosa i ekonomičnosti, kao i moguće dalje primena ovako dobijenih ekstrakata u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji (Dai i Mumper, 2010).

Na osnovu dobijenih rezultata očigledno je da ekstrakt ploda *S. retroflexum* dobijen klasičnom ekstrakcijom sa 75% rastvorom etanola na 60°C i za vreme 45 minuta, ima najveću antioksidativnu aktivnost u odnosu na ostale ekstrakte ($EC_{50} = 60,67 \mu\text{g/mL}$, $1,55 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{mg}$; određeno DPPH i FRAP testovima respektivno). Studentovim t-testom utvrđeno je da razlika između antioksidativne aktivnosti u ovom slučaju i ekstrakata dobijenog primenom Soxhlet ekstrakcije sa istim rastvaračem ($EC_{50} = 61,87 \mu\text{g/mL}$, $1,54 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{mg}$; respektivno) nije statistički značajna ($p < 0,05$). Pri odabiru ekstrakcionih uslova koji daju ekstrakt sa najvećom antioksidativnom aktivnošću prednost je data klasičnoj metodi ekstrakcije koja u odnosu na Soxhlet ekstrakciju traje 3,5 puta kraće.

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da plod *S. retroflexum* sadrži supstance sa antioksidativnim kapacitetom. Izbor ekstrakcionih uslova, pre svega vreme trajanja, temperatura, rastvarač i tip ekstrakcije, značajno utiču na antioksidativnu aktivnost. Uzimajući ovo u obzir, kao najaktivniji po antioksidativnoj moći ističe se ekstrakt dobijen sa 75% rastvorom etanola na 60°C i za vreme 45 minuta.

Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Prirodni proizvodi biljaka i lišajeva: izolovanje, identifikacija, biološka aktivnost i primena“ br. 172047, koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Literatura

- Čanadanović-Brunet J.M. (1998). Kiseonikovi slobodni radikali i prirodni antioksidanti. Zadužbina Andrejević. Beograd.
- Dai J., Mumper R.J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 15: 7313-7352.
- Dorman H.J.D., Bachmayer O., Kosar M., Hiltunen R. (2004). Antioxidant Properties of Aqueous Extracts from Selected Lamiaceae Species Grown in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 762-770.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1989). *Free radicals in Biology and Medicine*, Oxford. Clarendon Press.

- Lehmann H. (1990). Die Aroniabeere und ihre Verarbeitung. Flüssiges Obst. 57: 746-752.
- Nadalin V. (2013). Ispitivanje ekstrakcije i ekstraktata gajene lavande (*Lavandula officinalis* L.). Doktorska disertacija. Novi Sad.
- Prakash B., Shukla R., Singh P., Mishra P.K., Dubey N.K., Kharwar R.N. (2011). Efficacy of chemically characterized *Ocimum gratissimum* L. essential oil as an antioxidant and a safe plant based antimicrobial against fungal and aflatoxin B1 contamination of spices. Food Research International. 44(1): 385-390.
- Stanisavljević D.M., Stojičević S.S., Dorđević S.M., Zlatković B.P., Veličković D.T., Karabegović I.T., Lazić M.L. (2012). Antioxidant activity, the content of total phenols and flavonoids in the ethanol extracts of *Mentha longifolia* (L.) Hudson dried by the use of different techniques. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly. 18 (3): 411-420.
- Hyde M.A., Wursten B.T., Ballings P., Coates Palgrave M. (2014). Flora of Zimbabwe: Species information: *Solanum retroflexum*. Dostupno: 31 January 2014, <http://apps.kew.org/efloras/namedetail.do?flora=fz&taxon=11428&nameid=28962>

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACTS FROM *SOLANUM RETROFLEXUM* FRUITS

D. Mančić¹, D. Veličković², I. Karabegović¹, N. Nikolić¹, S. Stojičević¹, M. Lazić¹

Abstract

In this paper the antioxidant activity of ethanolic extracts from *Solanum retroflexum* Dun fruits were investigated. The extracts were obtained by classical technique and by Soxhlet extraction. In order to investigate the possibilities of future utilization of *Solanum retroflexum* fruits, the antioxidant activity, by FRAP and DPPH method was determined. Results showed the extract obtained by 75% ethanol and classic extraction during 45 minutes at 60°C, had the highest antioxidant activity, both for DPPH and FRAP method (EC₅₀ was 60,67 µg/mL and 1,55 µmol Fe²⁺/mg, respectively). There was good correlation of results for antioxidant activity obtained by both methods and for all analyzed extracts.

Key words: *Solanum retroflexum*, extraction, antioxidant activity, DPPH, FRAP

¹ Faculty of Technology, University of Niš, Bulevar oslobođenja 124, 16000 Leskovac, Serbia (dmancic.tfl@gmail.com)

² College of Agriculture and Food Technology, Ćirila i Metodija 1, 18400 Prokuplje, Serbia (dvelickovic7@ptt.rs)