

UNIVERZITET U BEOGRADU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Jasmina R. Rajić

**ANTIOKSIDATIVNOST  
BEZALKOHOLNIH PIĆA NA BAZI  
VOĆNIH SOKOVA I EKSTRAKATA  
LEKOVITOG I AROMATIČNOG BILJA**

doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Jasmina R. Rajić

**ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF NON-  
ALCOHOLIC BEVERAGES BASED ON  
FRUIT JUICES AND EXTRACTS OF  
MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018.

Mentor: dr Tanja Petrović, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije: dr Sofija Đorđević, viši naučni saradnik  
Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif  
Pančić“, Beograd

dr Predrag Vukosavljević, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

dr Mirjana Pešić, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

dr Branislav Zlatković, redovni profesor u penziji  
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

Datum odbrane:

## **Zahvalnica**

*Dragom i uvaženom mentoru **dr Tanji Petrović**, vanrednom profesoru iskreno se zahvaljujem na dugogodišnjoj saradnji, velikoj pomoći, korisnim stručnim savetima, idejama i konstruktivnim sugestijama, razumevanju, strpljenju i prijateljstvu.*

*Posebno se zahvaljujem **dr Sofiji Đorđević**, višem naučnom saradniku Instituta za proučavanje lekovitog bilja “Dr Josif Pančić” koja je svojim učešćem i sugestijama dala značajan doprinos kao da je komentor doktorske disertacije. Zahvaljujem se na svesrdnom angažovanju prilikom izrade disertacije, od početka do kraja.*

***Dr Predragu Vukosavljeviću**, vanrednom profesoru se zahvaljujem na ukaznoj pomoći i stručnim smernicama tokom osmišljavanja i izrade disertacije.*

***Dr Branislavu Zlatkoviću**, cenjenom redovnom profesoru u penziji se zahvaljujem na stručnoj pomoći i korisnim sugestijama svih ovih godina.*

***Dr Mirjani Pešić**, vanrednom profesoru, srdačno se zahvaljujem na svesrdnoj pomoći u finalizaciji ove disertacije, na ekspeditivnosti i korisnim stručnim savetima.*

***Dr Branki Bukvić**, profesoru u penziji, mom prvobitnom mentoru, dugujem duboku zahvalnost na prenetom znanju, pomoći u osmišljavanju teme doktorske disertacije i uvođenju u svet voća i voćnih sokova, na strpljenju i izdvojenom vremenu.*

***Dr Viktoru Nedoviću**, redovnom profesoru, dugujem veliku zahvalnost za pomoć tokom doktorskih studija, prilikom odabira teme i realizacije eksperimenta.*

***Dr Veletu Teševiću**, vanrednom profesoru Hemijskog fakulteta u Beogradu i njegovim saradnicama **Nedi** i **Marijani** zahvaljujem se na pomoći i stručnim savetima.*

*Dragoj **dr Dragani Paunović**, docentu, zahvaljujem se na svesrdnoj pomoći, korisnim sugestijama i prijateljstvu tokom doktorskih studija.*

***Dr Idi Leskošek Čukalović**, redovnom profesoru u penziji, dugujem zahvalnost na pruženoj pomoći tokom doktorskih studija i korisnim sugestijama.*

***Dr Jasni Mastilović**, naučnom savetniku Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, srdačno se zahvaljujem na saradnji tokom proteklih godina.*

***Svim profesorima, saradnicima i kolegama Katedre za konzervisanje i vrenje** zahvaljujem se na pomoći, stručnim savetima, kolegijalnosti i druženju tokom izrade ove disertacije.*

*Takođe se zahvaljujem svima koji su na bilo koji način doprineli finalizaciji ove disertacije.*

*Najiskrenije se zahvaljujem **mojim porodicama Danilović i Rajić**, bez čije podrške i pomoći ne bih mogla da istrajem u ovoj disertaciji.*

*Neizmernu zahvalnost dugujem **majci Mirjani, ocu Radomiru i bratu Dejanu** za bezrezervnu ljubav, dragocenu podršku, pomoć i životni oslonac. Veliko hvala za strpljenje, toleranciju i brojna odricanja.*

*Posebnu zahvalnost iskazujem **suprugu Radenku** na pruženoj ljubavi, pažnji, razumevanju, moralnoj podršci, nesebičnoj pomoći, strpljenju i toleranciji svih ovih godina.*

*Najveću zahvalnost i beskrajnu ljubav dugujem **mojim dragim sinovima Viktoru i Aleksi**, koji su moj životni podsticaj i bez kojih sve ovo ne bi imalo smisla. Hvala vam za pruženu nesebičnu ljubav i razumevanje.*

*U znak neizmerne ljubavi i neprocenjive zahvalnosti disertaciju posvećujem*  
***mojim sinovima, Viktoru i Aleksi***

*Autor*

Ova disertacija predstavlja deo istraživanja u okviru projekta III 46001 „Razvoj i primena novih i tradicionalnih tehnologija u proizvodnji konkurentnih prehrambenih proizvoda sa dodatom vrednošću za evropsko i svetsko tržište- STVORIMO BOGATSTVO IZ BOGATSTVA SRBIJE“, finansiranog od Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj, Republike Srbije.

# **Antioksidativnost bezalkoholnih pića na bazi voćnih sokova i ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja**

## *Rezime*

Glavni cilj istraživanja bio je proizvodnja bezalkoholnih pića na bazi jagodastog i koštičavog voća i lekovitog i aromatičnog bilja, sa visokim antioksidativnim kapacitetom i potencijalno fiziološki povoljnim delovanjem na ubrzanje metabolizma (što dovodi do smanjenja telesne težine), zaštitu kardiovaskularnog sistema i jačanje otpornosti organizma. Primenom tri različita tehnološka postupka proizvodnje proizvedeni su mutni voćni sokovi jagode, maline, kupine, višnje, borovnice, crvene i crne ribizle. Sadržaj različitih klasa polifenolnih jedinjenja, polifenolni profili i antioksidativni kapacitet ispitivanih uzoraka određeni su primenom različitih spektrofotometrijskih metoda i LC/MS analizom. Najviši antioksidativni kapacitet zabeležen je kod dobijenih sokova crne ribizle i borovnice. Postupak enzimiranja na povišenoj temperaturi uslovio je značajno povećanje antioksidativnosti voćnih sokova. Pasterizovani enzimirani sokovi pokazali su značajno višu antioksidativnost u odnosu na sokove od istog voća, dobijenih ceđenjem bez enzimskog tretmana.

Mešanjem voćnih sokova i biljnih ekstrakata, sa ciljanim zdravstvenim efektima, dobijeni su finalni uzorci bezalkoholnih pića, koji su pokazali izuzetno visoke vrednosti antioksidativnog kapaciteta i ostalih ispitivanih parametara kvaliteta. Dobijene vrednosti pokazale su statistički značajan uticaj dodatih biljnih ekstrakata na sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativnost u finalnim bezalkoholnim pićima, koji su bili bogati u sadržaju kvercetina, miricetina, rutina i hlorogenske kiseline.

Senzornom analizom finalnih bezalkoholnih pića, uzorak sa potencijalno povoljnim dejstvom na ubrzanje metabolizma, koje dovodi do redukcije telesne težine, dobijen od enzimiranih sokova, najbolje je ocenjen, sa ukupnom ocenom 94% od maksimalno mogućeg kvaliteta.

***Ključne reči:** bezalkoholna pića, voćni sokovi, biljni ekstrakti, enzimiranje, pasterizacija, antioksidativni kapacitet*

**Naučna oblast:** Tehnološko inženjerstvo

**Uža naučna oblast:** Nauka o konzervisanju

**UDK:** 66.094.3.097.8 : 663.81/.88(043.3)

# **Antioxidative properties of non-alcoholic beverages based on fruit juices and extracts of medicinal and aromatic plants**

## *Summary*

The main purpose of the research was the production of non-alcoholic beverages based on berry and drupe and medicinal and aromatic plants, with high antioxidant capacity and potentially favourable physiological effect on the boosting of metabolism (resulting in reduction of weight), protection of cardiovascular system and strengthening the immunity of the body. Using three different technological methods, cloudy fruit juices of strawberry, raspberries, blackberries, cherries, blueberries, red and black currants were produced. The contents of various classes of polyphenol compounds, polyphenol profiles and antioxidant capacity of the examined samples were analyzed using different spectrophotometric methods and LC/MS analysis. The highest antioxidant capacity was found in the produced juices of black current and blueberry. The enzymatic treatment at elevated temperature resulted in the significant increase of antioxidativity of the fruit juices. Pasteurized and enzyme-treated juices showed significantly higher antioxidant capacity compared to the cold pressed juice samples of the same fruit.

Mixing produced fruit juices and herbal extracts, with selected health effects, resulted in the final samples of non-alcoholic beverages which showed exceptionally high values of antioxidant capacity and other tested quality parameters. The obtained values showed statistically substantial impact of the added herbal extracts on contents of phenolic compounds and the antioxidant capacity in the produced non-alcoholic drinks, rich in quercetin, myricetin, rutin and chlorogenic acid.

Using sensory evaluation of the final product, the sample with potentially favourable effect on the boosting of metabolism, resulting in the reduction of weight, made of enzyme-treated juices, was the best rated, with 94% overall score out of maximum possible quality.

***Keywords:** non-alcobolic beverages, fruit juices, herbal extracts, enzyme-treatment, pasteurization, antioxidant capacity.*

**Scientific field:** Technological engineering

**Special scientific field:** Preservation science

**UDK:** 66.094.3.097.8 : 663.81/.88(043.3)

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DEO.....	4
2.1. Pojam i značaj funkcionalne hrane.....	4
2.2. Voće kao bogat izvor bioaktivnih materija.....	5
2.2.1. Jagoda.....	6
2.2.2. Malina.....	8
2.2.3. Kupina.....	9
2.2.4. Borovnica.....	11
2.2.5. Višnja.....	12
2.2.6. Crvena ribizla.....	14
2.2.7. Crna ribizla.....	15
2.3. Tehnološki postupak proizvodnje voćnih sokova.....	17
2.3.1. Proizvodnja voćnog soka bez enzimskog i toplotnog tretmana ...	19
2.3.2. Proizvodnja voćnog soka sa enzimskim tretmanom.....	19
2.3.3. Voćni sok jabuke.....	23
2.4. Lekovite i aromatične biljke.....	24
2.4.1. Ehinacea.....	25
2.4.2. Kamilica.....	26
2.4.3. Zova.....	27
2.4.4. Kopriva.....	28
2.4.5. Šipurak.....	29
2.4.6. Matičnjak.....	30
2.4.7. Aronija.....	31
2.4.8. Rastavić.....	32
2.4.9. Heljda.....	33
2.4.10. Japanski bagrem.....	34
2.4.11. Srdačica.....	35
2.4.12. Grčko seme.....	36
2.4.13. Trava iva.....	37
2.4.14. Majkina dušica.....	38



2.5. Izrada biljnih ekstraktivnih izolata.....	39
2.5.1. Prikupljanje i sušenje lekovitog i aromatičnog bilja.....	39
2.5.2. Ekstrakcija lekovitog i aromatičnog bilja.....	39
2.6. Aromatične materije u lekovitim biljkama i voću.....	40
2.7. Aktivne materije lekovitih i aromatičnih biljaka.....	41
2.8. Farmakološka delovanja aktivnih materija iz lekovitih biljaka.....	44
2.8.1. Lekovite biljke koje povoljno deluju na metabolizam.....	45
2.8.2. Lekovite biljke koje povoljno deluju na zaštiti kardiovaskularnog sistema.....	47
2.8.3. Lekovite biljke koje povoljno deluju na jačanje otpornosti organizma.....	49
2.9. Antioksidativnost .....	51
2.9.1. Slobodni radikali i oksidativni stress.....	52
2.10. Fenolna jedinjenja.....	53
2.10.1. Flavonoidi.....	56
2.10.1.1. Antocijani.....	60
2.10.2. Neflavonoidi.....	63
2.10.2.1. Fenolne kiseline.....	63
2.10.3. Dejstvo polifenola na organizam.....	65
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	67
4. MATERIJAL I METODE.....	69
4.1. Materijal.....	69
4.1.1. Biljni material.....	69
4.1.1.1. Voće .....	69
4.1.1.2. Lekovito i aromatično bilje.....	70
4.1.2. Hemikalije .....	70
4.2. Metode.....	71
4.2.1. Tehnološki postupci proizvodnje voćnih sokova.....	71
4.2.2. Proizvodnja ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja.....	74
4.2.3. Dobijanje bezalkoholnih pića (voćnih sokova sa lekovitim biljem).....	75
4.2.4. Hemijski pokazatelji kvaliteta.....	76

4.2.4.1. Randman.....	76
4.2.4.2. Određivanje pH vrednosti.....	76
4.2.4.3. Određivanje rastvorljive suve materije.....	76
4.2.4.4. Određivanje količine etanola u finalnim uzorcima.....	76
4.2.5. Određivanje sadržaja ukupnih monomernih antocijana...	77
4.2.6. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida.....	79
4.2.7. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola.....	80
4.2.8. Određivanje antioksidativnog kapaciteta.....	82
4.2.8.1. DPPH metoda .....	82
4.2.8.2. FRAP metoda.....	85
4.2.9. Određivanje sadržaja fenolnih kiselina i flavonoida (LC/MS) metoda.....	87
4.2.10. Senzorna analiza.....	90
4.2.11. Statistička analiza.....	92
5. REZULTATI I DISKUSIJA.....	93
5.1. Analiza polaznih sirovina.....	93
5.1.1. Određivanje tehnoloških parametara ispitivanih sokova.....	93
5.1.2. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na sadržaj ukupnih monomernih antocijana u voćnim sokovima.....	95
5.1.3. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na sadržaj ukupnih flavonoida u voćnim sokovima.....	98
5.1.4. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na sadržaj ukupnih polifenola u voćnim sokovima.....	100
5.1.5. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na antioksidativna aktivnost voćnih sokova.....	102
5.1.5.1. DPPH metoda (Trolox) .....	102
5.1.5.2. DPPH metoda (IC50) .....	104
5.1.5.3. FRAP metoda.....	105
5.1.6. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na fenolna jedinjenja u voćnim sokovima (LC/MS analiza).....	107
5.1.7. Odabir i analiza ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja.....	119
5.1.7.1. Proizvodnja mešavina ekstrakata bilja.....	121

5.1.8. Određivanje pH vrednosti i sadržaja suve materije proizvedenih ekstrakata .....	124
5.1.9. Sadržaj ukupnih antocijana, ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola u proizvedenim ekstraktima .....	125
5.1.10. Antioksidativna aktivnost proizvedenih ekstrakata.....	126
5.1.11. LC/MS analiza fenolnih jedinjenja u proizvedenim ekstraktima.....	127
5.2. Proizvodnja i analiza funkcionalnih bezalkoholnih pića.....	135
5.2.1. Proizvodnja bezalkoholnih pića.....	135
5.2.1.1. Kombinacije voćnih sokova kao osnove za finalna funkcionalna pića.....	135
5.2.1.2. Kombinacije voćnih sokova sa voćnim sokom jabuke...	139
5.2.1.3. Hemijska analiza voćnog soka jabuke.....	140
5.2.1.4. Finalne kombinacije.....	141
5.2.2. Određivanje tehnoloških parametara proizvedenih bezalkoholnih pića.....	142
5.2.3. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana u bezalkoholnim pićima.....	144
5.2.4. Sadržaj ukupnih flavonoida u bezalkoholnim pićima.....	145
5.2.5. Sadržaj ukupnih polifenola u bezalkoholnim pićima.....	146
5.2.6. Antioksidativna aktivnost bezalkoholnih pića.....	147
5.2.6.1. DPPH metoda (Trolox) .....	147
5.2.6.2. DPPH metoda (IC50) .....	148
5.2.6.3. FRAP metoda.....	149
5.2.7. Korelacija metoda.....	150
5.2.8. LC/MS analiza fenolnih jedinjenja u bezalkoholnim pićima.....	151
5.2.9. Senzorna analiza bezalkoholnih pića.....	162
6. ZAKLJUČAK.....	165
7. LITERATURA.....	171
PRILOZI.....	205

## 1. UVOD

Savremeni koncept ishrane sve više nameće upotrebu inovativne hrane sa dodatkom vrednošću, koja ima povoljno dejstvo na očuvanje zdravlja ljudi. Funkcionalna hrana, za koju je naučno potvrđeno povoljno fiziološko i zdravstveno dejstvo, poželjna je u svakodnevnoj ishrani. Mešanjem različitih vrsta namirnica, voća, povrća, ekstrakata, začina, dobijaju se složene kompozicije hranljivih i funkcionalnih sastojaka: fenolnih jedinjenja, vitamina, minerala, sa pozitivnim dejstvom na zdravlje.

Stvaranje slobodnih radikala u organizmu može biti uzrok brojnim poremećajima, poput poremećaja ishrane, slabljenja imuniteta, kardiovaskularnih i neuroloških oboljenja, kancerogeneze itd. S obzirom na to da se prirodni inhibitori slobodnih radikala obilno sintetišu u mladosti (interno proizvedeni antioksidansi), a da njihov nivo opada sa godinama, neophodno ih je nadoknađivati putem većeg unosa namirnica bogatih biološki aktivnim sastojcima sa visokim antioksidativnim potencijalom.

U tom smislu, fenolna jedinjenja, kao prirodni antioksidansi, mogu imati zaštitnu ulogu u sprečavanju nastanka mnogih degenerativnih oboljenja. Antioksidativni kapacitet fenola rezultat je njihove sposobnosti da budu donori vodonikovih atoma čime uklanjaju slobodne radikale i time smanjuju oksidativni stres, usporavaju proces starenja i rast kancerogenih ćelija. Flavonoidi i fenolne kiseline predstavljaju značajnu grupu sekundarnih metabolita jagodastog i koštičavog voća, kao i lekovitog i aromatičnog bilja. U crvenom voću su, među fenolnim jedinjenjima u velikoj meri zastupljeni antocijani, bojene materije, crvene do plave boje. Mutni voćni sokovi, dobijeni ceđenjem ovog voća, sadrže pored antocijana i druga fenolna jedinjenja kao i komplekse sa fenolnim jedinjenjima, pa bi se njihovim redovnim konzumiranjem mogao ostvariti značajan unos antioksidanata.

U eksperimentu su proizvedena bezalkoholna pića - voćni sokovi sa dodatkom ekstrakata lekovitih i aromatičnih biljaka, kao funkcionalna pića sa dodatnom vrednošću. Opravdanost proizvodnje ovakvih pića leži u činjenici da su u današnje vreme, usled promenjenih navika u načinu života (smanjene fizičke aktivnosti, sve veće upotrebe konzervisane hrane niske nutritivne vrednosti, povećanog stresa) određena oboljenja u porastu (gojaznost, kardiovaskularni i imunološki problemi). S obzirom na to da je gojaznost hronična bolest, koja je sve učestalija među populacijom,

konzumiranjem niskokaloričnih voćnih sokova sa ekstraktima odabranog lekovitog i aromatičnog bilja, moglo bi se povoljno uticati na eliminaciju štetnih materija iz organizma i ubrzavanju metabolizma. Takođe, kardiovaskularne bolesti su u današnje vreme sve više zastupljene, a neminovno je i slabljenje otpornosti organizma kod ljudi, koje dovodi do pojave oboljenja. Svakodnevnim konzumiranjem formulisanih prehrambenih proizvoda, bogatih u sadržaju fitonutrijenata sa potencijalnim kardioprotektivnim i imunoprotektivnim dejstvom, koje potiče od ciljano odabranog lekovitog i aromatičnog bilja, moglo bi se doprineti unapređenju fizioloških funkcija organizma i zdravlja uopšte.

Radi dobijanja biološki vrednih bezalkoholnih pića neophodno je bilo proizvesti niskokalorične voćne sokove visoke antioksidativnosti i prijatnih senzornih svojstava, pri čemu je od krucijalnog značaja bio odabir voćnih vrsta bogatih u sadržaju antocijana i fitonutrijenata, kao što su plodovi jagodastog i koštičavog voća: jagode, maline, kupine, višnje, borovnice, crvene i crne ribizle. Sokovi su dobijani različitim tehnološkim postupcima proizvodnje, radi utvrđivanja uticaja enzimskog i termičkog tretmana na antioksidativnost i sadržaj bioaktivnih komponenata.

Dobijenim sokovima je zbog izražene prirodne kiselosti, bilo potrebno izvršiti korekciju slasti, dodatkom soka jabuke u količini od 30%. Kako bi se povećao antioksidativni kapacitet i proizveo pozitivan efekat na smanjenje telesne težine, kardiovaskularni i imunološki sistem u takva bezalkoholna pića bilo je potrebno inkorporirati odgovarajuće ekstrakte lekovitog i aromatičnog bilja.

Radi dobijanja biljnih ekstrakata sa ciljanim pozitivnim dejstvima, izvršena je selekcija lekovitog i aromatičnog bilja, koprive, šipurka, matičnjaka, aronije, ehinacee, kamilice, zove, rastavića, heljde, japanskog bagrema, srdačice, grčkog semena, trave ive i majkine dušice. Biljne ekstrakte, proizvedene postupkom perkolacije, uz 50% etanol kao ekstragens, bilo je neophodno pomešati u odgovarajućim odnosima, kako bi se dobile senzorno prihvatljive kombinacije sa pomenutim fiziološkim efektima na zdravlje potrošača. Ove mešavine su kasnije dodavane, odgovarajućim mešavinama eksperimentalno proizvedenih voćnih sokova, u količini od 0,6%.

Da bi se odredio sadržaj bioaktivnih komponenata i antioksidativni kapacitet proizvedenih uzoraka, odabrane su različite instrumentalne metode analiza (sadržaj ukupnih monomernih antocijana, ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola, a primenom

DPPH i FRAP metoda određen je antioksidativni kapacitet, dok je za identifikaciju i kvantifikaciju fenolnih kiselina i flavonoida bilo neophodno izvršiti LC/MS analizu uzoraka). Za ispitivanje senzornih karakteristika finalnih proizvoda potrebno je bilo primeniti metodu bodovanja.

Proizvodnjom finalnih funkcionalnih bezalkoholnih pića na bazi voćnih sokova od jagodastog i koštičavog voća uz dodatak ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja sa potencijalnim efektima na smanjenje telesne težine, kardiovaskularni i imunološki sistem, dobijeni su nutritivno vredni proizvodi, izuzetno visokog antioksidativnog kapaciteta, koji bi se potencijalno mogli proizvoditi i u industrijskim uslovima.

## 2. TEORIJSKI DEO

### 2.1. POJAM I ZNAČAJ FUNKCIONALNE HRANE

Od davnina je poznata tesna veza između ishrane i zdravlja. Razvojem novih naučnih saznanja, iz oblasti biohemije, fiziologije i srodnih grana, potvrđena je hipoteza da ishrana ima važnu ulogu u modulaciji različitih telesnih funkcija i postizanja dobrog zdravstvenog stanja. Na ovim postulatima razvijen je koncept funkcionalne hrane.

Prema definiciji prihvaćenoj od strane stručnjaka okupljenih u projektu FUFOSSE (*The Functional Food Science in Europe*), funkcionalnom se može smatrati namirnica ukoliko „sadrži sastojke (nutritivne ili nenutritivne) koji povoljno deluju na jednu ili više ciljanih funkcija u organizmu i to izvan okvira uobičajenih nutritivnih efekata i na način značajan za održavanje dobrog opšteg zdravstvenog stanja organizma ili za smanjenje rizika od bolesti (Diplock et al., 1999; Šobajić, 2002).

Biološki aktivne komponente, odgovorne za specifično delovanje funkcionalnih namirnica, mogu biti prirodnog porekla: životinjskog, ili biljnog, mikroorganizmi ili proizvodi njihovog metabolizma, mikronutrijenti, makronutrijenti ili nenutritivne komponente. Njihovo korišćenje u proizvodnji funkcionalnih namirnica prethodi intenzivna naučna istraživanja, kontrola i regulativa.

Voće predstavlja značajan izvor fenolnih jedinjenja, bioaktivnih sekundarnih metabolita, najviše odgovornih za antioksidativnost i druge korisne zdravstvene efekte. Lekovito bilje se može inkorporirati u različite proizvode. Prehrambeni proizvodi predstavljaju najveći potencijal za proizvodnju funkcionalne hrane, a voćni sokovi kao dragocen izvor energije, ali i biološki aktivnih materija, svrstani su u važne funkcionalne napitke. Mnoge kompanije beleže rastući trend kupovine prehrambenih proizvoda, napitaka i slično, koji sadrže dodatke od biljnih ekstrakata. Lekovito bilje koje podstiče rast, razvoj i regeneraciju dodaje se funkcionalnim namirnicama namenjenim deci, trudnicama i starijim osobama. Nutraceutici namenjeni osobama izloženim stresu, sadrže lekovito bilje bogato antioksidativnim sastojcima. Takođe, lekovito bilje koje utiče na metaboličke procese u organizmu sastavni je deo funkcionalne hrane namenjene gojaznim osobama, obolelim od šećerne bolesti i onima koji su izloženi povećanoj fizičkoj aktivnosti. Lekovito bilje se koristi i kao dodatak

hrani namenjenoj obolelima od kardiovaskularnih bolesti, osobama sa psihičkim smetnjama kao i poremećajima funkcije gastrointestinalnog trakta (Mišan, 2003).

## 2.2. VOĆE KAO BOGAT IZVOR BIOAKTIVNIH MATERIJA

Voće predstavlja bogat izvor šećera i drugih ugljenih hidrata, organskih kiselina, belančevina, vitamina, provitamina, mineralnih materija, etarskih ulja, kao i fenolnih materija i mnogih drugih jedinjenja koji doprinose pravilnom radu ljudskog organizma.

Bogatstvom u askorbinskoj kiselini ili vitaminu C se ističu plodovi borovnice, crne i crvene ribizle, šipurka, aronije i mnogi drugi, dok je šipurak bogat karotenom ili provitaminom A (Lister et al., 2002; Mazza, 2007; Nikolić i Milivojević, 2010; Kasote et al., 2015).

Šećeri iz plodova voća, pre svega invertni – glukoza i fruktoza obezbeđuju neophodnu energiju konzumentima – lako se apsorbuju i vare i brzo uklanjaju umor i okrepljuju. U plodovima biljaka su pored najzastupljenijih organskih kiselina- jabučne, limunske, vinske, ćilibarne, prisutne i aromatične kiseline (benzojeva, salicilna), kao i razne ciklične kiseline (šikimi, hina i druge). Voćne kiseline imaju značajan doprinos, jer daju voću, a posebno voćnim sokovima prijatan i osvežavajuć ukus i miris. One deluju blago laksativno i diuretično, podstiču crevnu mukozu na kretanje i tako izazivaju bolju peristaltiku creva. Radi toga se voćni sokovi koriste kao sredstava za otklanjanje hroničnih opstipacija. Voćnih kiselina ima u plodovima ribizle, višnje, maline, borovnice, šipurka, zove i drugog voća. Sirupi izrađeni od voćnih sokova služe za poboljšanje ukusa, mirisa i boje mnogih lekova, naročito onih namenjenih deci. Aromatične materije voća potiču od estara organskih kiselina i alkohola (Sarić, 1989; Mratinić, 2002; Milatović et al., 2011).

Pektini se sreću kod plodova jagode, crne ribizle, jabuke, citrusa, dunje i omogućuju želiranje voćnih preradevina (Willats et al., 2001; Mišić i Nikolić, 2003). Na voću su prisutne i voštane materije (na površini nekih plodova), aromatične materije, enzimi, tanini (Kähkönen et al., 2001; Zhao, 2007; Nikolić i Milivojević, 2010; Kasote et al., 2015).

Plodovi voća izuzetno su bogati i pigmentima, i to flavonoidima (posebno crvenim i plavim antocijanima) i karotenoidima (žute do narandžaste boje). Oni su vrlo



prisutni u plodovima kupine, borovnice, maline, crne i crvene ribizle, višnje i drugog voća (Bonani et al., 2006; Milivojević et al., 2011).

Zbog velikog prisustva vitamina i minerala, specifičnog hemijskog sastava i lekovitih svojstava, voće, kao i lekovito i aromatično bilje koristi se od davnina u narodnoj medicini. U farmaceutskoj industriji se koriste i kao sirovine za izdvajanje biljnih lekovitih sastojaka (Kolodziej i Kiderlen, 2005).

Fenolna jedinjenja imaju ulogu hvatača slobodnih radikala (hidroksil radikala, hidroperoksidni radikala, superoksid anjon radikala itd.). Oni sprečavaju njihovu oksidaciju, deluju antioksidativno, štiteći od različitih oštećenja ćelijske membrane, enzime i genetski materijal u ljudskom organizmu (Rice-Evans et al., 1997; Shahidi et al., 2015).

Zato je neophodno je konstantno unositi antioksidanse kroz hranu, a neki od najbogatijih prirodnih izvora antioksidanasa su sveže voće i voćni sokovi (Fang i Bhandari, 2010).

### 2.2.1. Jagoda

Jagoda pripada rodu: *Fragaria ananassa* Duch. = *Fragaria grandiflora* Ehrh. – baštenska jagoda, familiji: Rosaceae.



Slika 1. Plod jagode

Jagoda, sorta Kleri (Clery) je visoko-kvalitetna i izuzetno aromatična stona sorta, poreklom iz Italije (Nikolić i Milivojević, 2010). Veoma je cenjena i tražena sorta od strane proizvođača i potrošača (Milivojević i Nikolić, 2015).

U Srbiji se baštenska jagoda najviše gaji u okolini većih gradova: Beograd, Smederevo, Šabac, Čačak, Kraljevo, Kruševac, Niš, Aleksinac, Leskovac i Vranje. Biohemijski sastav ploda jagode, kao i drugog voća varira u dosta širokim granicama u

zavisnosti od sorte, primenjenih agrotehničkih mera i klime (Mišić i Nikolić, 2003). Plod jagode sadrži 10-13% ukupnih šećera (dominiraju glukoza i fruktoza, ima nešto manje i saharoze), organske kiseline (limunska, jabučna, nešto manje salicilna, ćilibarna, šikiminska i fumarna kiselina), proteine (0,2-1%), masne materije, vitamine (C, E, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>), fenole (antocijane i druge flavonoide, kao i fenolne kiseline), pektinske materije, celulozu, minerale (kalijum, kalcijum, fosfor, gvožđe), taninske materije u tragovima (Veličković, 2000; Mišić i Nikolić, 2003; Nikolić i Milivojević, 2010).

Elaginska kiselina, *p*-kumarinska kiselina i pelargonidin-3-glukozid navode se kao dominantna fenolna jedinjenja u plodovima jagode (Häkkinen et al., 1999; Häkkinen i Törrönen, 2000; Jakobek et al., 2007b; Milivojević et al., 2011). Oni zajedno sa vitaminom C doprinose antioksidativnosti ovog ploda (Tulipani et al., 2008). Sazrevanjem ploda jagode opada sadržaj elaginske kiseline (Maas et al., 1991), koja deluje izuzetno povoljno na zdravlje. Dokazano je njeno citotoksično i antiproliferativno dejstvo (Losso et al., 2004).

Pored fenolnih kiselina, u plodovima jagode u manjim koncentracijama, pronađeni su flavonoli (kvercetin, miricetin, kempferol) (Häkkinen et al., 1999; Häkkinen i Törrönen, 2000; Jakobek et al., 2007b; Milivojević et al., 2011).

Zbog male kalorične vrednosti (30-40 kcal/100g ploda, tj. 125-167 kJ/100g ploda) ovo biološki vredno voće može se koristiti i u dijetalnoj ishrani (Nikolić i Milivojević, 2010).

Plod jagode može se koristiti pri snižavanju krvnog pritiska, smanjenju holesterola u krvi (salicilna kiselina), lečenju reumatskih oboljenja, izbacivanju kamena iz bubrega kroz pojačano uriniranje, regulisanju nekih stomačnih bolesti, terapiji dijabetesa, u lečenju anemije, u kozmetici za negu lica, za beljenje i održavanje zdravlja zuba (Veličković, 2000; Mišić i Nikolić, 2003; Nikolić i Milivojević, 2010).

### 2.2.2. Malina

Malina pripada rodu *Rubus idaeus* L., porodici Rosaceae. Stanište su joj šume, utrine, proplanci (Sarić, 1989).



Slika 2. Plod maline

Malina, sorta Vilamet (Willamette) je najzastupljenija, aromatična sorta. Milivojević et al. (2010) ističu da ova sorta ima veći sadržaj ukupnih antocijana i ukupnih fenola u poređenju sa sortom "Meeker" i samoniklom malinom.

U Srbiji se proizvodi u valjevskom i ariljsko-ivanjičkom području kao vodeća sorta, zatim manje u podrinjskom, šabačkom, kosjerićkom, kopaoničkom, čačanskom, požeško-užičkom, dragačevskom, kraljevačkom, gornjomilanovačkom malinogorju, ali i manje u okolini Leskovca, Vučja, Grdelice i Pirota (Nikolić i Milivojević, 2010). Nalazište samonikle maline su: Kopaonik, Golija, Jastrebac, Staroplanina, kao i mnoge druge planine i brda (Sarić, 1989).

Biohemijski sastav ploda maline, takođe varira u zavisnosti od sorte, stepena zrelosti, primenjenih agrotehničkih mera i klimatskih uslova (Nikolić i Milivojević, 2010). Prisutni su šećeri (dominiraju monosaharidi – glukoza i fruktoza, u manjoj količini disaharid saharoza), organske kiseline (limunska – najviše, jabučna, ćilibarna), masne materije (lipidi) – u semenu 0,3-0,5%, aminokiseline (posebno glutaminska), vitamini (najznačajniji vitamin C), enzimi, fitohormoni, fenoli (flavonoidi, a od njih najzastupljeniji antocijani), mirisne materije, pektinske materije.

U plodu maline, kao najbrojnija jednjenja, pronađeni su flavonoidi, elagitanini i fenolne kiseline (Kähkönen et al., 2001; Zhao, 2007). Dominantni antocijani u plodu maline su cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-soforozid. Boji soka doprinosi samo 1/3 od prisutnih antocijana, dok je ostatak u nebojenoj jonizovanoj formi (Vukosavljević, 2006). Antocijani imaju ulogu bojadisera i u najvećoj meri doprinose antioksidativnom

potencijalu, tj. neutralizaciji slobodnih radikala (Pellegrini et al., 2003). Ranija straživanja pokazala su prisustvo elaginske kiseline u plodovima jagode i maline (Häkkinen et al., 1999; Vatter i Shetty, 2005). Elaginska kiselina je u plodovima jagodastog voća obično se nalazi u obliku glikozida ili elagitanina (Häkkinen et al., 1999; Milić et al., 2000; da Silva Pinto et al., 2008).

Hranljiva vrednost ploda maline iznosi 224 kJ/100g (Nikolić i Milivojević, 2010).

Malina je voće koje sadrži brojne fitokemikalije koje mogu smanjiti rizik od hroničnih bolesti (Pennington i Fisher, 2009).

### 2.2.3. Kupina

Kupina pripada rodu *Rubus fruticosus* L. (sinonimi: *R. candicans* Weihe, *R. Plicatus* Weihe, *R. montanus* Liebert, *R. thyrsoides* Wimmer, *R. ulmifolius* Schott), familiji Rosaceae (Sarić, 1989). Stanište su joj busni tereni, može se naći pored puteva, po obodu šuma (Sarić, 1989).



Slika 3. Plod kupine

Kupina, sorta Loh nes (Loch Ness) je rana, beztrna, švedska sorta, slatka i aromatična, sa visokim sadržajem suve materije, pogodna za konzumiranje u svežem stanju, kao i za različite vidove prerade.

Kupina se široko gaji u centralnoj Srbiji. Posebno se ističu proizvodna područja: Knjaževac, Valjevo, Šabac, Lipolist, Osečina, Krupanj, Rekovac, Varvarin, Aleksinac, Čačak, Brus, Aleksandrovac, Leskovac, Vladičin Han, Vučje, Beograd, Sopot, Dragačevo, Bajina Bašta, Ljubovija, Požarevac (Nikolić i Milivojević, 2010).

Plod kupine sadrži do 21% suve materije, od čega rastvorljive suve materije 10-14%. Ovaj plod sadrži šećere (fruktozu, glukozu i male količine saharoze), organske

kiseline (limunsku i jabučnu), vitamine (C, A, PP, riboflavin, B<sub>6</sub>), pektinske materije, mineralne materije (kalijum, kalcijum, fosfor, magnezijum, gvožđe), proteine, ulja, celulozu, fenole (najviše flavonoide, od kojih su najzastupljeniji antocijani), mirisne materije, galotanine (Sarić, 1989; Veličković, 2000; Nikolić i Milivojević, 2010).

Plod kupine se koristi u farmaceutskoj industriji, ima hranljivu, dijetoprofilaktičku, dijetoterapeutsku i zaštitnu ulogu (Veličković, 2000). Navodi se da pektini iz ploda štite organizam od arteroskleroze i infarkta, celuloza povoljno utiče na varenje hrane, a prisutni antocijani deluju antikancerogeno (Mišić i Nikolić, 2003). Plodovi kupine i ostalog jagodastog voća mogu se konzumirati u svežem stanju ili prerađni u različite prehrambene proizvode (Amakura et al., 2000; Bermudez-Soto i Tomas-Barberan, 2004; Konić–Ristić et al., 2011; Mattila et al., 2011; Rajić et al., 2012a; Rajić et al., 2012b; Paunović et al., 2016). Kupina može da se koristi u obliku sirupa (Paunović et al., 2016), a kupinovo vino se preporučuje zbog poboljšavanja imuniteta (Sarić, 1989). Plod i sok kupine, predstavljaju odlična laksativna sredstva, a doprinose i regulisanju krvnog pritiska (Nikolić i Milivojević, 2010).

Kupina se ističe najvišom antioksidativnom aktivnošću, u odnosu na drugo jagodasto voće. Tome doprinosi veliki sadržaj, pre svega, antocijana ali i ostalih fenolnih jedinjenja (Pellergini et al., 2003). Prisustvo flavonoida i fenolnih kiselina, kojih ima najviše u pokožici ploda doprinosi antioksidativnom kapacitetu (Szajdek i Borowska, 2008). Kod plodova jagode, kupine i maline veliki deo fenolnog sadržaja čine fenolne kiseline (elaginska, galna, protokatehinska, kofeinska, *p*-kumarinska i ferulinska kiselina) (Milivojević et al., 2011). Elaginska kiselina je najzastupljenija fenolna kiselina u plodu kupine, a najveći sadržaj navedene kiseline nalazi se u semenu koštica (De Ancos et al., 2000; Siriwoharn i Wrolstad, 2004). U zavisnosti o sorte, načina gajenja, ekoloških faktora i stepena zrelosti sadržaj ovih jedinjenja može da varira (Siriwoharn et al., 2004).

#### 2.2.4. Borovnica

Borovnica pripada rodu *Vaccinium myrtillus* L., familiji: Vacciniaceae (Mišić i Nikolić, 2003).



Slika 4. Plod borovnice

Samonikla borovnica je biološki vrednija i otpornija. Njeni plodovi bogatiji su biološki aktivnim sastojcima, odlikuju se višim sadržajem vitamina, mineralnih materija, enzima. Ove supstance neutralizuju toksične supstance koje svakodnevno na različite načine unosimo u organizam. Stanište samonikle borovnice su četinarske i mešovite četinarsko-lišćarske šume, na visokim planinama. Sreće se iznad granice šuma u oblasti visokoplaninskih žbunova i tresetišta, na svežoj i vlažnoj podlozi. Borovnica zahteva kisela, rastresita i humusna zemljišta (Sarić, 1989; Mišić i Nikolić, 2003; Nikolić i Milivojević, 2010).

Borovnica se u svetu najviše gaji u SAD-u, Kanadi, zatim Poljskoj, Litvaniji, Holandiji, Čileu, Argentini, Rumuniji, Rusiji, Švedskoj, Novom Zelandu itd.

Široko je rasprostranjena i u Srbiji na označenim staništima. Gaji se u okolini Arilja, Užica, Ljiga, Knjaževca i Vlasinskog jezera, dok je šumska borovnica zastupljena na visokim planinama (Goliji, Javoru, Vlasini, Tari, Staroj planini, Kopaoniku) (Nikolić i Milivojević, 2010).

Bobice borovnice sadrže višu količinu šećera i prosečan sadržaj ukupnih kiselina, pa je stepen slasti nešto veći. Bogate su u sadržaju proteina, celuloze i pektina, kao i mineralnih materija (kalijuma, fosfora, kalcijuma, natrijuma i magnezijuma). Borovnica sadrži i značajan sadržaj fenola (posebno flavonoide, a kojih su najdominantniji antocijani i fenolne kiseline). Ona sadrži još i vitamine (C, A, B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, riboflavin, niacin) a odlikuje se i niskom kaloričnom vrednosti od 60 kcal/100g, pa se može primenjivati u dijetama protiv gojaznosti (Mišić i Nikolić, 2003; Nikolić i Milivojević, 2010).

Plodovi vrste *V. Myrtillus* su jestivi i imaju lekovite karakteristike. Sveži plodovi imaju dejstvo laksantiva, dok se suvi koriste za lečenje dijareje (Sarić, 1989).

Plod borovnice se koristi u farmaceutskoj industriji, ima hranljivu, dijetoprofilaktičku, dijetoterapeutsku i zaštitnu ulogu. Koristi se kod crevnih infekcija, kao i kod problema sa žučnom kesom. Ima baktericidna svojstva, a sirup borovnice značajno poboljšava vid (naročito u sumrak) što je značajno kod istraživača, vozača, pilota (Veličković, 2000). Odličan je diuretik, sprečava infekcije mokraćnih kanala. Koristi se i kod anemije, sprečava stvaranje krvnih ugrušaka i arteriosklerozu (Mišić i Nikolić, 2003). Posebno lekovita je šumska borovnica, zbog tanina i pektina koje poseduje delotvorna je i kod akutnih dijareja, enterokolita kod dece i odraslih, kao i kod katara creva i raznih upala sluznica (Sarić, 1989).

Od fenolnih jedinjenja, izuzetno je bogata antocijanima, i to prvenstveno 3-glukozidima i 3-galaktozidima delfinidina, malvidina, petunidina, cijanidina i peonidina (Prior et al., 1998). Kod soka borovnice pored antocijana prisutni su i proantocijanidini, flavonoli, fenolne kiseline i drugi (Skrede et al., 2000). U plodovima borovnice *p*-kumarinska kiselina pronađena kao dominantno fenolno jedinjenje, a takođe i ferulinska, kofeinska, elaginska kiselina (Häkkinen et al., 1999; Määttä-Riihinen et al., 2004; Jakobek et al., 2007b). Pored fenolnih kiselina, u plodovima borovnice detektovani su flavonoli: kvercetin, miricetin, kempferol (Häkkinen et al., 1999; Häkkinen i Törrönen, 2000; Jakobek et al., 2007b; Milivojević et al., 2011).

### 2.2.5. Višnja

Višnja pripada rodu *Prunus cerasus* L. (sinonim *Cerasus vulgaris* Mill.), familiji Rosaceae.



Slika 5. Plod višnje

Plod oblačinske višnje je srednje krupan, sadrži dosta antocijana, 14-17% suve materije, daje sok intenzivno crvene boje, kiselog je ukusa i prijatne arome. Višnja je pogodna za razne vrste prerade (Milatović et al., 2011). Šimunić et al., 2005 pokazali su da je oblačinska višnja izuzetno bogata antocijanima. Ovo je sorta sa visokim sadržajem suve materije (Mratinić, 2002).

Raste na bogatom, rastresitom, baznom zemljištu, na suvljim, toplijim i sunčanim mestima (Sarić, 1989). Poreklom je iz jugozapadne Azije, a kasnije je gajena i u Evropi (Sarić, 1989).

Višnja je na trećem mestu po proizvodnji plodova u Srbiji. Prosečna proizvodnja 2005-2009 bila je 87874 t. Veliki deo ovih plodova se izvozi. Najviše se gaji u južnoj Srbiji, Podunavlju, Šumadiji, Mačvi (Milatović et al., 2011).

Hemijski sastav ploda višnje značajno varira u zavisnosti od klimatskih uslova, vremena berbe, tehnološke zrelosti i drugih činioca. Plod višnje sadrži 12-22 % suve materije, 10-18% šećera (najviše glukozu i fruktozu, vrlo malo saharoze), organske kiseline (1,02-2,40%), belančevine (0,7-1,9%), masne materije, taninske materije (0,2%), pektine (0,3%), dijetetska vlakna, mineralne materije (0,5%), vitamine, fenolna jedinjenja, aromatične materije (Mratinić, 2002; Milatović et al., 2011).

Plodovi višnje, zbog svog hemijskog sastava, na čovekov organizam imaju osvežavajuće, diuretično, antireumatično, umirujuće, energetski detoksikujuće, antiinfektivno i laksativno dejstvo (Mratinić, 2002). Martinović i Kojić (1998) ističu da i dijabetičari mogu da je konzumiraju u manjim količinama.

Plod višnje sadrži 13,5-18,5% rastvorljive suve materije, a pH vrednost iznosi oko 3,3 (Niketić-Aleksić, 1982).

Fenolna jedinjenja u višnji su prisutna u količini od 1460-4070 mg/kg. Najzastupljeniji su antocijani, fenolne kiseline, flavonoli. Boja višnje potiče od antocijana, a dominantno zastupljeni antocijan ploda višnje je cijanidin 3-glukozil-rutinozid, zatim cijanidin 3-rutinozid, cijanidin soforozid i peonidin 3-glukozid (Milatović et al., 2011).

Fenolna jedinjenja, pre svega antocijani imaju jaku antioksidativnost, jer reaguju sa slobodnim radikalima. Wang et al. (1999) su doneli zaključak da antocijani (pre svega cijanidin) iz plodova višnje imaju antioksidativno i antiinflamatorno dejstvo, slično aspirinu. Kang et al. (2003) su pokazali antitumorno dejstvo ovih jedinjenja, dok



su Kim et al. (2005) potvrdili da ova jedinjenja iz višnje štite i neurone mozga od oksidativnog stresa. Antocijani iz ploda višnje smanjuju nivo triglicerida i holesterola u krvi i time štite organizam od kardiovaskularnih bolesti (Seymour et al., 2008). Tanini i drugi sastojci ploda višnje deluju diuretično, pomažu izbacivanju kamena iz bubrega i mokraćne bešike i zaustavljaju dijareju. Ovaj plod se odlikuje značajnim sadržajem gvožđa, zbog čega se preporučuje u lečenju anemije (Sarić, 1989). Jayaprakasam et al. (2005) pokazali su da antocijani utiču na povećanje proizvodnje insulina, pa su pogodni za prevenciju šećerne bolesti. Takođe, smanjuju oštećenje kapilara kod dijabetičara (dijabetesa tipa 2).

Antioksidativni kapacitet ploda višnje je dosta visok i pokazane su više vrednosti u odnosu na drugo voće (Halvorsen et al., 2002). Ipak, različite sorte pokazuju drugačije vrednosti antioksidativnog kapaciteta (Papp et al., 2008). Plod višnje u različitim stepenima zrelosti pokazuje različite vrednosti fenolnih komponenti, kao i antioksidativnog kapaciteta (Pedisić et al., 2007). Pokožica je znatno bogatija antioksidantima od mezokarpa (Chaovanalikit i Wrolstad, 2004a; Chaovanalikit i Wrolstad, 2004b).

### 2.2.6. Crvena ribizla

Crvena ribizla pripada rodu *Ribes rubrum* L., familija: Grossulariaceae. Postojbina ove biljke je srednja i severna Evropa, severna Azija (Mišić i Nikolić, 2003).



Slika 6. Plod crvene ribizle

Crvena ribizla sorta Stanca (Stanza) je tamnocrvena, rana, holandska sorta, kiselkastog ukusa, sa niskim sadržajem rastvorljive suve materije. Pogodna je za proizvodnju soka (Nikolić i Milivojević, 2010; Đorđević, 2012).

Sadržaj suve materije kod crvene ribizle iznosi do 17%, a rastvorljive suve materije 11-13%. Od šećera dominiraju glukoza i fruktoza, u manjim količinama ima i saharoze. Plod crvene ribizle sadrži i organske kiseline, proteine, mineralne materije (fosfor, kalcijum, magnezijum, gvožđe), vitamine (C, B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>), fenole (Nikolić i Milivojević, 2010). Od fenolnih jedinjenja prisutne su bojene materije antocijani, kao i flavonoidi, a od flavonoida u plodu crvene ribizle detektovani su flavonoli - kvercetin, miricetin i kempferol (Jakobek et al., 2007b).

Visok sadržaj vitamina C kod *Ribes* vrsta objašnjava pojavu da su neke sorte posedovale visok antioksidativni kapacitet, a umeren sadržaj antocijana (Moyer et al., 2002a).

### 2.2.7. Crna ribizla

Crna ribizla pripada rodu *Ribes nigrum* L., familija: Grossulariaceae.



Slika 7. Plod crne ribizle

Rasprostranjena je u Evropi, srednjoj Aziji (do Himalaja), Severnoj Americi (Nikolić i Milivojević, 2010).

Crna ribizla sorta Ometa je visoko prinosa švajcarska sorta, slatko – kiselog ukusa, sa visokim procentom rastvorljive suve materije (Đorđević, 2012). Đorđević (2012) je pokazao da ova sorta ima najviše vrednosti ukupnih antocijana i ukupnih fenola u odnosu na ostalih dvanaest ispitivanih sorti.

Sadržaj suve materije kod crne ribizle iznosi do 18,9%, a rastvorljive suve materije 13-15%. Od šećera dominiraju monosaharidi- glukoza i fruktoza, u manjim količinama ima i disaharida saharoze. Plod crne ribizle sadrži i organske kiseline, proteine, tanine, mineralne materije (fosfor, kalcijum, magnezijum, gvožđe), vitamine (najznačajniji vitamin C, B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>), fenole (posebno antocijani) (Veličković, 2000; Nikolić

i Milivojević, 2010). Vitamin C mnogo je stabilniji u plodu crne ribizle u odnosu na drugo voće (Lister et al., 2002) i u crnoj ribizli ga ima više nego kod većine ostalog voća (Sarić, 1989).

Crna ribizla ima izuzetan značaj kao sredstvo protiv skorbuta i avitaminoze. Sok crne ribizle preporučuje se kod čira na želucu i dvanaestopalačnom crevu, gastritisa, smanjene količine kiseline u želucu. Zaslađen svež sok koristi se protiv kašlja i u lečenju promuklosti (Sarić, 1989).

Plodovi crne ribizle zbog kiselog i oporog ukusa malo se koriste za potrošnju u svežem stanju, već pretežno u proizvodnji sokova, džemova, želea, marmelada, sirupa i slatkiša.

Plodovi crne ribizle sadrže od 3 do 5 puta više antocijana u odnosu na plodove drugog voća. Ovi plodovi poseduju, takođe, antioksidativno, antiinflamatorno, antimikrobno i antikancerogeno dejstvo, zbog visokog sadržaja vitamina C, kao i fenolnih jedinjenja (Mazza, 2007). Plodovi crne ribizle imaju mnogo viši sadržaj ukupnih fenola od ostalih voćaka (Szajdek i Borowska, 2008). Takođe, antioksidativni kapacitet je od 2 do 5 puta viša u plodovima crne ribizle u odnosu na drugo voće (Moyer et al., 2002a, Stewart, 2004; Milivojević, 2008).

Pored vitamina C, koji je izuzetno stabilan, visokom antioksidativnom potencijalu crne ribizle doprinose i prisutna fenolna jedinjenja. Dominantno fenolno jedinjenje u plodu crne ribizle *p*-kumarinska kiselina pronađena kao je, a pored nje i ferulinska, kofeinska, elaginska kiselina (Häkkinen et al., 1999; Määttä-Riihinen et al., 2004; Jakobek et al., 2007b). Najzastupljeniji antocijani u plodu crne ribizle su: cijanidin-3-rutinozid, delphinidin-3-rutinozid, delphinidin-3-glukozid i cijanidin-3-glukozid (Lister et al., 2002). U plodu crne ribizle su od flavonola detektovani kvercetin i kempferol (Häkkinen et al., 1999; Määttä-Riihinen et al., 2004; Jakobek et al., 2007b).

### 2.3. TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE VOĆNIH SOKOVA

Prva industrijska i komercijalna proizvodnja sokova počela je u devetnaestom veku, u Švajcarskoj, sa sokom od jabuka, i u Sjedinjenim Američkim Državama, sa sokom od grožđa. Međutim, značajniji razvoj ove proizvodnje zabeležen je posle 1925. godine. Ubrzo se počelo sa proizvodnjom i proučavanjem sokova od citrusa, zbog visokog sadržaja vitamina C. Kasnije se krenulo sa upotrebom ostalih voćnih vrsta za dobijanje sokova. Globalni razvoj trgovine, a naročito svetski ratovi, uticali su na razvoj proizvodnje koncentrisanih voćnih sokova, pa je njihova proizvodnja značajno porasla za vreme i posle Drugog svetskog rata (Niketić-Aleksić, 1982).

Voćni sokovi su proizvodi dobijeni ceđenjem voća, bez dodatka vode. Voćni sok je, prema Pravilniku, proizvod dobijen mehaničkom preradom jedne ili više vrsta tehnološki zrelog, svežeg, ohlađenog ili zamrznutog voća, koji nije fermentisao ali može da fermentiše, konzervisan isključivo fizičkim postupcima čiji ukus, boja i aroma moraju da budu karakteristični za vrstu voća od koga je voćni sok proizveden (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011).

Mutni voćni sok pored soka iz voćnih ćelija sa rastvorljivim sastojcima sadrži fino dispergovane koloidne čestice. Mutni voćni sok može da ima minimalan talog poreklom od voća koji nestaje pri blagom mešanju. (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011).

Koncentrisan sok je ugušćeni sok bez ikakvih dodataka. Ugušćivanje se postiže isparavanjem vode do određene granice. Voćni sok od koncentrisanog voćnog soka je vrsta voćnog soka koji se dobija tako što se koncentrisanom voćnom soku ponovo doda ona količina vode koja je izdvojena prilikom koncentrisanja (rekonstituisanje). (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011). Kvalitet vode mora da odgovara kvalitetu vode za piće.

Ustanovljena je direktna zavisnost između stepena zrelosti voća i sadržaja suve materije, aromatičnih i drugih sastojaka u voću značajnih za senzorna svojstva kao i količinu dobijenog soka. Za preradu u sok bitno je da su plodovi aromatični sa maksimalnim sadržajem šećera i dovoljno kiselina, kako bi tokom prerade sačuvala karakterističnu aromu, boju i ukus (Nikolić i Milivojević, 2010). Plodovi voća bi trebalo da budu kvalitetni, sveži, zdravi bez fizioloških, mehaničkih ili drugih

oštećenja, kako bi dobjeni sok bio što kvalitetniji, jer su u takvom voću očuvani vitamini i drugi nutrijenti. Takođe je važno da voće bude ubrano u stadijumu tehnološke zrelosti, za proizvodnju voćnog soka. Ova faza sazrevanja pruža optimalne uslove kvaliteta za konzervisani proizvod, jer se sadržaj pektina menja tokom sazrevanja, kao i za vreme čuvanja plodova posle berbe. Zrenjem se povećava rastvorni deo pektina, a sadržaj protopektina opada, usled čega tkivo gubi čvrstinu (Niketić-Aleksić, 1982).

Takođe, pri proizvodnji soka bilo bi poželjno zamrzavanje ili zagrevanje voća pre prerade, jer se na taj način narušava struktura ćelijskog zida pokožice ploda i oslobađaju se bojene materije prisutne u ćelijskom soku. Randman soka, zavisno od vrste voća, prosečno iznosi 60-90% (najčešće 70-85%). Prinos soka zavisi i od načina pripreme, tj. stepena sitnjenja sirovine i termičkog tretmana.

Mutni sok dobijen ceđenjem je polidisperzni sistem gde je disperzno sredstvo voda, a disperzna faza deliće tkiva i makromolekularni sastojci, koji daju punoću soku, čineći ga mutnim. Ćelijski sok sa rastvorenim supstancama kod mutnog soka se izdvaja ceđenjem. Kod njega se vrši separacija (centrifugiranje ili taloženje), kako bi se odstranile samo krupne, nestabilne čestice-delove biljnog tkiva, veće od 100nm. Koloidno rastvorni sastojci, sa česticama veličine 1 do 100 nm, koji čine deo koloidno stabilnog sistema, ostaju u soku i daju mu karakterističnu mutnoću. To različiti organski makromolekuli: pektin, skrob, proteini kao i njihovi kompleksi sa polifenolima, bojanim materijama i drugo. Ovi molekuli su hidrofilni, pa je sprečena asocijacija čestica u veće agregate i njihovo taloženje. Takođe sadrže i čestice manje od 1 nm, koje su prisutne i kod bistrih sokova, a to su sastojci manjih molekulskih masa: šećeri, vitamini, aminokiseline, organske kiseline, mineralne materije i dr (Vukosavljević i Veljović, 2013). Mutni sokovi sadrže više biološki aktivnih materija od bistrih sokova, pa samim tim se mogu odlikovati većim antioksidativnim kapacitetom (Oszmiański i Wojdyło, 2009).

Mutni sokovi mogu se proizvoditi od svih voćnih vrsta.

Jagoda, malina, kupina, borovnica, ribizla i višnja sadrže značajnu količinu antocijana, kao bojnih materija. Da bi se dobio kvalitetan sok, neophodno je voditi računa o očuvanju boje, pa se primenjuju tehnološki postupci koji omogućavaju da što

veća količina pigmentata pređe u sok i da se prirodna boja očuva u što većoj meri, kako tokom prerade tako i tokom skladištenja.

### **2.3.1. Proizvodnja voćnog soka bez enzimskog i toplotnog tretmana**

Tehnološki postupak proizvodnje matičnih voćnih sokova u poslednje vreme sve više se koristi.

Tehnološki postupak proizvodnje matičnog voćnog soka bez primene enzimskog i toplotnog tretmana uključuje sledeće operacije: muljanje voća - ceđenje soka - punjenje i zatvaranje boca - konzervisanje.

Sirovi voćni sok ili matični sok je polupreradeni sok dobijen ceđenjem svežih ili smrznutih plodova, grubo izbistren ili ne i konzervisan fizičkim postupkom (pre zatvaranja boca). Matični voćni sok, dobijen delovanjem pritiska na voćni kljuk (pri čemu dolazi do pucanja membrana ćelija i do curenja soka iz vakuola) se može konzervirati kao poluproizvod ili predstavljati gotov proizvod. Trop (pogača koja ostaje nakon ceđenja) sadrži zaostale bojene materije i druge biološki vredne sastojke (Zlatković, 2003).

Mutni matični voćni sok je proizvod koji sadrži fino dispergovane koloidne čestice koje mogu da se delimično talože (Službeni list SFRJ, 1/79, 20/82, 39/89 - dr. pravilnik, 74/90 i 46/91 - dr. pravilnik, Službeni list SRJ, 33/95 - dr. pravilnik i 58/95 i Službeni list SCG, 56/2003 - dr. pravilnik, 4/2004 - dr. pravilnik, 12/2005 - dr. pravilnik i 43/2013, 72/2014, 101/2015).

### **2.3.2. Proizvodnja voćnog soka sa enzimskim tretmanom**

Ovim postupkom se vrši proizvodnja sokova u industrijskim uslovima, radi rentabilnije proizvodnje i bolje iskoristivosti voća.

Tehnološki postupak proizvodnje mutnog soka uključuje sledeće operacije: muljanje voća - zagrevanje kljuka - enzimatski tretman - ceđenje soka - punjenje i zatvaranje boca - konzervisanje.

Specifična struktura plodova sa jagodastog voća sa zbirnim koštunicama (malina i kupina) najčešće onemogućava pranje. Pranje plodova bi prouzrokovalo veliki gubitak i prinosa i suve materije soka. Izuzetak čini jagoda, kod koje se primenjuje fino pranje.

Kljuk, dobijen **muljanjem voća**, sastoji se od čvrste i tečne faze. Nosioc tečne faze je voda i u njoj rastvorene supstance iz ćelijske vakuole.

Gubitak boje pri preradi voća u sok i degradacija pigmenata i polifenola uopšte su značajan problem. Izraženi gubici antocijana i drugih polifenola (koji se pretežno nalaze u vakuoli ćelije i ćelijskom zidu), tokom muljanja voća i depektinizacije, posledica su prisutne prirodne polifenoloksidaze koja se uglavnom nalazi u citoplazmi ćelije (Skrede et al., 2000; Lee et al., 2002). Prilikom dezintegracije biljne ćelije, ova jedinjenja bivaju oslobođena iz vakuola i dolaze u kontakt sa enzimima koji ih oksidišu. Zbog toga je neophodno brzo dejstvo visokih temperature, kako bi se ovi enzimi degradirali i očuvala boja soka. Enzimima je optimalno dejstvona temperaturama između 35 i 55 °C, na temperaturama višim od 80°C se inaktiviraju.

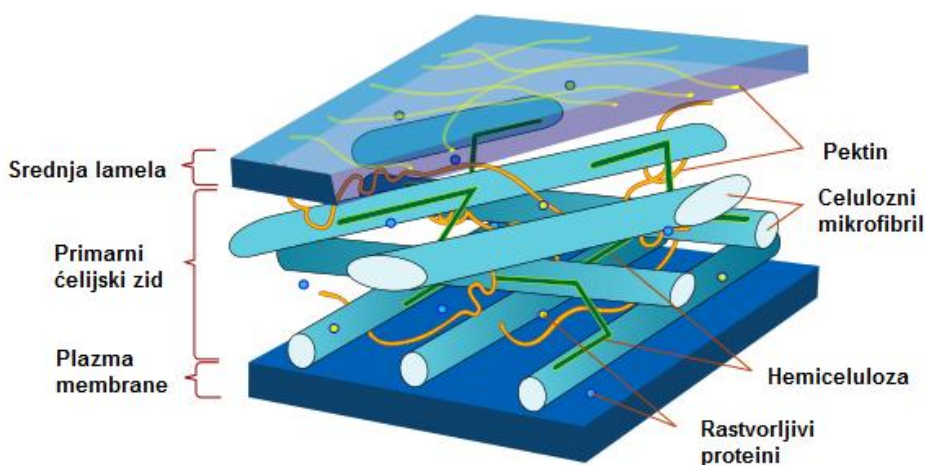
**Zagrevanjem kljuka**, pored inaktivacije enzima, pre svega polifenoloksidaze koja je odgovorna za enzimsko potamnjenje, postiže se i bolja ekstrakcija bojenih i drugih materija, ali se na ovaj način značajno povećava i randman (prinos soka). Takođe, dolazi do delimične hidrolize protopektina u pektin, pa se tako olakšava ceđenje. Jagodu treba oprezno zagrevati zbog izuzetne osetljivosti pelargonidina, na dejstvo povišenih temperatura. Antocijani maline i višnje su takođe vrlo nepostojani pri dužem zagrevanju, pa se ne preporučuju visoke temperature, više od 85°C (Niketić-Aleksić, 1982; Lopes da Silva et al., 2007; Mateus i de Freitas, 2008).

Kako bi se izvršila hidroliza pektinskih materija, vrši se **enzimiranje**. Kljuk se tretira enzimima - pektolitičkim preparatima. Uz dobro mešanje, na temperaturi oko 50°C, optimalni zadovoljavajući efekat se postiže za 1 do 1,5 čas. Ceđenjem se može dobiti oko 80-90% soka, u odnosu na težinu kljuka. U zaostalom tropu, ipak, mogu da zaostaju male količine bojenih materija, šećera, kiselina i mineralnih materija (Niketić-Aleksić, 1982). Prilikom procesa enzimiranja deluje se enzimima na pektinske materije prisutne u voću kako bi se povećao randman soka i ekstrakcija bojenih i drugih materija iz voća.

Pektinske materije su biljni polisaharidi, koji su prisutni kao prirodni sastojci biljnog tkiva. Rastvoreni su u ćelijskom soku biljaka (pektinska i pektininska kiselina) ili su nerastvorljivi sastojci primarnog ćelijskog zida (protopektin). Pektinske materije se smatraju glavnom supstancom za povezivanje biljnih ćelija (ćelijskih membrana) u srednjoj lameli, gde se one nalaze najčešće zajedno sa celulozom i hemicelulozom. Ove

materije zaslužne su za povećanju njihove čvrstine i elastičnosti. Sazrevanjem voća i drugih plodova nerastvorljivi protopektini hidrolizuju postepeno pod dejstvom enzima u rastvorljive frakcije, što dovodi do omekšavanja plodova. Pektinska i pektininska kiselina kao hidrokoloidi stvaraju u probavnom traktu čoveka zaštitni film pa se u medicini koriste protiv dijareje. Kao nosači probiotika, deluju zaštitno i na probiotike u probavnom traktu. (Nikeić-Aleksić, 1982; Sarić, 1989; Willats et al., 2001; Cosgrove, 2005; Vukosavljević i Veljović, 2013).

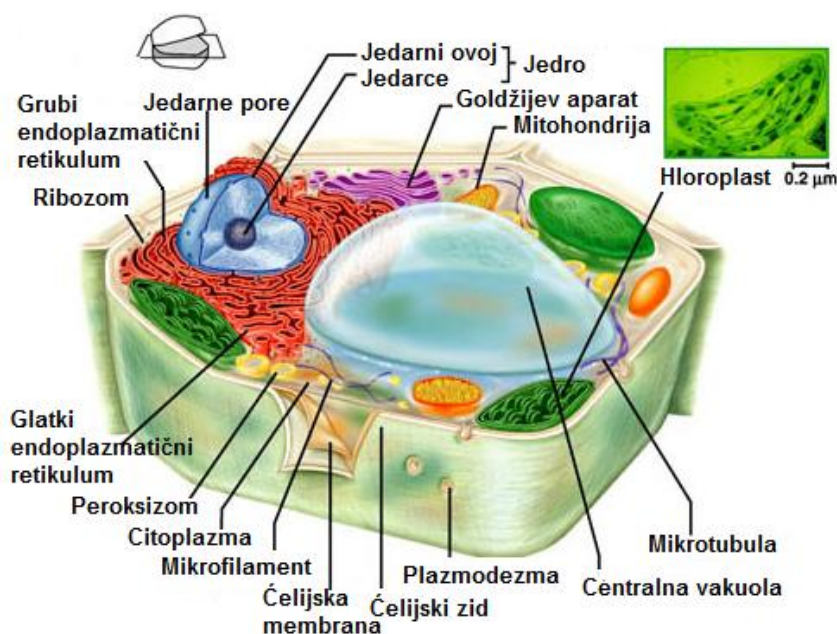
Za bolju ekstrakciju ćelijskog soka iz plodova voća, neophodno je dejstvo enzima, kako bi se razorio složeni polisaharidni ćelijski zid, fibrozna mreža, koja daje čvrstinu biljnoj ćeliji (Cosgrove, 2005; Buchert et al., 2005). Biljni pigmenti i polifenolna jedinjenja nalaze se u međufibrilnim kapilarnim prostorima ćelijskog zida) (slika 8), a najviše na površini ploda (epidermis i subepidermis), zbog uticaja svetlosti na biosintezu ovih jedinjenja.



Slika 8. Struktura ćelijskog zida ([www.thoughtco.com/cell-wall-373613](http://www.thoughtco.com/cell-wall-373613))



Takođe ih ima i u ćelijskom soku, koji ispunjava unutrašnjost vakuole (slika 9).



Slika 9. Biljna ćelija

(<http://www.citruscollege.edu/lc/archive/biology/Pages/Chapter03-Rabitoj.aspx>)

Istraživanja pokazuju i činjenicu da koncentracija polifenolnih jedinjenja opada sa sazrevanjem, osim kod crvenih plodova kod kojih se antocijani akumuliraju tokom sazrevanja (Guern et al., 1987; Macheix et al., 1990; Castrejón et al., 2008).

Dejstvo pektolitičkih enzima na karakteristike voćnih sokova predmet je mnogih studija (Buchert et al., 2005; Lee et al., 2006; Ramadan i Moersel, 2007). Pokazalo se da je upotreba pektolitičkih enzima pri ekstrakciji soka iz peruanske jagode uticala na povećanje sadržaja ukupnih polifenola, ali ne i na povećanje sadržaja vitamina C (Ramadan i Moersel, 2007). Enzimski preparati koji se koriste u proizvodnji sokova mogu poboljšati ekstrakciju bojenih materija u sok. Međutim, oni mogu efikasno hidrolizovati određene glikozide i na taj način uticati na profil ekstrahovanih antocijana (Buchert et al., 2005). Različite koncentracije primenjenih pektolitičkih enzima, temperature inkubacije i vreme dejstva enzima imaju veliki uticaj na sposobnost filtriranja, mutnoću, bistrinu, viskoznost i boju soka, gde se koncentracija enzima pokazuje kao najvažniji faktor (Lee et al., 2006; Abdullah et al., 2007).

Prilikom **termičkog tretmana** važni su visina temperature i vreme zagrevanja. Zagrevanjem se uništavaju mikroorganizmi koji se nalaze u proizvodu, ali potrebno je voditi računa i o kvalitetu proizvoda, o očuvanju bioaktivnih jedinjenja i drugih vrednih sastojaka. Zagrevanjem se istovremeno inaktiviraju i enzimi. Neophodno je za svaki proizvod odabrati najpogodniji režim toplotnog tretiranja (Vereš, 2004).

Pasterizacija je toplotni režim sa temperaturom 75-100°C i vremenom zagrevanja do 10-30 minuta. Pasterizacija soka se obavlja u protočnim - cevastim ili pločastim pasterizatorima, na temperaturi oko 90°C. Za sok maline, jagode i višnje temperatura pasterizacije treba da je 85-87°C, kako ne bi došlo u većoj meri do degradacije antocijana. Kod primene visokih temperatura za postizanje komercijalne sterilnosti dovoljno je kratkotrajno dejstvo temperatura (1 do 3 minuta) (Niketić-Aleksić, 1982; Vereš, 2004).

Sokovi voća bogatog antocijanima su prijatni, osvežavajući, slatko-kiselkasti, sa punim ukusom. Skladan odnos šećera i kiselina, slatko-kiseli ukus i prijatna aroma čine voćni sok jagode vrlo pitkim. Sok od ribizle utoljava žeđ, aktivira organe za varenje, reguliše pražnjenje creva, deluje dijaforetički (izaziva znojenje), pa se preporučuje u slučaju nazeba i povišene temperature (Sarić, 1989). Osvežavajuća svojstva soku od višnje daju u njemu prisutne kiseline, punoću ukusu daju taninske materije, a tamnu boju antocijani. Energetska vrednost ovog soka iznosi oko 220 J/100 g (Niketić-Aleksić, 1982; Milatović et al., 2011).

### **2.3.3. Voćni sok jabuke**

Najzastupljeniji proizvod prerade jabuke u Srbiji je koncentrisani sok. Industrijske sorte jabuke koje imaju veliku količinu i harmoničan odnos šećera, organskih kiselina, tanina, aromatičnih supstanci, vitamina i mineralnih materija najviše se koriste u proizvodnji koncentrisanog soka jabuke (Mišić, 1994; Jiao et al., 2004).

Fenolna jedinjenja su prisutna u značajnim količinama u plodovima jabuke i proizvodima od jabuke, ona su glavni izvor njihove antioksidativnosti, a doprinose i njihovim senzornim svojstvima (Khanizadeh et al., 2008). Boja soka jabuke potiče manjim delom od u vodi nerastvornih pigmenata karotinoida, koji daju zelenu, žuto-zelenu i žutu boju i pokožici jabuke i flavonoida, koji su rastvoreni u ćelijskom soku pokožice jabuke. Kod crvenih sorti od antocijana je najprisutniji cijanidin-3-galaktozid,

pigment crvene do crveno-ljubičaste dopunske boje, kojeg najviše ga ima prvom i drugom sloju (epidermisu i subepidermisu), a manje u dubljim slojevima pokožice ploda jabuke. Pored njega prisutni su i cijanidin-3-arabinozid i cijanidin-7-arabinozid, pa se ovi pigmenti ekstrahuju pri proizvodnji soka. Ipak u plodovima jabuke bojenih materija ima u vrlo malim količinama. Antocijana ima najviše u fazi pune zrelosti, posebno kod crvenih mutanata standardnih sorti jabuke (Mišić, 1994). Jedan deo antioksidativnog kapaciteta soka jabuke potiče od hlorogene kiseline i floretina (Miller i Rice-Evans, 1997). U uzorcima kaše i koncentrisanim sokovima jabuke detektovani su različiti kvercetin i floretin glikozidi, koji utiču na antioksidativni kapacitet voćnog soka jabuke (Bengoechea et al., 1997).

## 2.4. LEKOVITE I AROMATIČNE BILJKE

Upotreba lekovitih biljaka u prevenciji i lečenju različitih oboljenja stara je koliko i samo čovečanstvo. Od davnina, ljudi su tražili olakšanja za svoje zdravstvene tegobe u lekovima iz prirode. Akumulirana iskustva ovim načinom lečenja, postepeno su se pretakala u narodne tradicionalne medicine. Kao i u ostalim zemljama, i u Srbiji tradicija upotrebe lekovoitih biljaka je sastavni deo istorije i zdravstvene kulture naroda.

Vremenom, korišćenje lekovitih biljaka je dobijalo svoje naučno utemeljenje. Koncept racionalne fitoterapije u velikoj meri je izmenio pristup u korišćenju lekovitih biljaka, a samim tim i uticaj na kvalitet istraživanja i razvoj pravne regulative koja uređuje ovu oblast. Drugim rečima, ovaj koncept je premestio fokus fitoterapije sa biljne droge (biljna sirovina) na standardizovane ekstraktivne izolate. Veliki broj biljnih droga oficinalno je u evropskim i nacionalnim farmakopejama. Mnoštvo kapitalnih monografija o biljnim drogama, a naročito monografije EMA (*European Medicines Agency*) predstavljaju siguran vodič za primenu izolata lekovitih biljaka u prevenciji, lečenju i olakšavanju različitih zdravstvenih tegoba.

Izolati lekovitih biljaka, osim u terapijske svrhe, koriste se i u različitim industrijskim granama: prehrambenoj, kozmetičkoj, hemijskoj itd. U prehrambenoj industriji se koriste u pekarstvu, u proizvodnji alkoholnih i bezalkoholnih pića, konditorskih proizvoda i sl. Biljne droge i ekstrakti su korigensi mirisa, ukusa i boje, dok pojedini svojim aktivnim sastojcima poboljšavaju performanse samog prehrambenog proizvoda.

Odabrane vrste lekovitih biljaka, analizirane u ovom radu (čiji su ekstrakti dodavani voćnim sokovima), predstavljene su kroz prikaz biološkog izvora, kratkog opisa biljke, biljne droge, njenog hemijskog sastava, delovanja i upotrebe.

### 2.4.1. Ehinacea

Biološki izvor: *Echinacea purpurea* (L.) Moenich, Asteraceae

*Echinaceae purpureae herba* – herba ehinacee



Slika 10. Herba ehinacee

Narodna imena su: ehinacea, ružičasta pupavica.

Opis biljke: Ehinacea vrste su višegodišnje zeljaste biljke, snažnog vretenastog korena, stabljike do metar visine. Listovi su ovalni do lancetasti više ili manje nazubljenog oboda (zavisno od vrste). Cvasti su pojedinačne i krupne. U unutrašnji su tubularni, purpurni cvetovi, a po obodu su dugi, jezičasti cvetovi purpurne, ljubičaste ili svetlo roze boje. Lekovita svojstva imaju vrsta *E.purpurea*, *E. palilida* i *E. angustifolia*.

Kao lekoviti deo koristi se nadzemni deo biljke u cvetu *Echinaceae purpureae herba*.

Hemijski sastav: Ehinacea spada u biljke bogate fenolnim heterozidima. Sadrži derivate kofeinske kiseline, polisaharide, male količine etarskog ulja, poline, alkaloida.

Upotreba: Ispoljava imunostimulirajući efekat povećavajući otpornost organizma, deluje protivupalno, a spolja se koristi kod različitih kožnih promena (Kovačević, 2004; Gruenwald et al., 2007).

### 2.4.2. Kamilica

Biološki izvor: *Matricaria chamomilla* L., (*M. Recutita* L.), Asteraceae

*Chamomillae flos* (*Matricariae flos*) – cvast kamilice



Slika 11. Cvet kamilice

Narodna imena su: kamilica, titrica, bela rada, prstenak.

Opis biljke: Kamilica je jednogodišnja biljka, visine do 60 cm. Stabljika je uspravna, granata, koren tanak i vretenast. Listovi su 2-3 puta perasto deljeni sa linearnim režnjevima. Glavičaste cvasti su pojedinačne, involukrum je poluloptast, listići involukruma zeleni. Po obodu glavice nalaze se beli jezičasti, a po sredini žuti cevasti cvetovi. Plod je ahenija, papus nije razvijen.

Kao lekoviti deo biljke koriste se glavičaste cvasti *Chamomillae flos*.

Hemijski sastav: Kamilica spada u grupu aromatičnih biljaka. Cvast sadrži 0,3-1,5% etarskog ulja, seskviterpenske laktone, flavonoide, kumarine, gorke sastojke, sluzi itd.

Upotreba: Cvast kamilice ispoljava karminativno, spazmotično, blago sedativno, antiinflamatorno, antiseptično. Spolja se koristi za lečenje upala kože i sluzokože (Sarić, 1989; Tasić, 2009; Kišgeci et al., 2009).

### 2.4.3. Zova

Biološki izvor: *Sambucu snigra* L., Sambucaceae

*Sambuci flos*, *S. fructus*– cvet i plod zove.



Slika 12. Cvet zove

Narodna imena su: zova, bazga, crna zova, zofa.

Opis biljke: Zova je žbun ili nisko drvo. Listovi su neparno perasti, sa 2-3 para listića. Cvetovi u gustim vršnim štitolikim cvastima imaju karakterističan miris. Cvetovi su beli do žućkasto-beli. Plod je okrugla, crno-ljubičasta koštunica, sa crvenim sokom.

Kao lekoviti deo biljke koriste se cvet *Sambuci flos* i zreo plod *S. fructus*.

Hemijski sastav: Zove pripada grupi flavonoidnih heterozida. Cvet sadrži flavonoide, sluzi, tanine, etarsko ulje, organske kiseline i dr. U plodu ima šećera, organskih kiselina, tanina, vitamina.

Upotreba: Cvet se koristi kao dijaforetik i diuretik, ublažava simptome prehlade. Plod je laksans (Sarić, 1989; Tasić et al., 2009; Kišgeci et al., 2009).

#### 2.4.4. Kopriva

Biološki izvor: *Urtica dioica* L., Urticaceae

*Urticae folium cum radix*– list i koren koprive



Slika 13. List koprive

Narodna imena su: velika kopriva, obična kopriva, žara.

Opis biljke: Kopriva je višegodišnja zeljasta biljka. Rizom je razgranat, a stabljika četvrtasta i uspravna. Listovi su naspramni, jajasto-lancetasti, testerasto nazubljeni. Stabljika i listovisu pokriveni žarnim dlakama. Cvetovi su zelenkasti i sakupljeni u prividne klasove ili rese. Plod je orašica.

Kao lekoviti deo biljke koriste se list *Urticae folium* i koren *U. radix*.

Hemijski sastav: Kopriva spada u biljke bogate vitaminima i mineralima. List koprive sadrži hlorofil, organske kiseline (oksalna, mravlja), amine, flavonoide, karotenoide, vitamine (A, C, K, B, PP, E), minerale (Fe, Mn, Cu), tanine, kumarine itd. U korenu su prisutni polisaharidi  $\beta$ -sitosterol, lektini, kumarini, triterpeni.

Upotreba: List koprive je diuretik, antidijaroik, antihemoragik. Koren se koristi kod benignog adenoma prostate (Sarić, 1989; Tasić et al., 2009; Kišgeci et al., 2009).

### 2.4.5. Šipurak

Biološki izvor: *Rosa canina* L., Rosaceae

*Cynosbati fructus* – plod divlje ruže, šipurak



Slika 14. Plod šipurka

Narodna imena su: šipurak, šipak, divlji šipak, divlja ruža, pasja ruža.

Opis biljke: Divlja ruža je žbun sa povijenim ili uspravnim granama obraslim srpastim bodljama. Listovi su neparno perasti, sa 5-9 glatkih, eliptičnih listića testerastog oboda. Cvetovi su pojedinačni ili u cvastima. Čašični listići posle cvetanja se pripijaju uz plod. Kruničnih listića je 5, bledo-ružičaste su boje. Plod šipak ili šipurak je zbirna orašica, narandžasto-crvene do tamno-crvene boje. Sastoji se od proširene mesnate cvetne lože, koja zatvara mnogobrojne plodove orašice (pogrešno se nazivaju semenke).

Kao lekoviti deo biljke koriste se nepotpuno zreo osušen lažni plod (pseudofructus) *Cynosbati fructus*, raznih vrsta divlje ruže.

Hemijski sastav: Plod divlje ruže spada u biljkne droge bogate vitaminima. Šipurak sadrži vitamin C (najmanje 0,3%), karotenoide, vitamine P, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP, E, K, tanine, pektine, voćne kiseline, šećere, flavonoide (rutin), etarsko ulje, mineralne materije.

Upotreba: Šipurak se koristi kao tonik, blagi adstrigens, antiskorbutik, blagi diuretik, holagog. Koristi se najčešće kao čaj za uživanje (Sarić, 1989; Martinović i Kojić, 1998; Tasić et al., 2009; Kišgeci et al., 2009).



### 2.4.6. Matičnjak

Biološki izvor: *Melissa officinalis* L., Lamiaceae

*Melissae folium*–list matičnjaka



Slika 15. List matičnjaka

Narodna imena su: matičnjak, čelina trava, limunka, pčelarica, medenka.

Opis biljke: Matičnjak je razgranata višegodišnja zeljasta biljka mirisa na limun. Listovi su naspramno raspoređeni, liska je jajasta, po obodu testerasto nazubljena. Cvetovi su sakupljeni po 6-10 u dihazije u pazuhu listova. Čašica je cevasto-zvonasta, dvousna, krunica je bele ili ruđičaste boje. Plod je orašica.

Kao lekoviti deo biljke koriste se list *Melissae folium*.

Hemijski sastav: Matičnjak spada u grupu aromatičnih biljaka. List sadrži etarsko ulje, 4% rozmarinske kiseline, flavonoide, gorke materije, triterpene, tanine.

Upotreba: Koristi se kao sedativ, karminativ, aromatik, antispazmodik, a ispoljava i antibakterijski efekat (Sarić, 1989; Tasić et al., 2009; Kišgeci et al., 2009).

### 2.4.7. Aronija

Biološki izvor: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, Rosaceae

*Aroniae fructus* – plod aronije



Slika 16. Plod aronije

Narodna imena su: aronija, crna oskoruša.

Opis biljke: Aronija je žbun ili omanje drvo, sa tamnom stabljikom, jajastim, 3-7 cm dugačkim, glatkim listovima, i cvetovima bele do roze boje koji cvetaju u maju. Plodovi su tamno ljubičaste bobice koje sazrevju u julu i septembru (Kokotkiewicz et al., 2010).

Kao lekoviti deo biljke koriste se plod *Aroniae fructus*.

Hemijski sastav: Aronija spada u biljke bogate antocijanima. Sadrži šećere (glukoza, fruktoza, saharoza), organske kiseline, pektine, fenolna jedinjenja, celulozu, vitamine (C, karoten, E, K, PP, B2, B9, folna kiselina), tanine (Milatović et al., 2011).

Upotreba: Koristi se kao tonik, roborans, a u prehrambenoj industriji koristi se za pripremu soka, džemova (Kokotkiewicz et al., 2010).

### 2.4.8. Rastavić

Biološki izvor: *Equisetum arvense* L., Equisetaceae

*Equiseti herba*– nadzemni deo rastavića



Slika 17. Herba rastavića

Narodna imena su: rastavić, poljski rastavić, preslica, konjorep, barska jela.

Opis biljke: Rastavić je višegodišnja zeljasta biljka sa razgranatim člankovitim rizomom. Nerazgranata fertilna plodna stabljika se razvija pre sterilnih, bledomrke je boje i završava se sporofilnim klasom. Posle rasejavanja spora stabljika se osuši. Sterilni izdanci su zeleni, člankoviti i pršljenasto razgranati. Stabljika je šuplja, rebrasta, sa ljuspastim listićima sraslim u lisni rukavac, koji se nalaze se na svakom članku stabla.

Kao lekoviti deo biljke nadzemni deo biljke *Equiseti herba*.

Hemijski sastav: Rastavić spada u biljke bogate mineralnim materijama. Sadrži mineralne materije preko 10%, od toga najviše silicijumove kiseline, soli kalijuma, zatim flavonoide, tragove alkaloida, razne organske kiseline.

Upotreba: Koristi se kao diuretik, protiv upala mokraćnih puteva, upale bubrega (Sarić, 1989; Tasić et al., 2002; Kišgeci et al., 2009).

### 2.4.9. Heljda

Biološki izvor: *Fagopyrum esculentum* Moench., Polygonaceae

*Fagopyri herba*– herba heljde



Slika 18. Herba heljde

Narodna imena su: heljda, eljda, elsa, hajdina, golokud.

Opis biljke: Heljda je jednogodišnja zeljasta biljka sa razgranatom stabljikom. Listovi su srcoliko-streličasti sa zašiljenim vrhom. Cvetovi su sitni, ružičasti ili beli, smešteni u vršne ili pazušne cvasti. Plod je orašica (zrno) trouglastog oblika tamne ljuske.

Kao lekoviti deo biljke koristi se nadzemni deo biljke u cvetu *Fagopyri herba*.

Hemijski sastav: Heljda spada u biljke bogate heterozidima. Sadrži flavonoidne heterozide rutin (do 6,0%) kvercitrin, hiperozid, zatim diantron fagopirin, aromatične kiseline, mineralne materije, vitamini, lipide.

Upotreba: Sveža herba se koristi kao industrijska sirovina za dobijanje rutina. Pojačava tonus vena i deluje antiedematozno, ispoljava blagi diuretični efekat. Koristi se za ljudsku ishranu, ali i kao stočna hrana (Sarić, 1989; Tasić et al., 2009).

### 2.4.10. Japanski bagrem

Biološki izvor: *Sophora japonica* L., Fabaceae

*Sophorae flos* – cvet japanskog bagrema



Slika 19. Cvet japanskog bagrema

Narodna imena su: japanski bagrem, sofora, japanska sofora.

Opis biljke: Japanski bagrem je drvenasta biljka sa gustom dekorativnom krošnjom i zelenim granama. Listovi su perasto deljeni kao kod običnog bagrema. Cvetoci su sitni, beličasti sakupljeni u velike metlice. Plod je sočna valjkasta mahuna.

Kao lekoviti deo biljke koristi se cvet *Sophorae flos*.

Hemijski sastav: Japanski bagrem spada u grupu heterozidih biljaka. Bogat je izvor rutina i dugih flavonoidnih heterozida.

Upotreba: Koristi se za ekstrakciju rutina. Ima povoljan efekat na krvne sudove. Veoma je cenjeno medonosno drvo (Tucakov, 1996).

### 2.4.11. Srdačica

Biološki izvor: *Leonurus cardiaca* L., Lamiaceae

*Leonuri herba* – herba srdačice



Slika 20. Herba srdačice

Narodna imena su: srdačica, srčanik, srdačac, srčenica, kopriiva od srca, koprivica.

Opis biljke: Srdačica je višegodišnja zeljasta biljka, sa četvorougonom stabljikom. Listovi su prstasto deljeni na 3-7 grubo nazubljenih režnjeva. Cvetovi suružičasti sedeći, grupisani u 10-20 gustih prividnih pršljenova. Plod je merikarpijum sa 4 orašice.

Kao lekoviti deo biljke koristi se nadzemni deo biljke u cvetu *Leonuri herba*.

Hemijski sastav: Srdačica spada u biljke bogate heterozidima fenolkarbonskih kiselina. Sadrži heterozide, u maloj količini gorke materije, alkaloidne organske kiseline, tanine.

Upotreba: Ispoljava sedativno (kardiosedativ, deluje umirujuće za srčani mišić), hipotenzivno i antispazmotično dejstvo (Tasić et al., 2009).

### 2.4.12. Grčko seme

Biološki izvor: *Trigonella foenum-grecum* L., Fabaceae

*Foenugraeci semen* - seme piskavice, grčko seme



Slika 21. Grčko seme

Narodna imena su: piskavica, grčko seme, kozji rog, sfinda.

Opis biljke: Piskavica je jednogodišnja zeljasta razgranata biljka. Listovi su tročlani sa lisnom drškom, listići nenazubljeni obrnuto-jajasti. Cvetovi su krupni, belo-žućkasti, pojedinačni ili po dva postavljeni pazušno, skoro sedeći. Plod je mahuna linearna, dugačka oko 7 cm, prava ili savijena u obliku roga sa 10-20 semena.

Kao lekoviti deo biljke koristi se seme *Foenugraeci semen*.

Hemijski sastav: Spada u biljke bogate sluzima i saponozidima. U endospermu ima do 45% sluzi, zatim sadrži saponine, proteine, masno ulje, gorkih sastojaka, flavonoida i dr.

Upotreba: Koristi se kao emolijens, mucilaginozum, roborans, kod privremenog gubitak apetita, a spolja za simptomatski tretman malih kožnih upala (Sarić, 1989; Kišgeci et al., 2009).

### 2.4.13. Trava iva

Biološki izvor: *Teucrium montanum* L., Lamiaceae

*Teucree montani herba*– nadzemni deo trave ive u cvetu



Slika 22. Trava iva

Narodna imena su: trava iva, iva-trava, ivica, dubaćac, gorski cmiļ, dućac.

Opis biljke: Trava iva je nizak žbunić sa poleglim stabljikama i vršnim delovima koji se izdižu nagore. listovi su linearno lancetasti, celi i blago povijeni ka naličju. Cvetovi su sakupljeni u dihzazije u pazuhu listova, svi zajedno složeni u poluloptaste glavice na vrhovima grančica. Čašica je bleđa ili ljubičasta, a krunica žućkasta, oko dva puta duža od čašice. Plodići su sitni neznatno mrežasti.

Kao lekoviti deo biljke koriste se nadzemni deo biljke u cvetu *Teucree montani herba*.

Hemijski sastav: Trava iva spada u biljke bogate gorkim sastojcima. Sadrži flavonoide, gorke materije, tanine, etarsko ulje.

Upotreba: Koristi se kao narodni lek za ublažavanje različitih tegoba organa za varenje i disanje. Deluje kao amarum-aromatikum, stomaik, holagog, tonik (Tasić et al., 2009).



#### 2.4.14. Majkina dušica

Biološki izvor: *Thymusserpyllum*L., Lamiaceae

*Serpylli herba*–herba majkine dušice



Slika 23. Herba majkine dušice

Narodna imena su: majkina dušica ili bakina dušica.

Opis biljke: Majkina dušica je višegodišnji mali žbun karakterističnog prijatnog mirisa. Stabljika je puzeća sa izduženim stolonama, na vrhu sa sterilnom rozetom listova. Sa stabla se dižu mnogobrojne cvetne grane pokrivene dlakama. Listovi su mali, jajasto eliptični, po obodu celi, tačkasti, od mnogobrojnih žlezdastih dlaka. Cvetovi su najčešće u okruglastim cvastima. Čašica i krunica su dvousnati. Plodići su glatki.

Kao lekoviti deo biljke koriste se nadzemni deo biljke u cvetu *Serpylli herba*.

Hemijski sastav: Majkina dušica spada u grupu aromatičnih biljaka. Sadrži etarsko ulje do 0,6 %, tanine do 7 %, gorka jedinjenja, flavonoide i dr.

Upotreba: Veoma cenjen narodni lek. Koristi se kao blagi ekspektorans, bronhospazmolitik i antiseptik, a spolja za kupke (Sarić, 1989; Tasić et al., 2009).

## 2.5. IZRADA BILJNIH EKSTRAKTIVNIH IZOLATA

Estraktivni preparati lekovitih i aromatičnih biljaka dobijaju se različitim tehnološkim postupcima od kvalitetne biljne sirovine.

### 2.5.1. Prikupljanje i sušenje lekovitog i aromatičnog bilja

Kako bi se dobila biljna droga što boljeg kvaliteta vrlo je važno da se berba bilja vrši po lepom i sunčanom vremenu, prema tzv. „biljnim kalendarima“. Nakon toga ubrano bilje se u što kraćem vremenskom intervalu nosi na sušenje, gde se vodi računa o tome da im se sačuva boja i hemijski aktivne materije. Količina vlage u osušanim biljnim delovima, ne sme biti veća od 14%. Na taj način biljne sirovine se konzervišu. Na kvalitet osušanih biljnih sirovina pored vlage utiče i kiseonik, svetlost, toplota, živi organizmi, kao i razni mirisi (Kišgeci et al., 2002).

### 2.5.2. Ekstrakcija lekovitog i aromatičnog bilja

Ekstrakcija predstavlja izdvajanje farmakološki aktivnih materija iz biljnog tkiva uz pomoć selektivnog rastvarača. Estraktivni izolati su ekstrakti i etarska ulja.

Ekstrakti su koncentrovani biljni izolati tečne (tečni ekstrakti i tinkture), polučvrste (meki ekstrakti) ili čvrste (suvi ekstrakti) konzistencije. Izrađuju se odgovarajućim postupcima maceracije, dvostruke maceracije, digestije, perkolacije, reperkolacije, ultrazvične, cirkularne, protivstrujne, vrtložne, mikrotalasne ekstrakcije, ekstrakcije superkritičnim fluidima i dr.

Ekstrakti koji se dodaju prehrambenim proizvodima izrađuju se upotrebom sledećih ekstragenasa: voda, smeša vode i etanola, vode i propilen glikola ili masna ulja. Farmakopejske metode izrade tečnih ekstrakata (*Extracta fluida*) su maceracija i perkolacija. Perkolacija je kontinuirana ekstrakcija propisano usitnjene droge na sobnoj temperaturi, koja se izvodi kontinuiranim protokom rastvarača kroz perkolator. Maceracija je jednostruka ekstrakcija usitnjene biljne droge sa propisanim rastvaračem na sobnoj temperaturi. Maceracijom se najčešće dobijaju tinkture (*Tincturae*). Dvostruka maceracija se izvodi uzastopno dva puta. Meki ekstrakti (*Extracta spissa*) su polučvrste konzistencije i dobijaju se delimičnim uparavanjem ekstragenasa iz tečnih ekstrakata. Suvi ekstrakti (*Extracta sicca*) su čvrste konzistencije, a dobijaju se uparavanjem ekstragenasa, zatim sušenjem i mlevenjem u fini prah.

Etarska ulja prema definiciji ISO standarda (*International Standards Organisation*), su proizvodi intenzivnog aromatičnog mirisa koji se dobijaju iz delova biljaka najčešće destilacijom pomoću vodene pare. Proces mehaničkog ceđenja i presovanja sirovog materijala se koristi za meke biljne droge koje imaju visoki sadržaj etarskog ulja. Primenuje se i ekstrakcija nepolarnim organskim rastvaračima. Toplim ili hladnim anfleraž postupkom dobijaju se najfinija etarska ulja, a princip je njihova adsorpcija iz sveže biljne droge na neutralne masti ili ulja a potom ekstrakcija etanolom. I etarska ulja se mogu dobiti ekstrakcijom superkritičnim fluidima (Kovačević, 2004).

## **2.6. AROMATIČNE MATERIJE U LEKOVITIM BILJKAMA I VOĆU**

Glavni sastojci aromatičnih biljaka su isparljive mirisne komponente etarskog ulja. Količina etarskog ulja kreće se u širokim granicama, npr. u lišću matičnjaka 0,05–0,10%, a u karanfiliću preko 10%. Etarska ulja se ne rastvaraju u vodi, a dobro se rastvaraju u etanolu, masnim uljima i mnogim organskim rastvaračima (etar, hloroform i drugi). Imaju svojstven miris, a ukus je obično ljut i aromatičan. Hemijski sastav etarskih ulja je različit, to su vrlo složene smeše raznih alifatskih, hidroaromatskih i aromatskih jedinjenja, a glavne sastojke čine razni terpeni i njihovi derivati (Sarić, 1989).

Aromatične biljke i etarska ulja se najviše koriste u hemijskoj i farmaceutskoj industriji, u proizvodnji lekovitih preparata, kozmetičkih i parfimerijskih proizvoda. Etarska ulja se koristi u prehrambenoj industriji (bezalkoholna i alkoholna pića, konditorski proizvodi, duvanska industriji) kao aromatici i korigensi (Isman, 2000).

Aromatične materije voća i povrća (estri, etri, alkoholi, aldehidi, ketoni, kiseline, terpeni) odlikuju se: lakom isparljivošću, složenim hemijskim sastavom i slabom rastvorljivošću u vodi. Mogu biti nosioci karakteristične arome, iako se nalaze u vrlo maloj koncentraciji. Zanimljivo je da od svih isparljivih organskih jedinjenja, sadržanih u aromi jagode, samo oko 7% otpada na one koji imaju tipičnu aromu jagoda. Ove važne komponente kvaliteta su lakoisparljive i na sobnim temperaturama, a posebno se gube zagrevanjem ili kao posledica hidrolitičkih i oksidacionih reakcija. Tada se dodatno mogu stvoriti i sekundarnih jedinjenja bez karakterističog mirisa ili

promenjenim mirisom. Aromatični sastojci biljaka najčešće se ekstrahuju etanolom, a zajedno sa njima mogu da budu ekstrahovane i boje (Niketić-Aleksić, 1982).

## **2.7. AKTIVNE MATERIJE LEKOVITIH I AROMATIČNIH BILJAKA**

U lekovitom i aromatičnom bilju nalazi se veliki broj različitih lekovitih sastojaka, poput alkaloida, glikozida, tanina, saponozida, etarskog ulja, vitamina, organskih kiselina, flavonoida i dr. Farmakološki aktivni biljni sastojci svrstavaju se u grupu sekundarnih metabolita, jer nastaju kao produkti sekundarnog metabolizma biljaka. Sva ovajedinjenja ili složeni kompleksi ispojavaju određena farmakološka svojstva koja povoljno deluju na zdravlje ljudi.

Alkaloidi predstavljaju složena organska jedinjenja koje karakteriše prisustvo azota u molekulu i bazni karakter. Najčeše su gorkog ukusa, u malim dozama su lekovi a u većem otrovne supstance. Biljke sa alkaloidima se ne koriste za samomedikaciju niti kao dodaci prehranbenim proizvodima.

Heterozidi su značajna grupa biljnih metabolita, čine veliku grupu organskih jedinjenja, čiji se molekuli sastoje iz nešećernog i šećernog dela. Hidrolizom glukozidne veze nastaje šećerni deo (jedan ili više molekula monosaharida) i nešećerna komponenta (aglikon). Ispoljavaju različita farmakološka delovanja antimikrobna, antiinflamatorna, antioksidantna, hepatoprotektivna i mnoga druga delovanja. Heterozidi se dele na sledeće grupe prema hemijskoj strukturi aglikona: fenolni, kumarinski, lignanski, flavonoidni (izoflavonski heterozidi, antocijani i ksantonski heterozidi), hinonski, cijanogeni, sumporni, monoterpenski heterozidi (gorki heterozidi) i kardiotionični heterozidi.

Saponozidi su specifični sekundarni biljni metaboliti i predstavljaju komplekse šećera i aglikona-sapogenina. Najznačajnija je njihova površinska aktivnost i osobina da vodeni rastvori pene. U zavisnosti od hemijske prirode sapogenina, postoje dve osnovne vrste, triterpenski i steroidni saponozidi. Odlični su sekretolitici, antitusici, a ispoljavaju antiinflamatornoi diuretično delovanje.

Tanini su jedinjenja polifenolne prirode oporog ukusa i rastvorni u vodi. Na osnovu gradivnih jedinica postoje: hidrolizirajući, kondezovani i mešovitanini. Deluju antimikrobno, antidijaroično, spolja za ispiranje sluznica i manjih oštećanja kože.

Etarska ulja su specifični produkti sekundarnog metabolizma uglavnom viših biljaka. Biljke u kojima su glavni sastojci isparljivi mirisni proizvodi (etarska ulja) nazivaju se aromatične biljke.

U sastav etarskih ulja ulaze aromatična i alifatična jedinjenja, kao i dve klase terpenoida: monoterpeni i seskviterpeni. Mnoge biljke koje sadrže etarsko ulje, koriste se kao sirovine za dobijanje mirisa i drugih proizvoda parfimerijske industrije. Neke se upotrebljavaju u aromatizaciji hrane i u industriji bezalkoholnih i alkoholnih napitaka, poslastica, u duvanskoj industriji itd. Poseduju i druga medicini delovanja kao što su antiseptično i fungicidno, analgetično, emolijentno, antireumatsko (lokalno) i dr.

Lipidi su produkti primarnog metabolizma ćelije. Predstavljaju smeše estara masnih kiselina sa glicerolom (gliceridi masnih kiselina). Masne materije u živim organizmima predstavljaju osnovne gradivne elemente ćelijskih membran. Masti i masna ulja se nalaze u semenu i pulpi plodova i predstavljaju rezervne hranljive materije koje omogućavaju klijanje i razviće nove biljke. Masna ulja ispoljavaju povoljan efekat na epitelizaciju, reumatizam, moćni su purgativi.

Ugljeni hidrati ili šećeri su, takođe, primarni produkti metabolizma biljaka i veoma su značajni za sva živa bića. Zajedno sa proteinima i mastima predstavljaju izvor energije za ćeliju. Po složenosti molekula dele se na monosaharide, disaharide, oligosaharide i polisaharide. Monosaharidi i disaharidi su značajni kao šećerna komponenta heterozida. Skrob je polisaharid koji predstavlja najčešći oblik skladištenja šećera u biljnom tkivu i ima ga do 75% u semenu različitih vrsta žita. Inulin se akumulira u podzemnim organima pojedinih biljaka. Najpoznatiji izvori za dobijanje inulina je krtola jerusalimske artičoke.

Heteropolisaharidi (heterogeni polisaharidi ili hidrokoloide) su prirodni sastojci (sluzi) ili eksudativni produkti koji nastaju posle oštećenja biljnog tkiva (gume). Koriste se eksterno i interno za oblaganje i zaštitu sluznica i kože. Sluzi (Mucilago) su po svojoj strukturi heteropolisaharidi, normalni sastojci biljne ćelije. Upotrebljavaju se za lečenje zapaljenja kože i sluzokože, za lečenje organa za disanje i kao laksantna sredstva (Sarić, 1989; Kišgeci, 2002; Kovačević, 2004).

Vitamini su prirodna organska jedinjenja koja su neophodna u malim količinama za rast, normalno funkcionisanje organizma i održavanje zdravlja čoveka. Podeljeni su na osnovu rastvorljivosti na liposolubilne i hidrosolubilne. U hidrosolubilne vitamine

spadaju vitamin C, vitamini B grupe, a u liposolubilne vitamini A, D, E, K. Imaju značajnu ulogu u jačanju organizma, povećanje otpornosti prema bolestima i raznim štetnim uticajima. Vitamin A ima blagotvorni efekat na epitelna tkiva, vitamin D na apsorpciju kalcijuma i fosfora, kalcifikaciju kostiju, vitamin E je dobar antioksidans, vitamin K1 ima udeo u sintezi protrombina i koagulaciji krvi, vitamin P smanjuje propustljivost kapilara i povećava njihovu elastičnost, vitamini B kompleksa su neophodni koenzimi u metaboličkim procesima.

Veoma važnu ulogu u stimulisanju prirodnih odbrambenih snaga organizma prema infekcijama ima vitamin C (askorbinska kiselina), koji je najrasprostranjeniji hidrofilni biljni antioksidans. Posebno bogati u vitaminu C su crne i crvene ribizle, šipurak, jagoda, zeleni delovi biljaka. Prisustvo askorbinske kiseline, kao moćnog antioksidansa u plodovima voća, koja deluje samostalno ili u kombinaciji sa različitim fenolnim komponentama doprinosi ukupnom antioksidativnom kapacitetu voća (Moyer et al., 2002a). Vitamin C pomaže kod krvarenja, anemija, prehlade i mnogih drugih oboljenja. Takođe ima dejstvo na smanjenje oštećenja DNK lanca, ćelijskih zidova i pojavu katarakte (Benvenuti et al., 2004). Vitamin C u metabolizmu žive ćelije ima značajnu ulogu u procesima oksido-redukcije. Askorbinska kiselina reverzibilno prelazi u dehidroaskorbinsku kiselinu, gde su obe kiseline biološki aktivne, ali su vrlo nestabilne, lako se oksiduju i gube vitaminska svojstva. Posebno su osetljive na dejstvo oksidaza, svetlosti, alkalija, metalnih jona (gvožđe, bakar), povišenih temperatura (Sarić, 1989). Antioksidativna svojstva vitamina C proizilize iz sposobnosti da deluje kao donor H-atoma i elektrona, pa je dobar hvatač mnogih slobodnih radikala i neradikalnih vrsta (Lee et al., 2004). Pretpostavlja se, da je osnovna uloga vitamina C u ćeliji, uloga redukcionog sredstva, a neophodan je i pri sintezi karnitina, neurotransmitera i kolagena (Naidu, 2003). Posledice nedostatka vitamina C su krtost kapilara, slabljenje imuno sistema i skorbut. Preporučena dnevna doza vitamina C iznosi 100 - 120 mg (Malbaša, 2004).

Ostale droge, bogate nižim alifatičnim kiselinama su plodovi borovnice, crne i crvene ribizle, maline, šljive, višnje, nara, drena, dunje, crnog duda, citrusi, zatim mesnati čašični listići hibiskusa bogati su izvori nižih alifatičnih kiselina (limunska, jabučna, vinska). Breza, kopriva, hajdučka trava, grčko seme, rastavić, ovas su biljne sirovine bogate mineralnim materijama.

## 2.8. FARMAKOLOŠKA DELOVANJA AKTIVNIH MATERIJA IZ LEKOVITIH BILJAKA

Za izradu mešavine ekstrakata koje su dodavane formulisanim kombinacijama voćnih sokova, korišćeni su tečni ekstrakti šipurka, ploda aronije aronije i lista koprive.

Lekovitost **šipurka** se zasniva na aktivnostima prisutnih vitamina a naročito vitamina C, tanina, pektina, organskih kiselina, šećera, flavonoida (rutina), minerala. U zimskim mesecima se koristi kao okrepljujući i osvežavajući napitak. Šipurak se upotrebljava za prevenciju od nazeba i infekcija, povećanje otpornosti organizma, olakšanje tegoba digestivnog trakta, urinarnog trakta, kod reumatskih tegoba. Pektini i organske kiseline su odgovorni za diuretično i laksativno delovanje. Sastojci iz šipurka ispoljavaju snažno antioksidantno i antiinflamatorno delovanje (Mišan et al., 2013). Vitamin C je termolabilan vitamin, pa se sušenjem šipurka degradira (Paunović et al., 2014a). Zbog svojih nabrojanih svojstava, a i zbog senzornog uklapanja u mešavine voćnih sokova, ekstrakt ploda divlje ruže je dodavan i sve tri formulisane kombinacije voćnih sokova („Fit“, „Kardio“ i „Imuno“).

**Plod aronije**, kao što je napomenuto, je bogat antocijanima. Sadrži šećere, organske kiseline, pektinske materije, fenolna jedinjenja, celulozu, vitamine, tanine. Zbog prisutnih sastojaka snažan je tonik, roborans, diuretik. Ispoljava signifikantnu imunomodulatornu i antiinflamatornu aktivnost (Ho et al., 2014). Antocijani su snažni antioksidansi. Nekoliko studija ukazuju da je antioksidativni efekat antocijana odgovoran za antikancerogeno, antimutageno, antidijabetično delovanje (Tadić et al., 2008). Antocijani imaju važnu ulogu u prevenciji kardiovaskularnih oboljenja. U jednom eksperimentu, praćen je uticaj ishrane bogate antocijanima tokom perioda od 14 godina i potvrđeno je da postoji značajno smanjenje rizika pojave hipertenzije (Cassidy et al., 2011). Pektin i kiseline u aroniji su odgovorni za diuretično i laksativno delovanje.

**List koprive** se koristi zelen-sirov (mladi listovi su sastavni delovi mnogih recepata zdrave hrane), zamrznut, osušen u vidu soka, čajnog napitka, fitopreparata (Upton i Ayu, 2013). Zahvaljujući prisutnim aktivnim sastojcima koristi se kao tonik, antihemoragik, diuretik, antidijaroik. List koprive pored herbe rastavića i semena piskavice, smatraju se značajnim izvorom mineral, a naročito gvožđa, pa se koriste u prevenciji i ublažavanju tegoba kod nutritivne anemije (Schilcher i Kammerer, 2000).

Pozitivni efekti ekstrakta lista ili herbe koprive u korelaciji su sa prisustnim fenolnim jedinjenjima (kofeinska, jabučna, hlorogena kiselina, rutin, izokvercitrin) i njihovog antioksidativnog potencijala. Prisustvo vitamina C pojačava ovaj potencijal (Nencu et al., 2013). List koprive sadrži vitamin B<sub>5</sub> (pantotenska kiselina), koji ima pozitivno dejstvo kod hroničnih zapaljenja organa za varenje, jer povećava otpornost sluznica protiv infekcija, a povoljno deluje na epitelizaciju kože kod opekotina. Zeleni listovi koprive bogati su i vitaminom K<sub>1</sub> (filohinon, fitomenadion, koagulacioni vitamin i antihemoragični vitamin), najvažnijim od vitamina K grupe. Vitamini K-grupe se koriste za zaustavljanje krvarenja (Sarić, 1989). Ekstrakti koprive mogu biti su korisni za lečenje ili sprečavanje sezonskih alergija, alergijskog rinitisa i drugih inflamatornih stanja (Alberte et al., 2010).

**Herba matičnjaka** je popularan narodni biljni lek, ima povoljno dejstvo na nervni sistem, sposobnost opuštanja i umirenja. Pripisuju mu se sedativno delovanje kod blažih oblika nesanicice, spazmolitično i antibakterijsko svojstvo, olakšava simptome prehlade, poboljšava opštu cirkulaciju, a ispoljava i antivirusno delovanje (WHO, 2001). Ublažava tegobe poremećaja funkcije gastrointestinalnog i kardiovaskularnog sistema nastale usled uznemirenosti, ima povoljan efekat na smanjenje tegoba migrene (Emamghorishi i Talebianpour, 2009). Polifenolna jedinjenja su odgovorna njegovu lekovitost.

Zbog svojih dokazanih benefita po zdravlje ljudi i dobre senzorne prihvatljivosti, ekstrakt lista matičnjaka je dodat u mešavine voćnih sokova za održnje kondicije gastrointestinalnog i kardiovaskularnog sistema.

### **2.8.1. Lekovite biljke koje povoljno deluju na metabolizam**

Metabolički sindrom je uobičajeni poremećaj koji je rezultat povećane gojaznosti. Gojaznost stanovništva u sveta poprima razmere epidemije, jer je udružena sa pojavom čitavog niza zdravstvenih komplikacija. Njega karakteriše povišen krvni pritisak, visok nivo šećera, holesterola i triglicerida u krvi, višak telesne masti oko struka, koji se javljaju zajedno. Osobe kojima je dijagnostikovao metabolički sindrom poseduju visok rizik od kardiovaskularnih oboljenja, moždanog udara i dijabetesa tipa 2. Osnovni pristup je smanjenje težine i povećanje fizičke aktivnosti . Postoji opšta saglasnost da bi osobe sa metaboličkim sindromom trebalo da se pridržavaju seta



dijetetskih principa : niski unos zasić enih masti , trans masti i holesterola , smanjene potrošnje jednostavnih šećera i povećani unosi voća , povrća i integralnog zrna žitarica (Eckel et al., 2005). Dugotrajan unos bobičastih i jagodastih proizvoda može poboljšati lipidni profil u plazmi, smanjiti hroničnu upalu i podržati kardiovaskularno zdravlje , posebno kod populacije sa osnovnim metaboličkim profilom povećanog rizika za metabolički sindrom, oboljenje čiji je osnovni simptom gojaznost u predelu stomaka (Yang i Kortensniemi, 2015).

Lekovite biljke koje se ističu povoljnim dejstvom na ubrzanje metabolizma, pojačano mokrenje i pražnjenje creva, a samim tim i do održavanja ili smanjenja telesne mase su zova, kamilica i rastavić, pored napred pomenutih (šipurak, aronija i koprija).

**Cvet zove** se tradicionalno koristi kao dijaforetik – izaziva pojačano znojenje kod tegoba respiratornog trakta kao što su prehlade, diuretik- pojačava izlučivanje mokraće, laksans- olakšava pražnjenje creva, antiinflamatorni agens kod različitih upala. Cvet sadrži flavonoide, sluzi, tanine, etarsko ulje, organske kiseline, minerale (Tester, 2015). Zova ima lekovita svojstva povezana sa prisustvom polifenola, sa potencijalnim antioksidativnim svojstvima. Polifenoli ispoljavaju blagotvorne efekte na krvni pritisak i kardiovaskularni sistem uopšteno, smanjuju glikemiju, stimulišu imuni sistem, povećavajući aktivnost antioksidativnih enzima u krvnoj plazmi, uključujući i glutation, redukujući nivo mokraćne kiseline (Sidor i Gramza-Michałowska, 2015). Chrubasik et al. (2008) su pokazali da srednja težina, normalan krvni pritisak, fizičko i emocionalno blagostanje i kvalitet života konzumenata su značajno poboljšani nakon konzumiranja napitka koji je u sebi sadržao, između ostalog, sok od bobica zove obogaćene kstraktom ovog cveta, bogatog antocijanima. Upotreba prirodnih supstanci, prisutnih u zovi može značajno poboljšati imunološku odbranu kod dijabetesa kod eksperimentalnih pacova (Groza et al., 2010).

**Cvet kamilica** je veoma popularan tradicionalni biljni lek. S obzirom na sadrži etarska ulja, seskviterpenske laktone, flavonoide, kumarine, gorke sastojke, sluzi ispoljava široku lepezu delovanja. Deluje karminativno-protiv nadutosti u stomaku, spazmolitično-opušta tonus glatke muskulature, blago sedativno umirujuće, antiinflamatorno-protivupalno. Prijatan svojstven aromatičan ukus, sedativno delovanje, blagotvorni učinak kod tegoba gastrointestinalnog trakta, cvast kamilice se često koristi

u izradi fitopreparata a i kao dodatak namirnicama. Posедуje značajan antioksidantni potencijal (Mckay i Blumberg, 2006; Srivastava et al., 2010; Das, 2014).

**Herba rastavića** je biljna droga bogata mineralnim materijama, flavonoidima, saponozidima, organskim kiselinama, taninima i dr. Odličan je diuretik. Rastavić ima značajan kapacitet za uklanjanje vode iz tela, u takvoj situaciji može povećati mokrenje do 30% više nego što je uobičajeno. Ova činjenica čini da se koristi u sastavu većine proizvoda za smanjenje težine. Ovo svojstvo poseduje zbog nekoliko komponenata, među kojima je potrebno istaknuti ekvisetonin (saponozid) i kalijum, ali i drugih koji takođe doprinose tome, kao što su kalcijum, magnezijum, askorbinska kiselina i kofeinska kiselina. Primenuje se u lečenju tuberkuloze, bolesti bubrega, bešike i prostate, kao hematostatik za opsežne menstruacije, nazalne, plućne i gastrične hemoragije, sprečava i nagomilavanje masti na krvnim sudovima, pomaže kod krhkih noktiju i kod gubitka kose, kod reumatskih bolesti, gihta, kod lošeg zarastanja rana i čireva, kod otoka, preloma i promrzlina. Zbog sadržaja mineralnih materija se preporučuje anemičnim osobama (Čanadanović–Brunet et al., 2009; Sandhu et al., 2010).

### **2.8.2. Lekovite biljke koje povoljno deluju na zaštitu kardiovaskularnog sistema**

Uprkos padu smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti u svetu zadnjih decenija, infarkt miokarda i kardiovaskularne bolesti prilično su zastupljeni, uprkos brojnim programima intervencije i kampanjama promocije zdravlja. Razlog tome je nepotpuno shvatanje biohemijskih procesa koji su odgovorni za patogenezu bolesti. Faktori rizika poput pušenja, povišenog sadržaja holesterola i triglicerida u krvi i hipertenzije objašnjavaju samo deo učestalosti bolesti. Rezultati mnogih studija ukazuju na to da učestalosti kardiovaskularnih bolesti, mogu biti pripisane neadekvatnom unosu mikronutrijenata sa antioksidativnim potencijalom, kao što su fenolna jedinjenja, vitamini E, C, β–karoten (Duthie i Brown, 1994). Shahidi i Ambigaipalan (2015) su došli do zaključka da polifenoli imaju sposobnost da smanje krvni pritisak. Hlorogena kiselina, takođe, može doprineti smanjenju krvnog pritiska, a potvrđen je i njen pozitivan uticaj na kardiovaskularni sistem (Zhao et al., 2012).

Potrošnja hrane bogate polifenolima, kao što su voće i povrće, voćni sokovi, kakao, crveno vino, zeleni čaj, mogu predstavljati izbalansiranu ishranu u smislu

kardiovaskularne zaštite. Epidemiološke studije pokazuju značajnu inverznu korelaciju između potrošnje polifenola i kardiovaskularnog rizika.

Među lekovitim biljem sa potencijalnim kardioprotektivnim (zaštitnim) dejstvom ističu se herba srdačice i heljde i cvet japanskog bagrema.

**Herba srdačice** sadrži kao aktivne materije glikozide, u maloj količini alkaloida, gorke materije, organske kiseline, tanine. Ispoljava kardiosedativni efekat, deluje umirujuće na srčani mišić, hipotenzivno i antispazmotično dejstvo. Sprovedene studije su pokazale da ekstraktivni preparati srdačice imaju korisne efekte kod bolesti koronarnih arterija i cerebralne ishemije (Liu et al., 2012). Herba srdačice ima obećavajući terapeu tski efekat za tretiranje moždanog udara putem antioksidativnih mehanizama (Loh et al., 2009). Tradicionalno, ekstrakti ove biljke su korišćeni interno , uglavnom zbog stanja nervoznog srca i poremećaja digestije . Međutim, oni su takođe korišćeni za bron hijalnu astmu, klimakterijske simptome i amenoreju, ali i spolja za rane i upale kože. Farmakološke studije potvrdile su i antibakterijsku, antioksidativnu, antiinflamatornu i analgetičku aktivnost srdačice (Wojtyniak et al., 2012).

**Cvet japanskog bagrema** je bogat flavonoidnim heterozidima, naročito rutinom. Kako u postojbini Kini, Japanu, Koreji, tako i u ostalim delovima sveta koristi se kao tonik krvnih sudova, za smanjenje njihove permeabilnosti, otoka kod hemoroida, za zaustavljanje krvarenja. Oralna primena ekstrakta *S. japonica* (sadrži rutin, kvercetin, tanine) tokom pet dana smanjuje kapilarnu perameabilnost, vreme krvarenja i vreme koagulacije kod miševa, a smanjeno je i protrombinsko vreme pacova, čime se dokazuje hemostatski efekat. Dokazano je da izoramnetin iz cvetova japanskog bagrema deluje anti-hemostatski, povećava kapilarnu propustljivost i smanjuje agregaciju trombocita . Cvet japanskog bagrema smanjuje cerebralni infarkt delimično kao rezultat svojih antioksidativnih i antiinflamatornih aktivnosti. Upotrebom dekokta sofore u jugularne vene zečeva smanjuje se kontrakcija srčanih mišića i smanjuje brzina otkucaja srca . Kvercetin iz ove biljke utiče na stabilizaciju kapilarnog integriteta. Rutin, kvercetin i tanini, prisutni u ovoj biljci imaju i antioksidativno dejstvo (Ishida et al., 1989; Chen i Hsieh, 2010). Obimni eksperimentalni dokazi ukazuju na to da oksimatin iz ekstrata cveta japanskog bagrema može imati zaštitni efekat na kardiovaskularni sistem. Pokazalo se da oksimatin može zaštititi od miokardne fibroze izazvane akutnim infarktom miokarda (Shen et al., 2011).

**Herba heljde** je kao i cvet japanskog bagrema biljna sirovina za dobijanje rutina. Sadrži pored flavonoidna diantron fagopirin, zatim aromatične kiseline, mineralne materije, vitamini, lipide. Pojačava tonus zidova vena i deluje antiedematozno, a ispoljava blagi diuretični efekat. U velikoj studiji sprovedenoj u Kini, koja je obuhvatila 850 ljudi, proučavan je uticaj heljde na faktore rizika od kardiovaskularnih bolesti (krvni pritisak, ukupni holesterol u serumu, holesterol visoke gustine-lipoprotein (HDL) i trigliceridi) i dokazano da je unošenje heljde (u količini od 100 g dnevno) bilo povezano sa nižim serumskim holesterolom i holesterolom lipoproteina niske gustine. Ovi nalazi ukazuju na ulogu heljde u sprečavanju hipertenzije i hiperholesterolemije (He et al., 1995). Flavoni heljde deluju povoljno na sprečavanje cerebralne ishemije (Huang et al., 2006).

### **2.8.3. Lekovite biljke koje povoljno deluju na jačanje otpornosti organizma**

Imunološki sistem je odbrambeni sistem, čija je uloga zaštita organizma od mikroorganizama (bakterija, virusa, gljivica i parazita), toksina (Brenchley et al., 2006). Imunološki sistem se sastoji iz dve komponente, nespecifičnog (urođenog) i specifičnog (stečenog) imuniteta, koji se međusobno dopunjavaju. U slučaju slabije aktivnosti imunološkog sistema dolazi do imunodeficijencije, i mogu se razviti razne bolesti imunološkog sistema, koje mogu da dovedu do autoimunskih i inflamatornih bolesti, kao i kancera (Lennard et al., 1985). Pokazalo se da nekoliko klasa jedinjenja, kao što su polifenoli, proteini, polisaharidi, peptidi, lipopolisaharidi, glikoproteini i lipidni derivati, sadrže molekule sa potencijalnim efektima na imunološki sistem (Kolodziej i Kiderlen, 2005). Razne naučne studije *in vitro*, su pokazale da polifenolna jedinjenja daju sokovima različite fiziološke efekte uključujući i imunomodulatorne efekte (Beattie et al., 2005). Bub et al., (2003) su pokazali da konzumiranje sokova od jagodičastog voća, bogatog antocijanima i drugim fenolnim jedinjenjima, u količini od 330 ml dnevno, u trajanju od 2 sedmice poboljšava antioksidativni status, smanjuje oksidativno oštećenje DNK u limfocitima i stimuliše funkcije imunih ćelija.

Lekovite biljke koje se ističu povoljnim efektom na otpornost organizma, koje ispoljavju i roborantni tonični efekat, pored napred pomenutih šipurak, aronija i kopriva su ehinacea, trava iva, grčko seme i majkina dušica.

**Herba ehinace** je biljka bogata fenolnim heterozidima. Sadrži derivate kofeinske kiseline, polisaharide, male količine etarskog ulja, poline, alkaloida. U *in vivo* i *in vitro* studijama potvrđen je imunostimulirajući efekat ekstraktivnih izolata herbe ehinace. Pored ostalih mehanizama povećava se broj limfocita i leukocita, a kapacitet fagocitoze se povećava. Za ovakvo delovanje odgovorni su polisaharidi, ali i lipofilne frakcije biljne droge. Preporučuje se primena kod prehlada, dugotrajnih infekcija organa za disanje i izlučivanje, kada treba pojačati prirodnu odbrambenu sposobnost organizma (Kovačević, 2004).

**Trava iva** je omiljeni narodni lek. Zbog prisustva gorkih sastojaka, flavonoida, tanina i male količine etarskog ulja, ekstraktivni izolati ublažavanje različitih tegoba organa za varenje i disanje. Trava iva je snažan tonik, roborans, popravlja apetit, olakšava varenje hrane delujući kao stomahik i holagog (pojačava lučenje žuči) (Tasić et al., 2009).

**Grčko seme** je biljka bogata sluzima i saponozidima, sadrži još i proteine, masno ulje, gorke materije, flavonoide. Odličan je tonik roborans, jača organizam kod gubitka apetita, povećava broj crvenih krvnih zrnaca, olakšava varenje i iskorišćavanje belančevina. Daje se protiv rahitisa, iznemoglosti, šećerne bolesti i za povećanje laktacije (Mišan et al., 2013). Pored navedenih efekata grčko seme ispoljava i antiinflamatorno, antiulkusno i antipiretično delovanje (Ahmadiani et al., 2001)

**Majkina dušica** spada u grupu aromatičnih biljaka a sadrži, pored etarskog ulja bogatog timolom i karvakrolom, još i brojna fenolna jedinjenja koja ispoljavaju pozitivan efekat na zdravlje. To su fenolne kiseline (*p*-kumarinsku, kofeinsku, ferulinsku, ruzmarinsku, hlorogenu kiselinu), flavonoli (rutin, kvercetin), flavanoni (naringenin, hesperidin, eriodiktiol), flavoni (apigeniniluteolin, kao i njihove glukozide) (Marin et al., 2003; Boros et al., 2010). Koristi se kod oboljenja gornjeg respiratnog trakta. Ispoljava antimikrobno, bronhospazmolitično i sekretorno delovanje. Ekstraktivni izolati herba majkine dušice pored prisutnog timola i karvakrola deluju snažno antiseptično pa okrepljuju ceo organizam (Mišan et al., 2013).

## 2.9. ANTIOKSIDATIVNOST

Antioksidativnost namirnica je predmet velikog broja istraživanja, kako bi se pronašla jedinjenja koja mogu sprečiti ili usporiti efekte oksidativnog stresa.

Pod pojmom antioksidativni kapacitet podrazumeva se kapacitet neutralizacije aktivnosti slobodnih radikala koji je zasnovan na osobinama grupe enzima (superoksid dismutaze, katalaze, peroksidaze), fenolnih komponenata različitih hemijskih struktura (flavonoida, fenolnih kiselina, tanina) i vitamina (C, A, E) prisutnih u voću i bilju (Fang et al., 2002).

Najšire prihvaćenu definiciju bioloških antioksidanasa dao je Halliwell, prema kojoj su antioksidansi „supstance koje čak i kada su prisutne u znatno nižoj koncentraciji u poređenju sa supstratom koji oksiduju značajno usporavaju ili sprečavaju oksidaciju tog supstrata“ (Halliwell, 1994; Young i Woodside, 2001; Dorđević, 2008).

Sistem sekundarne antioksidativne zaštite čine brojna niskomolekularna jedinjenja različitog porekla i karaktera, poput L-askorbinske kiseline, tokoferola, karotenoida, antocijana, fenola i njihovih kiselina, flavonoida i dr. Kako je struktura ovih jedinjenja veoma raznovrsna, tako su različiti i mehanizmi kojima ona ostvaruju svoju aktivnost u sistemu antioksidantne zaštite (Veličković, 2013).

Antioksidansi mogu biti donori vodonikovog atoma (primarni antioksidansi), a mogu i vezivati metalne jone i na taj način sprečavajući oksidativne procese koje metalni joni katalizuju (sekundarni antioksidansi) (Kasote, 2013).

Nizak nivo antioksidanasa ili antioksidativnih enzima, dovodi do oksidativnog stresa, pri čemu se oštećuju ćelije, pa je povećan unos antioksidativnih jedinjenja neophodan je kako bi se sprečio oksidativni stres i omogućila prevencija različitih bolesti. (Partap i Pandey, 2012). Voćni sokovi i biljni ekstrakti, sadrže mnogo različitih klasa jedinjenja koja poseduju antioksidativni potencijal. Polifenoli se odlikuju sposobnošću neutralizacije reaktivnih kiseoničnih jedinjenja, doniranjem atoma vodonika ili elektrona iz mnogobrojnih polifenolnih hidroksilnih grupa (Shahidi i Ambigaipalan, 2015).

Antioksidansi imaju sposobnost da deluju kao hvatači slobodnih radikala ili donori elektrona; da stvaraju komplekse sa jonima metala (čime se onemogućava kataliza reakcije stvaranja inicijatora oksidacije lipida); da razgrađuju hidroperokside

lipida nastalih u fazi propagacije i prevode ih u neradikalske vrste; da inhibiraju neke enzime; da eliminišu dejstvo singletnih oblika kiseonika; da pokazuju sinergističko dejstvo; da redukuju neka jedinjenja (Halliwell, 1994; Čanadanović-Brunet, 1998).

### 2.9.1. Slobodni radikali i oksidativni stres

Slobodni radikali predstavljaju jone, atome ili molekule koji sadrže nesparene elektrone (jedan ili više), zbog čega su nestabilni i vrlo reaktivni (Percival, 1998).

Pri oksidativnoj fosforilaciji, energija oslobođena oksidacijom hranljivih materija, koristi se za proizvodjenje adenzin trifosfata (ATP), molekula koji snabdeva energijom metabolizam. Ipak, u ovom metaboličkom putu, dolazi do proizvodnje reaktivnih oblika kiseonika, što dovodi do nastajanja slobodnih radikala. Slobodni radikali produkovani u ćeliji reaguju sa lipidima i proteinima ćelijske membrane, koji se na taj način oštećuju, kao i sa dezoksiribonukleinskom kiselinom, do čije mutacije dolazi tom prilikom. Ovi procesi uslovljavaju razvoj mnogih oboljenja i smatraju se jednim od uzroka starenja (Valko, 2004).

Najzastupljeniji slobodni radikali su reaktivna jedinjenja kiseonika (Reactive Oxygen Species – ROS), u koje spadaju superoksid anjon ( $O_2^{\cdot-}$ ), alkoksil ( $RO^{\cdot}$ ), peroksil ( $ROO^{\cdot}$ ), hidroksil ( $HO^{\cdot}$ ), hidroperoksil ( $HOO^{\cdot}$ ) radikal, kao i reaktivna jedinjenja azota (Reactive Nitrogen Species, RNS) u koje se ubrajaju radikali azot-monoksida ( $NO^{\cdot}$ ) i azot-dioksida ( $NOO^{\cdot}$ ). U organizmu su prisutni i ROS jedinjenja koja nisu radikali, poput kiseonika ( $O_2$ ), ozona ( $O_3$ ), vodonik-peroksida ( $H_2O_2$ ), hipohloraste kiseline ( $HOCl$ ), azotaste kiseline ( $HNO_2$ ), organskih peroksida ( $ROOH$ ) (Wiseman i Halliwell, 1996).

Oksidativni stres je stanje poremećene ravnoteže između prooksidanasa sa jedne i antioksidanasa sa druge strane, odnosno između stvaranja reaktivnih jedinjenja i njihovog uklanjanja antioksidansima (Pinchuk et al., 2012).

Eukariote su razvile mehanizam zaštite od slobodnih radikala, pa se na taj način onemogućava nastanak oksidativnog stresa. Ipak, u patološkim stanjima, dolazi do povećanog stvaranja slobodnih radikala, koji se ne mogu u potpunosti neutralisati enzimskim i neenzimskim antioksidansima, što dovodi do oksidativnog oštećenja proteina, lipida, DNK i ćelijskih komponenti (Wiseman i Halliwell, 1996; Scalbert et al., 2005). Struktura ćelije i njene funkcije su tada narušene, narušava se ravnoteža u

korist prooksidanasa, i tako dolazi do nastanka oksidativnog stresa, koji je uzrok nastanka mnogih bolesti (Alfadda i Sallam, 2012). Biljke proizvode enzimske (superoksid-dismutazu (SOD), katalazu (CAT), glutation-peroksidazu (GP) i glutation-reduktaza (GR)) i neenzimske antioksidante (vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -karoten, fenolne kiseline, flavonoide, tanine) kao odgovor biljke na oksidativni stres (Kasote et al., 2015).

Istraživanja su pokazala da je oksidativni stres povezan sa preko 100 različitih oboljenja, bilo kao njihov uzrok ili kao posledica (Poljsak et al., 2013).

Broj slobodnih radikala prisutnih u organizmu čoveka najčešće nadmašuje broj proizvedenih antioksidanasa. Kako bi se održala ravnoteža, neophodno je konstantno unositi antioksidanse iz spoljašnjih izvora, tj. kroz hranu, a neki od najbogatijih prirodnih izvora antioksidanasa su sveže voće i povrće, čajevi, čokolada (kakao) i vina (uglavnom crno) (Fang i Bhandari, 2010).

## 2.10. FENOLNA JEDINJENJA

Fenolna jedinjenja su biološki aktivni sekundarni metaboliti biljaka, koji su najviše odgovorna za antioksidativnost. To su supstance koje poseduju aromatični benzenov prsten za koji je vezana jedna ili više hidroksilnih grupa (Bravo, 1998).

Imajući u vidu da je poznato oko 8.000 vrsta fenolnih jedinjenja, zaključuje se da je to najbrojnija i najzastupljenija grupa jedinjenja u prirodi, prisutna u velikom broju biljnih vrsta (Haminiuk et al., 2012).

Prema broju aromatičnih jezgara u molekulu fenolnih jedinjenja, možemo razlikovati:

- monofenole, koji sadrže jedan benzenov prsten sa vezanom jednom ili više hidroksilnih grupa (prosti fenoli, fenolne kiseline i njihovi derivati),  
i
- polifenole, koji sadrže veći broj benzenovih prstenova unutar jednog molekula (flavonoidi, halkoni, auron) (Macheix et al., 1990; Shahidi i Naczk, 2003).

Fenolna jedinjenja biljkama su primarno korisni kao molekuli koji pomažu zaštititi od UV zračenja ili napada patogena, takođe to su bojene materije, koje privlače insekte i druge oprašivače i na taj način omogućavaju razmnožavanje biljke (Manach et



al., 2004). Sintezu polifenolnih jedinjenja stimuliše Sunčeva svetlost, pa se ova jedinjenja najviše mogu naći u spoljašnjim delovima biljke. Fenolna jedinjenja lako reaguju sa proteinima i na taj način mogu inhibirati neke enzime i delovati kao antioksidansi (Parr i Bolwell, 2002).

Polifenoli su jedna od najvećih grupa jedinjenja koja su nađena u biljkama. Mnogi pripadnici ove klase jedinjenja su zapravo konstituenti biljne hrane, i upravo njihovo prisustvo se vezuje za njeno blagotvorno dejstvo na ljudski organizam.

Zahvaljujući strukturi polifenola, sa velikim brojem hidroksilnih grupa, ova jedinjenja poseduju visoku antioksidativni potencijal, koji se zasniva na sposobnosti doniranja vodonikovog atoma, odnosno elektrona. Time se uklanjanjem reaktivnih slobodnih radikala postiže direktni antioksidativni efekat, a sa brojem slobodnih hidroksilnih grupa i stepena vezivanja bočnih lanaca za aromatični prsten, i ovaj efekat raste. Indirektno antioksidativno delovanje, polifenoli mogu ispoljiti tako što učestvuju u regulaciji aktivnosti antioksidativnih enzima (superoksid dismutaze, katalaze i glutation peroksidaze) i povoljno deluju nazaštitne mehanizme organizma od oksidativnih oštećenja (Shahidi i Ambigaipalan, 2015; Rice-Evans et al., 1997; Huang et al., 2006). Takođe, pojedine klase polifenola mogu da heliraju (vezuju) metalne jone bakra i gvožđa i formiraju metalne komplekse, koji su poznati katalizatori radikalskih reakcija (Hider et al., 2001).

Istraživanja sprovedena u bliskoj prošlosti ukazuju na značaj i ulogu polifenola u prevenciji degenerativnih oboljenja, naročito kancera, kardiovaskularnih i neurodegenerativnih bolesti (Milner, 1994; Duthie i Brown, 1994). Kao veoma jaki antioksidansi daju doprinos ukupnoj antioksidativnom kapacitetu za koji su prvenstveno zaduženi vitamini antioksidansi (askorbinska kiselina i tokoferoli) i enzimi koji predstavljaju odbrambeni mehanizam od oksidativnog stresa koji je posledica viška reaktivnih kiseoničnih vrsta. Pored najpoznatije vodonik-donorske antioksidativne aktivnosti koju poseduju ovi molekuli, čiji je stepen praktično određivan u *in vitro* uslovima, postoje i druge značajne aktivnosti koje su opažene u nekim *in vivo* studijama. Primer je modulacija ćelijskih signalnih puteva koja može pomoći u objašnjavanju mehanizma dejstva ishrane koja je bogata polifenolnim jedinjenjima (Williams et al., 2004). Biološki efekti polifenola pripisuju se njihovom antioksidativnom delovanju.

Pokazano je da fenolna jedinjenja više utiču na antioksidativni kapacitet plodova nego sadržaj vitamina i nekih drugih komponenti (Beekwilder et al., 2005). U mnogim studijama je pokazano da u plodovima jagode, maline, kupine, borovnice sadržaj fenolnih jedinjenja može da ukaže na antioksidativni kapacitet, tj. da antioksidativnost upravo zavisi od sadržaja ovih fenolnih jedinjenja (Wang i Lin, 2000; Wu et al., 2004b; Pantelidis et al., 2007; Kazimierczak et al., 2008; Piljac-Žegarac et al., 2009; Poiana et al., 2010; Milivojević et al., 2010; Milivojević et al., 2011).

Pored navedenih efekata na ljudski organizam, ova jedinjenja su neophodna kako humanim tako i animalnim organizmima kao prekursori u biosintezi aromatičnih aminokiselina (Mander i Liu, 2010), tako da je njihovo unošenje hranom gotovo neizostavno za normalno funkcionisanje organizma.

Ova grupa prirodnih fitohemikalija prisutne su u visokim količinama u voću, povrću i prehrambenim proizvodima. U biljkama se sadržaj ovih jedinjenja kreće od nekoliko desetina do nekoliko hiljada miligrama po kilogramu (mg/kg), što predstavlja čak stostruku vrednost u odnosu na druge antioksidante (vitamine) (Fukushima et al., 2009). Vrednosti sadržaja ukupnih polifenola u dosadašnjim istraživanjima, prema literaturnim podacima, za plodove i sokove ispitivanog voća, prikazan je u tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj ukupnih polifenola u voću i voćnim sokovima

Vrsta voća	Jagoda	Malina	Kupina	Višnja	Borovnica	Crvena ribizla	Crna ribizla
<b>Sadržaj ukupnih polifenola u voću (mg/100g)*</b>	200-335	176-285	173-844	290-430	77-618	28-502	150-1150
<b>Sadržaj ukupnih polifenola u soku (mg/100ml)**</b>	127-130	123-137	183-216	205-249	85-281	28-133	192-277

\*Heinonen et al., 1998; Wang i Lin, 2000; Perkins-Veazie i Collins, 2001; Lister et al., 2002; Stewart, 2004; Benvenuti et al., 2004; Siriwoharn i Wrolstad 2004; Marinova, et al., 2005; Lapornik et al., 2005; Jakobek et al., 2007b; Bordonaba i Terry, 2008; Giongo et al., 2008; Pascual-Teresa et al., 2008; Seglina et al., 2008; Koca i Karadeniz, 2009; Đorđević et al., 2010; Milivojević et al., 2010; Aguirre et al., 2010; Lugasia et al., 2011; Piljac-Žegarac et al., 2011; Stajčić et al., 2012; Rajić et al., 2012.

\*\*Jakobek et al., 2007a; Piljac-Žegarac et al., 2009; Đorđević et al., 2010; Konić-Ristić et al., 2011; Đorđević, 2012; Kraujalyte et al., 2015.

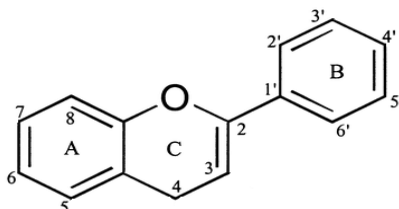
Fenolna jedinjenja mogu se klasifikovati na osnovu broja i rasporeda ugljenikovih atoma u:

- flavonoide (flavonole, flavone, flavan-3-ole, antocijanidine, flavanone, izoflavone i druge) i
- neflavonoide (fenolne kiseline, tanine, lignine, stilbene i ostale) (Crozier et al., 2008).

U jagodastom voću najzastupljenija fenolna jedinjenja su flavonoidi i fenolne kiseline. Ovi sekundarni metaboliti koji se akumuliraju u plodovima poseduju visok antioksidativni kapacitet (Häkkinen et al., 1999; Cho et al., 2005; Stajčić et al., 2012), ali su osetljiviji su na dejstvo visokih temperatura (Kalt, 2005; Vukosavljević, 2006; Mendiola et al., 2008).

### 2.10.1. Flavonoidi

Geisman i Hinseinner su 1952. godine dali naziv „flavonoid“ svim pigmentima koji su imali C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> skelet sa dva benzenova prstena povezana preko centralnog piranskog prstena (C-3 jedinice) (slika 24) (Janićijević et al., 2008). Do sada je preko 4000 različitih flavonoida iz biljaka identifikovano, a neprestano se otkrivaju i nova jedinjenja iz ove grupe (Lee et al., 2002).

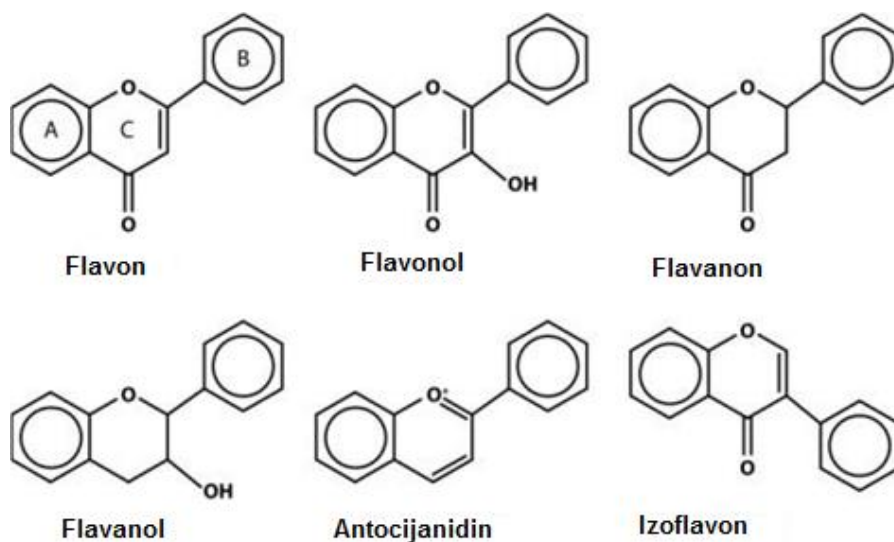


Slika 24. Skelet flavonoida (Janićijević et al., 2008)

Flavonoidi su u vodi rastvorni pigmenti žute, crvene ili ljubičaste boje, koji su rasprostranjeni u svim biljkama, kao i u svim delovima biljke. Jarke boje mnogih jedinjenja iz klase flavonoida čine cvetove i plodove biljaka atraktivnim za pčele i ptice, pa imaju važnu ulogu u oprašivanju i razmnožavanju biljaka. Druga, bezbojna, jedinjenja iz ove klase deluju antimikrobno, pa imaju, takođe, vitalnu ulogu. Flavonoidi ispoljavaju sinergističko dejstvo kada deluju sa drugim prirodnim jedinjenjima (Milić et al., 2000).

Zahvaljujuću pravilnosti po kojoj su flavonoidi hidroksilovani i stepenu oksidacije C3 prstena, ova klasa polifenolnih jedinjenja je podeljena u potklase, koje čine:

- flavonoli,
- flavoni,
- flavanoli,
- izoflavoni,
- flavanoni,
- antocijanidini (Howard i Hager, 2007) (slika25).



Slika 25. Hemijska struktura klasa flavonoida (Howard i Hager, 2007)

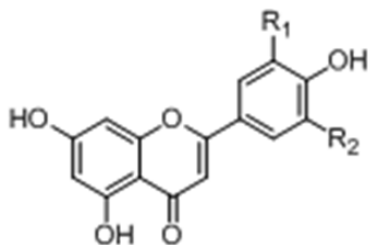
Dok većina flavonoida poseduje prsten B vezan u C2 položaju prstena C, neki flavonoidi, kao što su izoflavoni i neoflavonoidi, imaju takve strukture da je prsten B vezan za položaj C3 (slika 25) i C4 na prstenu C, respektivno.

Modifikacije osnovnih struktura flavonoida, kao što su dodatne hidroksilacije, dimerizacije, *O*-metilacije hidroksilnih grupa, vezivanje neorganskog sulfata i glikozilacije hidroksilnih grupa (nastajanje *O*-glikozida) ili flavonoidnog jezgra (nastajanje *C*-glikozida) sa monosaharidima i oligosaharidima, povećavaju broj struktura i raznovrsnost flavonoida. Sa porastom broja hidroksilnih grupa u flavonoidima raste i antioksidativnost. Takođe, prisustvo *orto* 3,4-dihidroksi strukture povećava antioksidativni kapacitet (Brewer, 2011). Neki flavonoidi mogu vezati metale

na svoje 5-hidroksil i 4-oksogrupe (Fernandez et al., 2002). Flavonoidi imaju i veliku sklonost ka umrežavanju i polimerizaciji (tanini) (Winkel–Shirley, 2001).

Utvrđeno je da su flavonoidi jaki antioksidansi i kao takvi imaju zaštitnu ulogu protiv mnogih bolesti, posebno kancera, kardiovaskularnih i neurodegenerativnih oboljenja. Takođe biljni flavonoidi imaju antibakterijsko, antivirusno, antifungalno dejstvo (Määttä-Riihinen et al., 2004; Neto, 2007; Shukitt-Hale et al., 2008).

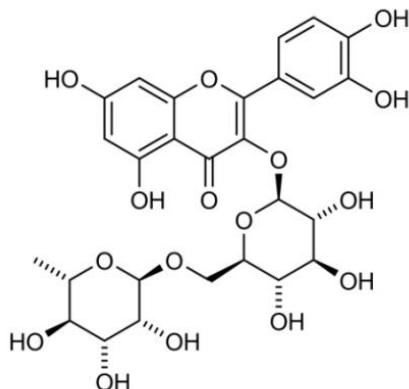
**Flavonoli** su jedna od najrasprostranjenijih klasa flavonoida, bele do žute boje, koja se deponuju u biljnim vakuolama ćelija pokožice (slika 8). Flavonoli imaju dvostruku vezu između C2 i C3 ugljenikovog atoma na piranskom prstenu sa keto grupom na C4 poziciji (slike 24 i 25). Utvrđeno je da se ponašaju kao: antioksidansi, inhibitori enzima, fotosenzibilizatori i prenosioci energije, a takođe poseduju i antikancerogena svojstva i svojstva estrogena (Lajšić i Grujić-Injac, 1998). Flavonoli se u biljkama, nalaze uglavnom u obliku glikozida, povezani sa glukozom ili ramnozom, ali i sa drugim šećerima (Manach et al., 2004). Najzastupljeniji flavonoli su kvercetin, kempferol i miricetin (slika 26).



Kempferol	$R_1 = R_2 = H$
Kvercetin	$R_1 = H, R_2 = OH$
Miricetin	$R_1 = R_2 = OH$
Izoramnetin	$R_1 = OCH_3, R_2 = H$

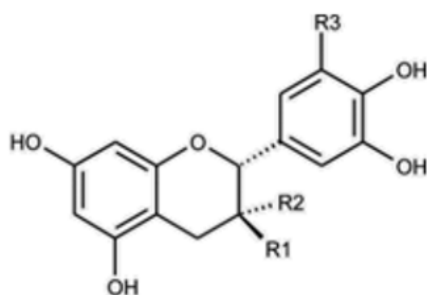
Slika 26. Struktura flavonola (modifikovano, Nagao et al., 1999)

Rutin (kvercetin-3-rutinozid) je pored kvercetin-3-glukozida i kvercetin-3-glukuronida jedna od glavnih komponenti u voću (Seeram et al., 2006b). Struktura ovog jedinjenja prikazana je na slici 27.



Slika 27. Struktura rutina (modifikovano, Nagao et al., 1999)

**Flavanoli** (flavan-3-oli, katehini) poseduju zasićen trikarbonski lanac hidroksilovan na C3 poziciji piranskog prstena (slike 24 i 25). Razlikuju se od većine flavonoida po odsustvo karbonilne grupe u položaju C4 (C prsten), kao i dvostruke veze između C2 i C3 atoma C prstena. Flavanoli se u voću javljaju kao monomeri (katehini) i oligomeri (proantocijanidini/kondenzovani tanini). Flavanola u hrani nema u obliku glikozida, a mogu da podležu reakcijama hidroksilacije i esterifikacije (Arts et al., 2000). Strukture pojedinih vrsta flavanola prikazane su na slici 28.

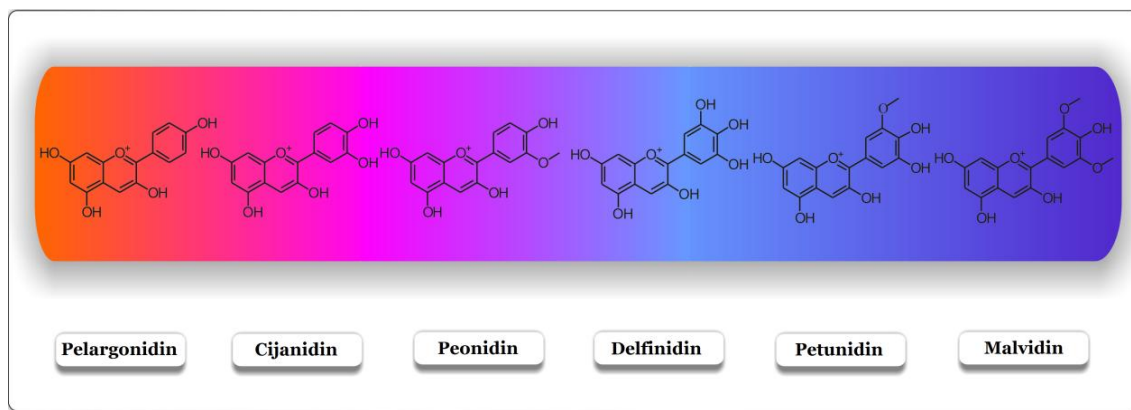


(+) Katehin	$R_1=OH, R_2=R_3=H$
(-) Epikatehin	$R_1=R_3=H, R_2=OH$
(-) Epigalokatehin	$R_1=H, R_2=R_3=OH$
(+) Galokatehin	$R_1=R_3=OH, R_2=H$

Slika 28. Struktura flavanola (modifikovano, Nagao et al., 1999)

### 2.10.1.1. Antocijani

Flavonoidi i fenolne kiseline predstavljaju značajnu grupu sekundarnih metabolita jagodastog i bobičastog voća (Milivojević et al., 2011). Najzastupljeniji flavonoidi su antocijani, bojene materije crvene do plave boje (slika 29).



Slika 29. Vidljivi raspon boja antocijanidina (Ananga et al., 2013)

Antocijani su u prirodi retko zastupljeni kao slobodna jedinjenja (antocijanidini), jer su vrlo nestabilni. U plodovima voćaka javljaju se najviše u obliku konjugovanih formi sa različitim šećerima ili se vezuju za alifatične kiseline. Glikozilacija antocijanidina najčešće se dešava na poziciji 3 sa glukozom, arabinozom ili galaktozom (Zhao, 2007).

Pretpostavlja se da antocijani u biljnim ćelijama imaju i fotoprotektivnu ulogu. Pri prejakom osvetljenju antocijani mogu apsorbovati deo svetlosti neiskorišćene za fotosintezu, i na taj način sprečavaju nekontrolisano generisanje slobodnih radikala u ćeliji i oštećenje hloroplasta (Gould i Lister, 2006; Orčić, 2010).

Antocijani su bojene materije, glikozidi antocijanidina, koji se nalaze u pokožici ploda voća. Oni se nalaze u kapilarnim prostorima ćelijskog zida, a takođe i u ćelijskom soku, koji ispunjava unutrašnjost vakuole (slike 8 i 9). Antocijani imaju ulogu bojadisera, ali korelacija između sadržaja antocijana u plodu i stepena obojenosti ploda nije uvek direktna, zbog uticaja različitih faktora na stepen koloracije, a pre svega kiselost ploda (Bonani et al., 2006). U zavisnosti od pH vrednosti sredine, oni voće boje različitim nijansama crvene, ljubičaste i plave boje (Zlatković, 2003). Kada su izloženi svetlosti i vazduhu, boja antocijana se menja. Dolazi do brže oksidacije, u zavisnosti od vrste antocijanidina. Najosetljiviji na ove uticaje je pelargonidin, koji je dominantni antocijanidin jagode (Mateus i de Freitas, 2009).

Sadržaj ukupnih antocijana za ove vrste voća i voćnih sokova, prema literaturnim podacima prikazan je u sledećoj tabeli (tabela2).

Tabela 2. Sadržaj ukupnih antocijana u voću i voćnim sokovima

Vrsta voća	Jagoda	Malina	Kupina	Višnja	Borovnica	Crvena ribizla	Crna ribizla
Sadržaj ukupnih antocijana u voću (mg/100g)*	17-35	23-116	48-197	115-358	18-407	6-113	75-2350
Sadržaj ukupnih antocijana u soku (mg/100ml)**	6-21	22-67	74-86	37-81	38-76	6-60	45-154

Izvor: \*Iversen, 1999; Häkkinen, 2000; de Ancos et al., 2000; Kähkönen et al., 2001; Moyer et al., 2002b; Benvenuti et al., 2004; Wu et al., 2004a; Buchert et al., 2005; Lapornik et al., 2005; Rubinskiene et al., 2006; Siksnianas et al., 2006; Jakobek et al., 2007b; Cavanna et al., 2008; Szajdek i Borowska, 2008; Kazmierczak et al., 2008; Scalzo et al., 2008; Neeser, 2009; Sandell et al., 2009; Koca i Karadeniz, 2009; Crespo et al., 2010; Bakowska-Barczak i Kolodziejczyk, 2011; Oancea et al., 2011; Stajčić et al., 2012; Viljevac et al., 2012; Magazin et al., 2012; Veberic et al., 2014.

\*\*Skrede et al., (2000); Lee et al., 2002; Lee et al., 2005; Stój et al., 2006a; Stój et al., 2006b; Siksnianas et al., 2006; Jakobek et al., 2007a; Sandell et al., 2009, Đorđević, 2012; Vladisavljević et al., 2013.

Satué-Garcia et al. (1997) su pokazali da od antocijana najveću antioksidativnost pokazuje delfinidin, zatim cijanidin, pa malvidin, i na kraju pelargonidin.

U plodovima jagode pronađeno je 25 različitih antocijana. Kod većine antocijana pelargonidin je glavni antocijanin od koga su izgrađeni antocijani jagode, Utvrđeno je i prisustvo nekih derivata cijanidina. Najčešći šećer je glukoza, a identifikovani su i rutinoza, arabinoza i ramnoza. Dominantan antocijan ploda jagode je pelargonidin 3-glukozid, ali se u ovom plodu nalaze i pelargonidin 3-rutinozid i cijanidin 3-glukozid. Ova tri antocijana predstavljaju preko 95% ukupnih antocijana jagode (Gil et al., 1997; Wang i Lin, 2000; Cordenunsi et al., 2005; Klopotek et al., 2005; Pelayo et al., 2005; Jakobek et al., 2007b; Lopes da Silva et al., 2007). Sorta "Clery" pokazala konstantno visok sadržaj antocijana u plodu bez obzira na područje gajenja (Crespo et al., 2010), što pokazuje da je profil antocijana kod jagode genetički određena osobina pre nego osobina na koju utiču ekološki faktori.

U plodu maline identifikovano je dosta različitih antocijana. To su: cijanidin-3-soforozid, cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-rutinozid, pelargonidin-3-glukozid, pelargonidin-3-rutinozid, pelargonidin-3-soforozid, cijanidin-3-soforozid-5-ramnozid i cijanidin-3-sambubiozid-5-ramnozid (Wu i Prior, 2005; Jakobek et al., 2007b). Cijanidin-3-glukozid je dominantan antocijan u plodu maline, a cijanidin-3-sambubiozid-5-ramnozid (trisaharid) unikatan antocijan crvene maline (Wang et al.,



2000; Wu i Prior, 2005; Vukosavljević, 2006). Vukosavljević et al. (2003) navode da su dominantno zastupljeni antocijani u plodu crvene maline cijanidin-3-glukozid i cijanidin 3-soforozid, a ostali antocijani javljaju se sporadično.

U plodu kupine dominantni antocijan je cijanidin-3-glukozid, ali prisutni su još i cijanidin-3-rutinozid, cijanidin-3-ksilozid, malvidin-3-glukozid, cijanidin-3-glukozid acilovan malonskom kiselinom i acilovani derivat cijanidin-3-glukozida (Wang et al., 2000; Dugo et al., 2001; Cho et al., 2004; Fan-Chiang i Wrolstad, 2005; Jakobek et al., 2007b).

U borovnici su od antocijana najviše zastupljeni glikozidi delfinidina, petunidina, malvidina (koji daju karakterističnu plavu boju plodovima ovog voća), cijanidina i peonidina. Od šećera su zastupljene galaktoza, glukoza i arabinoza (Kalt et al., 2000; Wu i Prior, 2005).

Dominantni antocijani u plodovima višnje su: cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-glukozil-rutinozid, cijanidin-3-soforozid i cijanidin-3-rutinozid (Jakobek et al., 2007b; Viljevac et al., 2012). U plodovima višnje mogu se naći i pelargonidin-3-glukozid, pelargonidin-3-rutinozid-glukozid i peonidin-3-rutinozid (Toydemir et al., 2014). Oblačinska višnja ima visok sadržaj antocijana (Šimunić et al., 2005), a potvrđeno je usporavanje rasta i razvoja tumora creva kod miševa i tumora debelog creva kod ljudi uz pomoć antocijana iz plodova višnje (Kang et al., 2003).

Crvena ribizla sadrži cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-glukozil-rutinozid, cijanidin-3-O-rutinozid, cijanidin-3-soforozid, pa je boja ovog voća, koja potiče od cijanidina, karakteristična crvena (Borges et al., 2009).

Crna ribizla i sok crne ribizle sadrži delfinidin-3-glukozid, delfinidin-3-rutinozid, cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-rutinozid (Lister et al., 2002; Jakobek et al., 2007b; Rumpunen et al., 2012). Boja plodova crne ribizle zavisi od sadržaja antocijana i vitamina C. Crne ribizle sa više tamno braon boje imaju veći sadržaj antocijana u plodovima. Temperatura i sadržaj kiseonika mogu da smanje sadržaj antocijana, pa samim tim utiču i na boju plodova crnih ribizli (Moyer et al., 2002a; Rubinskiene et al., 2006).

Wang et al. (1997) su proučavali 14 različitih antocijana uključujući aglikone delfinidina, cijanidina, pelargonidina, malvidina, peonidina i njihove glikozide sa različitim vrstama šećera. Istraživanje je pokazalo da cijanidin-3-glukozid poseduje

najviši antioksidativni kapacitet, dok je pelargonidin pokazao najniži, ali značajno visok antioksidativni kapacitet.

## 2.10.2. Neflavonoidi

Neflavonoidi su klasa fenolnih jedinjenjau koje se ubrajaju:

- fenolne kiseline,
- kumarini,
- stibleni,
- lignini,
- tanini.

### 2.10.2.1. Fenolne kiseline

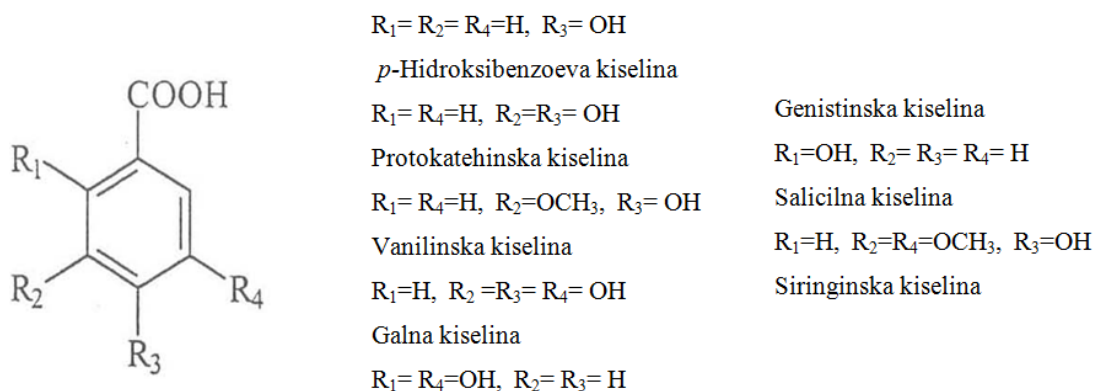
Fenolne kiseline su povezane sa bojom, senzornim kvalitetom i nutritivnim i antioksidativnim svojstvima hrane. To su aromatični sekundarni biljni metaboliti, široko rasprostranjeni u celoj biljnoj biljci (Robbins, 2003). One imaju uticaj na sazrevanje voća, sprečavanje enzimskog potamnjenja a takođe imaju i ulogu kao konzervansi hrane. Fenoli se ponašaju kao antioksidanti, zbog reaktivnosti fenolnog dela (hidroksilni supstituent na aromatičnom prstenu) (Aalto et al., 1953; Robbins, 2003).

Veruje se da se antioksidativni kapacitet ovih kiselina najviše zasniva na donaciji vodonikovog atoma. Različite kiseline imaju drugačiju antioksidativni kapacitet, a razlog tome je i veliki uticaj različitih supstituenata na aromatičnom prstenu. Potvrđeno je antioksidativno dejstvo slobodnih, esterifikovanih, glikozilovanih i neglikozilovanih fenolnih kiselina (Robbins, 2003).

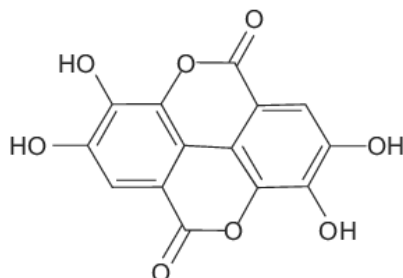
Fenolne kiseline se u prirodi retko mogu naći kao slobodne; najčešće se nalaze u konjugovanim oblicima kao estri. Razlika između fenolnih kiselina ogleda se u stepenu hidroksilacije i metilacije aromatičnog prstena (Macheix et al., 1990; Robbins, 2003). Slobodne forme derivate hidroksicinaminske kiseline ukazuju na enzimsku hidrolizu u biljnom tkivu tokom ekstrakcije (Macheix et al., 1990). Samo mala frakcija fenolnih kiselina postoji kao "slobodne kiseline". Većina su povezani preko estarskih, etarskih ili acetalnih veza ili u strukturalne komponente biljke (celuloza, proteini, lignin) ili za veće polifenole (flavonoide) ili manje organske molekule (npr. glukoza, hininska, maleinska ili vinska kiselina) ili druge prirodne proizvode (npr. terpene) (Robbins, 2003).

Ove kiseline obuhvataju dve podgrupe (hidroksibenzoeve i hidroksicinaminske kiseline), kao i njihove derivate (Bravo, 1998).

U grupu hidroksibenzoevih kiselina (derivati benzoeve kiseline), koje se odlikuju C6-C1 strukturom, ubrajaju se *p*-hidroksibenzoeva, protokatehinska, vanilinska, galna, gentizinska, salicilna, siringinska (slika 30) i elaginska kiselina (slika 31) (Macheix et al., 1990; Vatter, 2005). Elaginska kiselina predstavlja dimer galne kiseline.



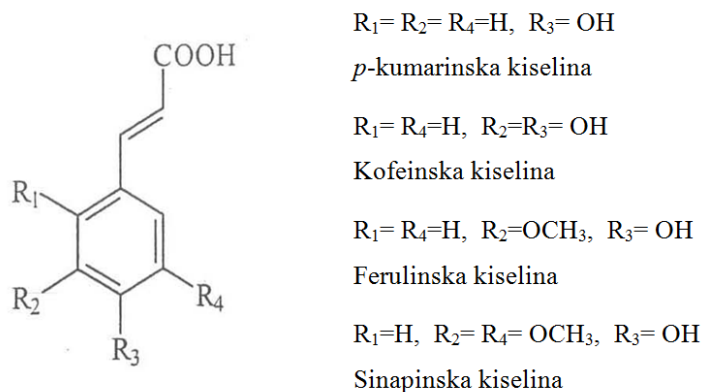
Slika 30. Hemijske strukture hidroksibenzoevih kiselina (modifikovano, Macheix et al., 1990)



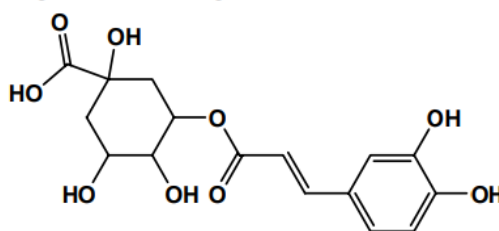
Slika 31. Elaginska kiselina (Beattie et al., 2005)

Hidroksicinaminske kiseline (derivati cinaminske kiseline) se odlikuju C6-C3 strukturom, a prisutne su i u konjugovanim formama (Vatter, 2005). Derivati ovih kiselina, koji su najviše zastupljeni su: *p*-kumarinska, kofeinska, ferulinska i sinapinska kiselina (slika 32). Konjugovane forme su estri hidroksi kiselina (hininska kiselina, šikiminska kiselina i vinska kiselina) i njihovi glikozidi. Ukoliko su prisutne slobodne forme, može se zaključiti da je došlo do enzimske hidrolize u biljnom tkivu tokom ekstrakcije. Derivati hidroksicinaminske kiseline bolji su antioksidansi od derivata hidroksibenzoeve kiseline zbog prisustva dvostruke veze kojaučestvuje u stabilizaciji

aroksil radikala koji nastaje rezonancijom (Macheix et al., 1990; Shahidi i Naczka, 1995). Hlorogenska kiselina (5-kafeoilhinska kiselina) je estar hininske i kofeinske kiseline (Macheix et al., 1990; Robbins, 2003) (slika 33).



Slika 32. Hemijske strukture hidroksicinaminskih kiselina (modifikovano, Macheix et al., 1990)



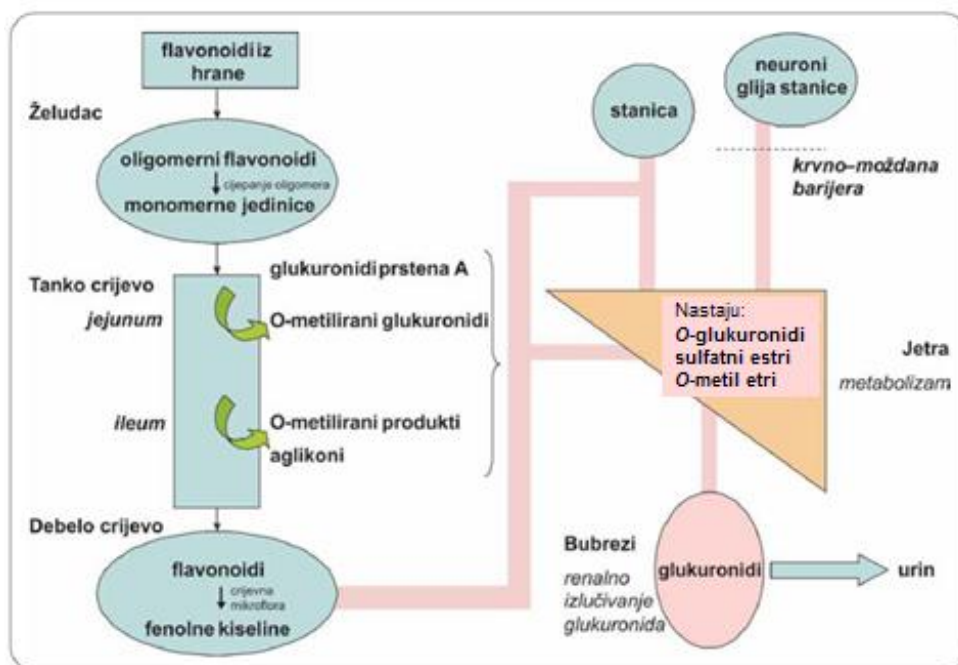
Slika 33. Hlorogenska kiselina (modifikovano, Vattem, 2005)

### 2.10.3. Dejstvo polifenola na organizam

Polifenolna jedinjenja uspešno prolaze intestinalnu barijeru (opstaju u uslovima gastrointestinalnog trakta, pa dostižu u krvotok u neophodnoj koncentraciji za postizanje bioloških efekata u *in vitro* uslovima. Najviša koncentracija polifenola se detektuje 2 do 3 sata nakon konzumiranja (Manach et al., 2004). U zavisnosti od vrste polifenolnog jedinjenja dolazi do različitog stepena njegove apsorpcije.

U gornjem delu gastrointestinalnog trakta nema intenzivnih promena, pa polifenoli dospevaju u tanko crevo uglavnom u nepromenjenom obliku. Nakon unosa polifenola, već u usnoj šupljini dolazi do hidrolize flavonoidnih glikozida s glukoznim šećernim jedinicama (Walle et al., 2005). Nakon toga uneseni polifenoli dospevaju do želuca gde se pri niskom pH odvija cepanje oligomernih proantocijanidina u monomerne jedinice i dolazi do slabe apsorpcije jednostavnih fenolnih kiselina.

Polifenoli prolaze kroz značajan metabolizam i konjugaciju tokom apsorpcije u tankom i debelom crevu, pa je njihova koncentracija u krvi znatno manja od unesene. U tankom crevu te modifikacije vode pre svega na formiranje glukuronidnih konjugata koji se bubrežno izlučuju, a njihovi metaboliti portalnom venom (vena koja dovodi krv iz organa za varenje u jetru) dolaze u jetru gde se dalje metabolišu. Drugi procesi faze II dovode do proizvodnje *O*-metilovanih formi koji imaju smanjeni antioksidativni potencijal putem metilacije B-prstena katehol. Prilikom apsorpcije, polifenoli hidrolizuju pod uticajem intestinalnih enzima i/ili rezidualne mikroflore debelog creva, na manje fenolne kiseline, od kojih se neke mogu apsorbovati. Važna činjenica koju bi trebalo istaći jeste upravo ta da polifenolna jedinjenja dospevaju do debelog creva i da mogu pozitivno delovati na očuvanje sluzokože debelog creva. Zatim dolazi do njihove konjugacije u ćelijama intestinalnog trakta i jetri pri čemu nastaju *O*-glukuronidi, sulfatni estri i *O*-metil etri (Scalbert et al., 2002). Tako su polifenolna jedinjenja koja dospevaju u krvotok najčešće drugačijeg oblika od polifenolnih jedinjenja unetih hranom. Sudbina velikog dela metabolita jeste izlučivanje putem bubrega. Ćelijske, životinjske i ljudske studije potvrdile su takav metabolizam otkrivanjem metabolita flavanola u cirkulaciji i tkivima (Spencer, 2003).



Slika 34. Prikaz nastajanja flavonoidnih metabolita i konjugata kod čoveka (Spencer, 2003)

### 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

**Osnovni cilj** istraživanja bio je formulacija i izrada funkcionalnih bezalkoholnih pića, dobijenih od voćnih sokova i ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja, sa visokim sadržajem biološki aktivnih jedinjenja i visokim antioksidativnim kapacitetom. Osmišljene su tri vrste bezalkoholnih pića: sa potencijalnim ciljanim fiziološki povoljnim delovanjem na metabolizam, na zaštiti kardiovaskularnog sistema i jačanju otpornosti organizma, uz primenu lekovitog i aromatičnog bilja čija su pozitivna lekovita dejstva već dokumentovana kroz ranija istraživanja.

**Sledeći važan cilj ovih** istraživanja bio je ispitivanje uticaja tri različita tehnološka postupka proizvodnje voćnih sokova na antioksidativni kapacitet i sadržaj biološki aktivnih sastojaka.

Za realizaciju pomenutih ciljeva najpre je bilo neophodno odabrati voćne vrste (plodove voća) sa visokim sadržajem biološki aktivnih materija i visokim antioksidativnim potencijalom, koji su predstavljali sirovinu za dobijanje biološki vrednih voćnih sokova, vodeći računa o njihovim senzornim karakteristikama. U tu svrhu su odabrane različite vrste jagodastog i koštičavog voća, a među njima: jagoda, malina, kupina, višnja, borovnica, crvena i crna ribizla, koje su upotrebljene za proizvodnju voćnih sokova primenom pomenutih tehnoloških tretmana. Ovi voćni sokovi su hemijski okarakterisani, sa aspekta sadržaja fenolnih jedinjenja, sadržaja ukupnih monomernih antocijana, ukupnih flavonoida, ukupnih polifenola, kao i antioksidativnog kapaciteta, primenom odgovarajućih spektrofotometrijskih analiza. Takođe, selekcija i kvantifikacija fenolnih jedinjenja u pomenutim uzorcima je urađena primenom metoda tačne hromatografije i masene spektrometrije (LC/MS).

Naredni zadatak bio je da se dobijeni voćni sokovi pomešaju u različitim odnosima, koji su određeni na bazi njihove senzorne prihvatljivosti i visokog antioksidativnog kapaciteta. Na ovaj način su dobijene tri osnovne grupe voćnih mešavina, pri čemu su za svaku osnovu primenjeni sokovi dobijeni primenom sva tri tehnološka postupka proizvodnje. Zbog njihove izražene kiselosti, ovim voćnim kombinacijama je izvršena korekcija slasti, dodatkom voćnog soka jabuke, nakon čega su podvrgnuti ponovnim hemijskim analizama, kako bi se utvrdilo u kojoj meri je dodati sok jabuke uticao na smanjenje antioksidativnog kapaciteta i biološki aktivnih sastojaka.

Sledeći zadatak bio je da se izvrši selekcija lekovitih i aromatičnih biljaka, sa potencijalno pozitivnim svojstvima na već pomenute zdravstvene efekte. Primenom perkolacije uz 50% vodeno-etanolni rastvor, kao ekstragens, dobijeni su biljni ekstrakti sledećih biljnih vrsta: ehinacee, kamilice, zove, koprive, šipurka, matičnjaka, aronije, rastavića, heljde, japanskog bagrema, srdačice, grčkog semena, trave ive i majkine dušice.

Naredni veoma važan zadatak bio je da se dobijeni ekstrakti pomešaju u određenim odnosima, kako bi se formulisale tri različite mešavine. Jedna mešavina poseduje potencijalno pozitivan zdravstveni efekat na smanjenje telesne težine poboljšanjem metabolizma, druga ima efekat na zaštiti i jačanju kardiovaskularnog sistema, a treća pomaže jačanju imunološkog sistema i opšte otpornosti. Tako formulisanim mešavinama biljnih ekstrakata određen je sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativnost, primenom već pomenutih metoda analiza.

**Krajnji cilj** ovih istraživanja bio je da se formulišu i proizvedu tri finalne grupe potencijalno funkcionalnih napitaka (za poboljšanje metabolizma i redukciju telesne težine, zaštitu kardiovaskularnog sistema i jačanje otpornosti organizma) mešanjem odgovarajućih osnovnih voćnih mešavina, u kojima su korišćeni sokovi dobijeni primenom sva tri tretmana, sa odgovarajućim kombinacijama biljnih ekstrakata, koje poseduju potencijalna ciljana fiziološka svojstva. Finalne kombinacije su takođe hemijski okarakterisane (ispitan je sadržaj fenolnih jedinjenja, sadržaja ukupnih monomernih antocijana, ukupnih flavonoida, ukupnih polifenola i antioksidativni kapacitet primenom različitih metoda, kao i identifikacija i kvantifikacija fenolnih jedinjenja primenom LC/MS analize) kako bi se dobila slika o ukupnom antioksidativnom kapacitetu finalnih proizvoda. Takođe, ispitivanim finalnim uzorcima je urađena i senzorna analiza, kako bi se utvrdila njihova prihvatljivost od strane potencijalnih potrošača.

## **4. MATERIJAL I METODE**

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije urađen je u laboratorijama Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i Instituta za proučavanje lekovitog bilja “Dr Josif Pančić” u Beogradu.

### **4.1. MATERIJAL**

#### **4.1.1. Biljni materijal**

##### **4.1.1.1. Voće**

Za proizvodnju sokova, u našim istraživanjima, korišćeno je jagodasto i koštičavo voće ubrano u stadijumu tehnološke zrelosti, poreklom iz raznih delova Srbije.

Jagoda – sorta Kleri (Clery), stona sorta, izuzetno aromatična, ubrana je početkom juna 2011. godine u okolini Šapca.

Malina – sorta Vilamet (Willamette), najzastupljenija, aromatična sorta, slatko-nakiselog ukusa, sa dobrim transportabilnim osobinama i višim sadržajem rastvorljive suve materije u odnosu na druge sorte, ubrana je krajem juna 2011. godine u okolini Valjeva.

Kupina – sorta Lohnes (Loch Ness), samooplodna, rodna sorta, slatko-nakiselog ukusa, izražene arome, veoma slična divljoj kupini, ubrana je krajem jula 2011. godine u mestu Osečina.

Borovnica – šumska, izuzetno prijatnog ukusa i mirisa, ubrana početkom jula 2011. godine na planini Golija.

Crvena ribizla – sorta Stanca, nakisela, aromatična, ubrana je u prvoj polovini jula 2011. godine u okolini Obrenovca.

Crna ribizla – sorta Ometa, visokoprinosna sorta, slatko-kiselog ukusa, ubrana je u prvoj polovini jula 2011. godine u okolini Obrenovca.

Višnja – sorta Oblačinska, slatkonakisela, odlične arome, ubrana je sredinom juna 2011. godine u okolini Beograda.

Voćni sok jabuke – dobijen je razblaživanjem koncentrisanog voćnog soka do suve materije propisane Pravilnikom (11,2%) (Službeni glasnik RS, br. 27/2010,



67/2010, 70/2010 – ispr., 44/2011 i 77/2011). Koncentrisani voćni sok jabuke proizveden je u fabrici “Vino Župa”, Aleksandrovac.

#### 4.1.1.2. Lekovite i aromatične biljke

Biljne sirovine, koje su korišćene za izradu ekstrakata, preuzete su iz Proizvodnog sektora Instituta za proučavanje lekovitog bilja “Dr Josif Pančić” iz Beograda, a njihova identifikacija sprovedena je u Laboratoriji za farmaceutsku kontrolu Instituta.

Biljni material je osušen u ambijentalnim uslovima, a neposredno pre ekstrakcije je usitnjen.

Lekovite i aromatične biljke korišćene u eksperimentu su:

1. Herba ehinacee – Echinaceae purpureae herba (*Echinacea purpurea* (L.) Moench, Asteraceae),
2. Cvast kamilice – Chamomillae flos (*Matricaria chamomilla* L., Asteraceae),
3. Cvet zove – Sambuci flos (*Sambucus nigra* L., Sambucaceae),
4. List koprive – Urticae folium (*Urtica dioica* L., Urticaceae),
5. Plod divlje ruže, šipurak – Cynosbati fructus (*Rosa canina* L. Rosaceae),
6. List matičnjaka – Melissae folium (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae),
7. Plod aronije – Aronia fructus (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, Rosaceae),
8. Herba rastavića – Equiseti herba (*Equisetum arvense* L., Equisetaceae),
9. Herba heljde – Fagopyri herba (*Fagopyrum esculentum* Moench, Polygonaceae),
10. Cvet japanskog bagrema – Sophorae flos (*Sophora japonica* L., Fabaceae),
11. Herba srdačice – Leonuri herba (*Leonurus cardiaca* L., Lamiaceae),
12. Grčko seme – Foenugraeci semen (*Trigonella foenum-graecum* L., Fabaceae),
13. Herba trave ive – Teucree montani herba (*Teucrium montanum* L., Lamiaceae),
14. Herba majkine dušice – Serpylli herba (*Thymus serpyllum* L., Lamiaceae).

#### 4.1.2. Hemikalije

Svi reagensi i hemikalije koji su korišćeni u eksperimentalnom radu bili su analitičke čistoće (p.a.).

Follin-Ciocalteu reagens, 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-S-triazine (TPTZ), anhidrovani natrijum karbonat, galna kiselina, benzoeva kiselina poručeni su iz “MERCK KgaA” (Darmštat, Nemačka). DPPH reagens (2,2-difenil-2-pikrilhidrazil), 6-hidroksi-2,5,7,8-

tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina (Trolox), gvožđe (III) hlorid 6-hidrat, gvožđe (II) sulfat 7-hidrat, 1M natrijum-hidroksid, cijanidin-3-glukozid, kvercetin, rutin, *p*-kumarinska kiselina, kafeinska kiselina, hlorogena kiselina, kemferol, katehin nabavljeni su iz “Sigma–Aldrich” (Štajnhajm, Nemačka). Natrijum acetat je dobijen iz Alkaloid AD Skopje. L(+) askorbinska kiselina i hlorovodonična kiselina su nabavljeni od Lach-Ner (Neratovice, Češka), a natrijum nitrit, aluminijum hlorid od “Centrohém” (Beograd, Srbija). Etanol, methanol, glacijalna sirćetna kiselina poreklom je iz “Zorka pharma“ (Šabac, Srbija). Pektinski preparat Klerzyme®120 nabavljen je od proizvođača DSM – Francuska.

## 4.2. METODE

### 4.2.1. Tehnološki postupci proizvodnje voćnih sokova

Voćni sok je proizvod dobijen mehaničkom preradom jedne ili više vrsta tehnološki zrelog voća, koji nije fermentisao, konzervisan isključivo fizičkim postupcima, sa ukusom, bojom i aromom koji su karakteristični za tu vrstu voća (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011).

Mutan voćni sok pored soka iz voćnih ćelija sa rastvorljivim sastojcima sadrži fino dispergovane koloidne čestice. Mutan voćni sok može da ima minimalan talog poreklom od voća koji nestaje pri blagom mešanju (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 – ispr., 44/2011 i 77/2011).

Voćni sok od koncentrisanog voćnog soka je voćni sok koji se dobija kada se koncentrisanom voćnom soku ponovo doda ona količina vode koja je izdvojena prilikom koncentrisanja (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 – ispr., 44/2011 i 77/2011).

U ovom radu ispitivana su tri različita tehnološka postupka proizvodnje mutnih voćnih sokova:

- I. ceđenje izmuljanog voća (kljuka) na sobnoj temperaturi, bez primene enzimskog tretmana (dobijanje hladno ceđenih sokova),
- II. ceđenje termički tretiranog i enzimiranog kljuka na povišenoj temperaturi (dobijanje enzimiranih sokova),
- III. ceđenje termički tretiranog i enzimiranog kljuka na povišenoj temperaturi i pasterizacija (dobijanje pasterizovanih sokova).

**Prvi (I) postupak proizvodnje voćnih sokova obuhvatao je sledeće faze:**

1. pranje i inspekcija,
2. merenje voća,
3. muljanje voća na sobnoj temperaturi,
4. ceđenje voćnog soka na sobnoj temperaturi,
5. merenje soka i tropa - izračunavanje randmana,
6. zamrzavanje soka na - 20°C.

**Drugi (II) postupak proizvodnje voćnih sokova obuhvatao je sledeće faze:**

1. pranje i inspekcija,
2. merenje voća,
3. muljanje voća,
4. termički tretman (85°C, 2 minuta),
5. brzo hlađenje na 50°C,
6. enzimiranje (0,4 g/kg enzima Klerzime®120, 50°C, 60 minuta)  
(Vukosavljević, 2006),
7. merenje i dodavanje vode do početne mase voća,
8. ceđenje voćnog soka (50°C),
9. hlađenje soka na 20°C,
10. merenje soka i tropa - izračunavanje randmana,
11. zamrzavanje soka na - 20°C.

**Treći (III) postupak proizvodnje voćnih sokova obuhvatao je sledeće faze:**

1. pranje i inspekcija,
2. merenje voća,
3. muljanje voća,
4. termički tretman (85°C, 2 minuta),
5. brzo hlađenje na 50°C,
6. enzimiranje (0,4 g/kg enzima Klerzime®120, 50°C, 60 minuta)  
(Vukosavljević, 2006),
7. merenje i dodavanje vode do početne mase voća,
8. ceđenje voćnog soka (50°C),

9. merenje soka i tropa - izračunavanje randmana,
10. pasterizacija soka (85°C, 2 minuta),
11. brzo hlađenje soka na 20°C,
12. zamrzavanje soka na - 20°C.

Jagodasto voće obično se ne pere grubo, već se samo primenjuje fino pranje i čišćenje voća od nečistoća.

Nakon dezintegracije, u prvom postupku, voće je ceđeno i mutni matični sok je zamrznut do daljih analiza.

Izmuljano voće na povišenoj temperaturi, u drugom i trećem postupku, podvrgavano je termičkom tretmanu, na 85°C u trajanju od 2 minuta, zbog bolje ekstrakcije bojenih materija i zbog inaktivacije enzima, pre svega endogenog enzima polifenoloksidaze, ali i delimične redukcije prisutnih mikroorganizama. Termički tretman, takođe, doprinosi boljoj ekstrakciji svih sastojaka. Na visokoj temperaturi dolazi do dezintegracije biljne ćelije, tj. njene vakuole, pa se na taj način u toku ovog postupka iz ćelije ekstrahuje sok, zajedno sa prisutnim pigmentima (Niketić-Aleksić, 1982; Zlatković, 2003; Vereš, 2004; Vukosavljević, 2006).

Postupak ekstrakcije je veoma važan segment proizvodnje voćnih sokova, zbog očuvanja prirodne boje i arome. Zbog toga je od velikog značaja bio izbor odgovarajućeg enzimskog preparata, u cilju postizanja najboljih rezultata pri depektinizaciji i kasnijoj stabilnosti bojenih materija soka, uz maksimalni randman soka.

Za enzimiranje (drugi i treći postupak) je korišćen pektinski preparat Klerzyme®120, proizvođača DSM - Francuska. Klerzyme®120 je pektinski preparat koji se koristi za maceraciju i depektinizaciju "kiselog voća" sa pH vrednostima oko i ispod 3,2. Ovaj enzim je pogodan, jer je aktivan pri niskim pH vrednostima i visokim koncentracijama polifenolnih supstanci u voću. Takođe, omogućava potpunu razgradnju pektinskih supstanci, oslobađanje i stabilnost obojenih supstanci. Klerzyme®120 je preparat dobijen iz plesni *Aspergillus niger*. Njegovi sastojci su enzimi pektinaze i hemicelulaze, koji su stabilni pri niskim pH vrednostima. Preparat je aktivan na temperaturnom opsegu od 10-60°C, a njegova maksimalna aktivnost je na temperaturi od 45-50°C ipri pH 2-6. Kod jednostepenog enzimskog postupka (omogućuje

istovremeno maceraciju i depektinizaciju), celokupna količina enzima se dodaje pre ceđenja. Prednosti jednostepenog enzimiranja u odnosu na dvostepeno su: znatno lakše i efikasnije ceđenje i bolje očuvanja boje, pored istog randmana ceđenja (Vukosavljević et al., 2003; Vukosavljević et al., 2006). Preparat se koristi u količini od 0,2-0,4 g/kg, a vreme enzimiranja se kreće od 30-60 minuta. Ovaj postupak obezbeđuje maksimalan prinos i zadovoljavajući kvalitet (Vukosavljević, 2006).

Postupak pasterizacije je vršen na 85°C u trajanju od 2 minuta, kako bi se gubitak aromatičnih i bojenih materija sveo na minimum (Niketić-Aleksić, 1982; Vukosavljević, 2006).

Za naredne metode hemijske analize uzorci sokova su centrifugirani 10 minuta pri brzini 8000 o/min. Dekantiranjem je odvojen supernatant koji je dalje korišćen.

#### **4.2.2. Proizvodnja ekstrakata lekovitih i aromatičnih biljaka**

Tečni biljni ekstrakti (*Extractum fluidum*) pripremljeni su farmakopejskim postupkom jednostruke perkolacije (1:1, od 100 g biljne sirovine dobijeno je 100 g tečnog ekstrakta) (Ph. Jug. IV). Kao ekstragens korišćen je 50% vodeno-etanolni rastvor.

Perkolacija je kontinuirana ekstrakcija propisano usitnjene biljne sirovine pri sobnoj temperaturi koja se izvodi kontinuiranim proticanjem propisanog rastvarača kroz stub biljne sirovine koja se nalazi u perkolatoru.

Usitnjena biljna sirovina (100 g) najpre je nakvašena određenom količinom propisanog ekstragensa i ostavljena da bubri oko 2 h. Zatim je kvantitativno prebačena u perkolator (staklena cev određenog promera koja se završava staklenim filterom i slavinom). Punjenje je vršeno uz lako potresanje perkolatora kako bi se u njemu formirao rastresiti i jednoličan stub biljne sirovine. Zatim je pažljivo naliveno određenom količinom ekstragena (a do te zapremine se dolazi eksperimentalno) i ostavljeno je 24 h kako bi se vršila ekstrakcija. Nakon toga je pažljivo, otvaranjem slavine perkolatora, ispuštano u kapima jednoličnom brzinom i preuzeto 100 g tečnog ekstrakta.

Ekstrakt je profiltriran i čuvan u tamnim staklenim dobro zatvorenim posudama na hladnom mestu.

### **4.2.3. Dobijanje bezalkoholnih pića (voćnih sokova sa lekovitim biljkama)**

Mutni voćni sokovi proizvedeni od različitog voća su kombinovani u tri različite mešavine, koje su predstavljale osnovu za dobijanje tri bezalkoholna pića sa različitim funkcionalnim svojstvima. Tako su dobijene tri (D1, D2 i D3) kombinacije – proizvedene od voćnih sokova dobijenih pomoću sva tri opisana tehnološka postupka proizvodnje (I, II i III), pa se na taj način dobija ukupno devet uzoraka D mešavina.

Da bi se korigovala prirodna kiselost izabranog jagodastog i koštičavog voća, vršena je korekcija ukusa (slasti) voćnih mešavina. To je vršeno na potpuno prirodan način, dodavanjem voćnog soka jabuke, proizvedenog iz koncentrisanog voćnog soka. Na taj način dobijane su nove JD kombinacije: JD1, JD2 i JD3 – od mešavina sokova proizvedenih I, II i III postupkom proizvodnje (ukupno devet uzoraka).

Ekstrakti odabranog lekovitog i aromatičnog bilja, kombinovani su u mešavine sa određenim funkcionalnim svojstvima (K mešavine), koje su senzorno prihvatljive i kompatibilne sa voćnim mešavinama. Ovo je vršeno radi dobijanja pića sa potencijalno povoljnim ciljanim fiziološkim dejstvom na zdravlje ljudi. Tako su dobijene tri mešavine ekstrakata: K1 (sa povoljnim dejstvom na metabolizam), K2 (sa povoljnim dejstvom na kardiovaskularni sistem) i K3 (sa povoljnim dejstvom na jačanje otpornosti organizma), koje su dodavane u JD kombinacije.

Dobijena bezalkoholna pića sa potencijalno povoljnim fiziološkim svojstvima namenjena su određenim grupama potrošača. Na taj način su dobijena bezalkoholna pića od mešavina voćnih sokova i kombinacije ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja: KD1 (“Fit”), KD2 (“Kardio”) i KD3 (“Imuno”), i to od mešavina sokova dobijenih I, II i III postupkom proizvodnje (ukupno devet uzoraka).

Nakon proizvodnje voćnih sokova, ekstrakata i bezalkoholnih pića, izvršene su hemijske analize odabranih parametara kvaliteta.

Za svaki uzorak vršena su tri merenja, a rezultati su prikazani kao srednja vrednost  $\pm$  standardna greška.

#### 4.2.4. Hemijski pokazatelji kvaliteta

##### 4.2.4.1. Randman

Randman (% iskoristivog dela ploda nakon prerade) predstavlja prinos dobijenog soka od voća prilikom tehnološkog postupka proizvodnje. Određivanje randmana vršeno je prilikom dobijanja voćnih sokova iz voća različitim tehnološkim postupcima (postupak ceđenja voćnog kljuka bez primene enzima i povišenih temperatura (I) i postupak dobijanja voćnog soka enzimiranjem voćnog kljuka na povišenoj temperaturi (II)). Kod trećeg postupka voćni sok je dobijen enzimiranjem na isti način kao i kod drugog postupka, pa su i dobijene vrednosti za randman bile identične kao i kod drugog postupka.

Vrednosti su izračunavane prema formuli:

$$R = (M_{\text{soka}} / M_{\text{voća}}) * 100 (\%), \text{ gde je}$$

R – randman,  $M_{\text{voća}}$  – masa voća do kojeg se dobija sok,  $M_{\text{soka}}$  – masa dobijenog soka.

##### 4.2.4.2. Određivanje pH vrednosti

Određivanje pH vrednosti ispitivanih sokova, ekstrakta i bezalkoholnih pića vršeno je pH-metrom sa staklenom elektrodom (WTW inoLab).

##### 4.2.4.3. Određivanje rastvorljive suve materije

Rastvorljiva suva materija (SM%) u svim uzorcima određena je pomoću refraktometra (Gramma libero).

##### 4.2.4.4. Određivanje količine etanola u finalnim uzorcima

Etanol se dobro rastvara u vodi i velikom broju polarnih, ali i nepolarnih jedinjenja. U bezalkoholnim pićima dodavani su vodeno-etanolni ekstrakti lekovitog i aromatičnog bilja, pa je na taj način mala količina etanola bila prisutna u bezalkoholnim pićima. Sadržaj etanola u voćnim sokovima i bezalkoholnim pićima ne sme biti veći od 3,0 g/l (g/kg), prema Pravilniku (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011).

Određivanje količine etanola u bezalkoholnim pićima vršeno je na instrumentu Alcoalyzer Beer ME Analyzing System-a (Anton Paar GmbH, Austria), (DMA 4500,

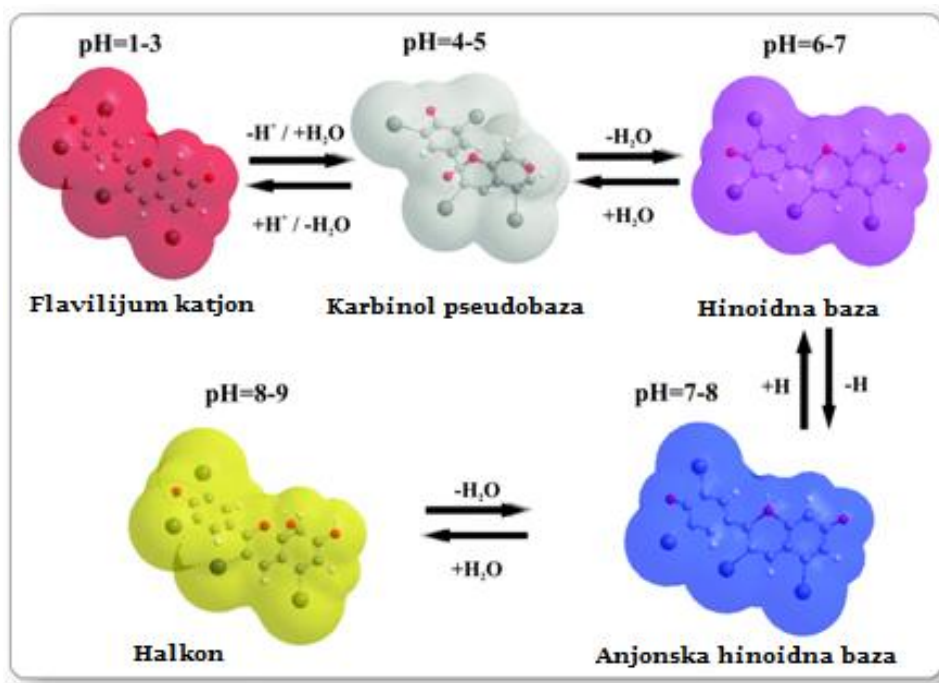
Anton Paar GmbH, Austria). Prethodno centrifugirani i filtrirani uzorci injektovani su u aparat i rezultati su očitavani direktno sa monitora uređaja.

Sadržaj alkohola izražen je u % v/v.

#### 4.2.5. Određivanje sadržaja ukupnih monomernih antocijana

##### Princip:

Sadržaj ukupnih monomernih antocijana određivan je pH-diferencijalnom metodom (Lee et al., 2005; Jakobek et al., 2007). Ova metoda se zasniva na transformaciji strukture antocijana pri promeni pH vrednosti sredine (slika 35). Monomerni antocijani se pri pH=1 nalaze u obliku obojenog flavilijum katjona, a pri pH=4,5 prelaze u bezbojni hemiketalni oblik. Ova transformacija je reverzibilna sa promenom pH. Određivanje sadržaja ovih antocijana se zasniva na merenju promene u apsorbanci pri dve različite pH vrednosti (pH=1 i pH=4,5). Razlika u apsorbanci uzoraka merenim na pH=1.00 i na pH=4.50, na talasnoj dužini od 520 nm, proporcionalna je koncentraciji pigmenta. Sadržaj antocijana u polimernom obliku ovom metodom ne može se odrediti, jer kod njih nema promene boje pri promeni pH vrednosti.



Slika 35. Strukturne transformacije u vodenom rastvoru antocijana na različitim pH vrednostima (Ananga et al., 2013)



**Reagensi:**

- Pufer pH=1,0 (0,025M kalijum-hlorid)
- Pufer pH=4,5 (0,4M natrijum-acetat)

**Postupak:**

Odgovarajući faktor razblaženja utvrđen je razblaživanjem uzorka sa puferom pH=1 i merenjem njegove apsorbance na talasnoj dužini od 520 nm. Uzorak je razblaživan sve dok njegova apsorbance nije bila u linearnom opsegu spektrofotometra. Koristeći dobijeni faktor razblaženja za svaki uzorak su pripremljena dva rastvora: jedan sa puferom pH=1 i drugi sa puferom pH=4,5. Zapremina uzorka u ukupnoj zapremini rastvora nije smela preći 20 % v/v, kako se ne bi nadmašio sadržaj kiseline koju pufer može neutralisati. Dobijenim rastvorima sa puferima pH=1 i pH=4,5, u vremenskom intervalu od 20 do 50 minuta od pripreme, merena je apsorbance na dve talasne dužine: 520 i 700 nm. Apsorbance na 700 nm je merena da bi se korigovala greška koja se može javiti usled nastanka pene.

Sva spektrofotometrijska određivanja vršena su na UV/VIS spektrofotometru (JENWAY 6105).

**Proračun:**

Sadržaj ukupnih monomernih antocijana je preračunat i izražen u mg ekvivalenata cijanidin-3-glukozida po litru soka, ekstrakta ili bezalkoholnog pića (mg CGE/l), korišćenjem formule:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4.5}$$

Antocijani (cijanidin-3-glukozidekvivalenti, mg CGE/l) =  $A \times MW \times DF \times 1000 / (\epsilon \times l)$

gde je:

A – izračunata apsorbance po gore navedenoj formuli;

MW – molekulska masa cijanidin-3-glukozida (MW = 449.2 g/mol);

DF – faktor razblaženja;

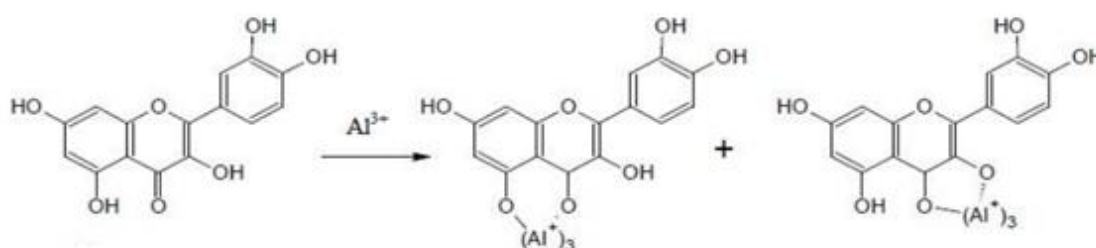
l – širina kivete u cm;

$\varepsilon$  – molarni ekstinkcioni koeficijent (za cijanidin-3-glukozid je  $26900 \text{ l} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ) (Lee et al., 2005; Jakobek et al., 2007).

#### 4.2.6. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida

##### Princip:

Ukupan sadržaj flavonoida određivan je kolorimetrijskom metodom (Zhishen et al., 1999). Ova metoda se bazira na formiranju kompleksnih jedinjenja flavonoida sa aluminijum (III)-hloridom (slika 36) (Chang et al., 2002).



Slika 36. Građenje helata flavonoida (kvercetina) sa  $\text{Al}^{3+}$  jonom (Stojanović, 2014)

##### Reagensi:

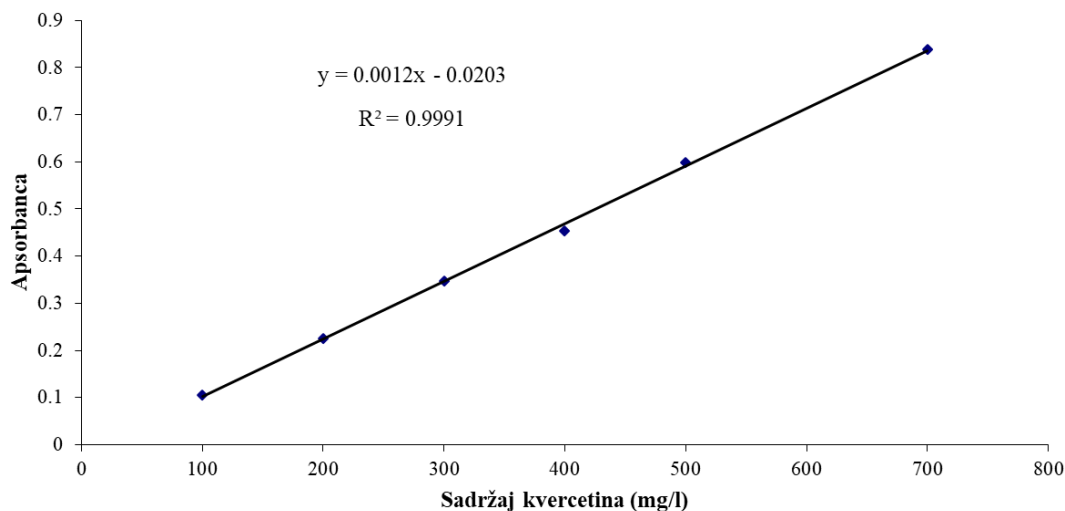
- 5 % rastvor  $\text{NaNO}_2$
- 10 % rastvor  $\text{AlCl}_3$
- 1M rastvor  $\text{NaOH}$

##### Postupak:

Odmereno je 0,5 ml soka ili ekstrakta (ili standardnog rastvora kvercetina) i 2 ml destilovane vode u epruvetu od 10 ml, a zatim je dobijeni rastvor dobro homogenizovan. Posle homogenizacije dodato je 0,15 ml 5 %  $\text{NaNO}_2$ . Nakon 5 minuta dodato je 0,15 ml 10 %  $\text{AlCl}_3$ , a nakon još 6 minuta i 1 ml 1M  $\text{NaOH}$ . Zatim je zapremina rastvora dopunjena destilovanom vodom do 5 ml. Apsorbanca rastvora određivana je na 510 nm u odnosu na odgovarajuću slepu probu (umesto uzorka soka, ekstrakta ili standarda dodavano 0,5 ml destilovane vode). Kao standard korišćen je rastvor kvercetina u etanolu.

**Proračun:**

Korišćenjem kalibracione krive rastvora kvercetina (slika 37) određivan je sadržaj sadržaj ukupnih flavonoida u uzorcima.



Slika 37. Kalibraciona kriva rastvora kvercetina

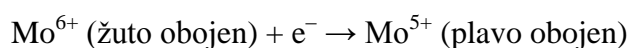
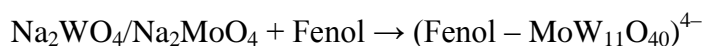
Rezultati su izraženi u mg ekvivalenata kvercetina po litru soka, ekstrakta ili bezalkoholnog pića.

#### 4.2.7. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola

**Princip:**

Sadržaj ukupnih polifenola je određivan korišćenjem Folin-Ciocalteu reagensa po metodi opisanoj u literaturi (Singleton et al., 1999; Fu et al., 2011). Folin-Ciocalteu-ov reagens sadrži kompleks fosfovolframove/fosfomolibdenske kiseline.

Metoda po Folin–Ciocalteu je zasnovana na merenju redukujućeg kapaciteta polifenolnih jedinjenja, čijom disocijacijom u alkalnoj sredini nastaje proton i fenoksidni anjon. Nastali fenoksidni anjon redukuje Folin-Ciocalteu reagens, tj. molibden do plavo obojenog kompleksa, jona (Fenol – MoW<sub>11</sub>O<sub>40</sub>)<sup>4-</sup>:



Njegova apsorbanca meri se spektrofotometrijski na 760 nm (Folin i Ciocalteu, 1927).

Na isti način sa Folin–Ciocalteu reagensom mogu da reaguju još neka jedinjenja, pa reakcija na kojoj se zasniva merenje sadržaja ukupnih polifenolnih komponenata nije specifična.

**Reagensi:**

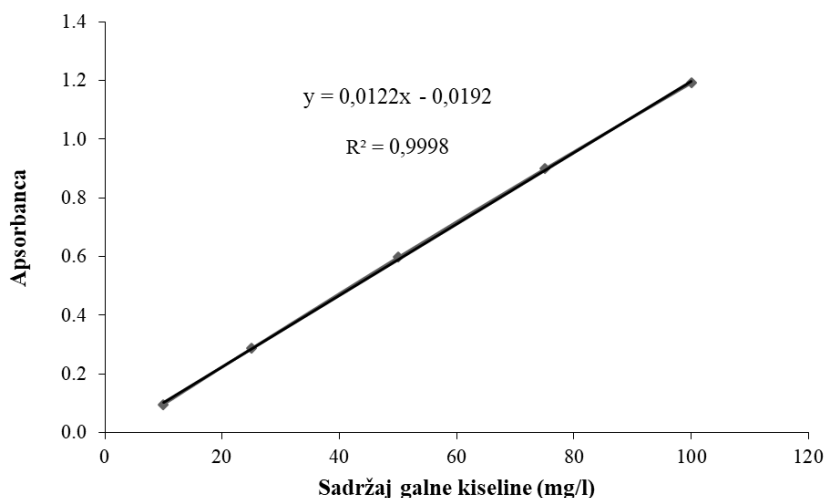
- Folin-Ciocalteu reagens, razblažen 10 puta destilovanom vodom, čuvan na tamnom mestu
- 75g/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- 0,1 g/l galna kiselina.

**Postupak:**

Uzorak razblažen u pogodnom rastvaraču (vodi) u količini od 200 $\mu\text{l}$  dodavan je u 1000 $\mu\text{l}$  razblaženog Folin-Ciocalteu reagensa 1:10. Nakon 6 minuta dodavano je 800 $\mu\text{l}$  natrijum karbonata (75 g/l) i nakon inkubacije (stajanja) dva sata na sobnoj temperaturi u mraku merena je apsorbancija na 760 nm. Kao slepa proba umesto razblaženog uzorka korišćen je rastvarač. Kao referentni standard korišćena je galna kiselina.

**Proračun:**

Na osnovu izmerenih apsorbanci, sa kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline određivan je sadržaj polifenolnih jedinjenja (mg/l) korišćenjem prikazane jednačine prave (slika 38).



Slika 38. Kalibraciona kriva rastvora galne kiseline

Rezultati su izraženi kao mg ekvivalenata galne kiseline (mg GAE)/l soka, ekstrakta ili bezalkoholnog pića.

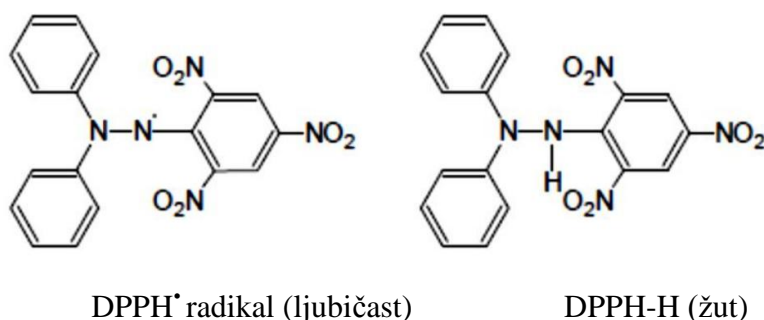
## 4.2.8. Određivanje antioksidativnog kapaciteta

### 4.2.8.1. DPPH metoda

#### Princip:

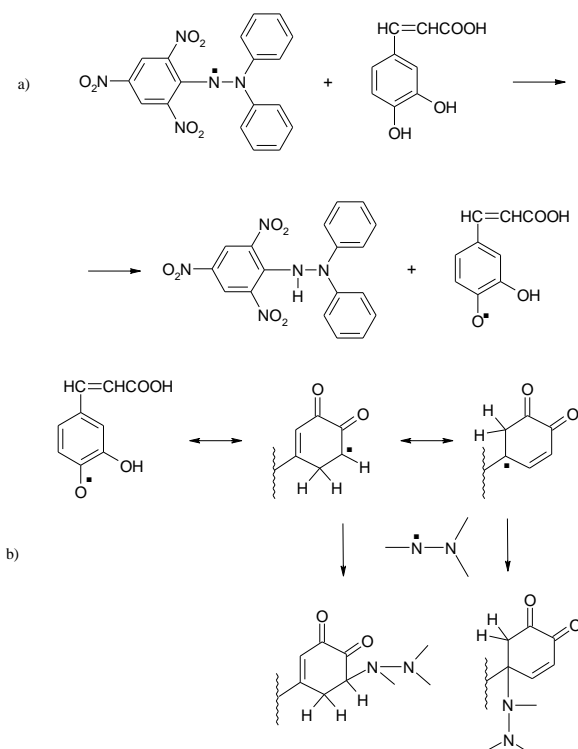
DPPH metoda je najčešće korišćena metoda za utvrđivanje mogućnosti jedinjenja da se ponašaju kao donori vodonika ili "hvatači" slobodnih radikala. Za određivanje antioksidativnog kapaciteta DPPH metodom korišćen je 0.1mM metanolni rastvor DPPH (2,2-difenil-1-picrylhidrazil) reagensa (Blois, 1958; Brand-Williams et al., 1995; Sanchez- Moreno, 2002). Ova metoda se zasniva na spektrofotometrijskom praćenju intenziteta promene boje. Antioksidanti redukuju DPPH. U prisustvu antioksidanata dolazi do transformacije azot-centriranog stabilnog radikala DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ljubičaste boje (apsorpcioni maksimum 517 nm) u redukovanu, žuto obojenu formu DPPH-H. Za antioksidativno delovanje fenolnih jedinjenja glavnu ulogu ima prisustvo hidroksilne funkcionalne grupe u njihovoj strukturi (Marxen et al., 2007; Đorđević, 2008). Ovo je jednostavna i pouzdana metoda za određivanje antioksidativnog kapaciteta raznih jedinjenja.

Na slici 39. prikazan je slobodni radikal difenilpikrilhidrazil i nereaktivno jedinjenje difenilpikrilhidrazin, nastalo nakon redukcije slobodnog DPPH radikala antioksidansom.



Slika 39. Radikaliskai redukovana forma DPPH<sup>•</sup> (Stojanović, 2014)

Na slici 40 prikazan je mehanizam antioksidativnog delovanja fenolnih jedinjenja na primeru kafeinske kiseline.



Slika 40. Mehanizam antioksidativnog delovanja fenolnih jedinjenja (prikazan na primeru kafeinske kiseline): a) otpuštanje H-atoma i b) reakcija aroksi radikala sa DPPH radikalom (Đorđević, 2008)

#### Reagensi:

- 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)
- Metanol (96% V/V)
- Trolox
- L-askorbinska kiselina (vitamin C)

#### Postupak I:

Uzorci su rastvoreni u pogodnom rastvaraču (metanolu). U 300 $\mu$ l razblaženog uzorka dodavano je 2700 $\mu$ l metanolnog rastvora DPPH reagensa. Nakon inkubiranja 30min u mraku, na sobnoj temperaturi merena je apsorbancija na 517nm. Kao slepa proba umesto razblaženog uzorka korišćen je rastvarač. Kao referentni standard korišćen je rastvor Trolox-a.

**Proračun I:**

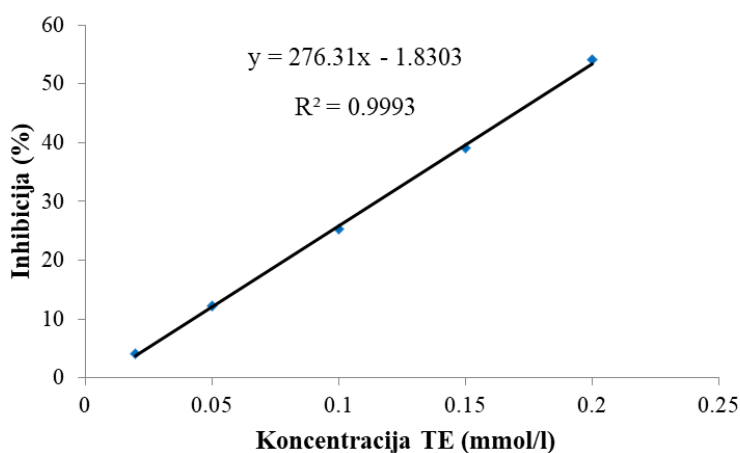
Na osnovu izmerenih apsorbanci, sa kalibracione krive rastvora Trolox-a (slika 41), korišćenjem određene jednačine prave, određivana je DPPH vrednost. Konstruisan je dijagram zavisnosti procenta inhibicije DPPH radikala u funkciji koncentracije rastvora Trolox-a, čime je dobijena linearna standardna kriva sa koje su očitavani rezultati.

$$I\% = [(Asp - Aa) / Asp] \times 100$$

I – procenat inhibicije DPPH radikala

Asp – apsorbance slepe probe

Aa – apsorbance analize



Slika 41. Kalibraciona kriva rastvora Troloxa

Rezultati su prikazani kao mmol TE/l soka, ekstrakta ili bezalkoholnog pića.

**Postupak II:**

Napravljena je serija razblaženja za svaki uzorak, koji su prema opisanom postupku I, davali vrednosti apsorbance u linearnom opsegu.

Smanjenje apsorbancije rastvora DPPH je srazmerno hidrogen-donorskoj aktivnosti ispitivanog jedinjenja mereno je spektrofotometrijski na 517 nm. Aktivost uzorka je izražavana se kao IC50 vrednost.

**Proračun II:**

Inhibicija DPPH radikala je računata prema jednačini:

$$I\% = [(Asp - Aa) / Asp] \times 100$$

Za svaki uzorak neophodno je bilo sa nacrtanog grafika zavisnosti inhibicije radikala od koncentracija serije razblaženih rastvora očitati IC50 vrednost. Rezultati za IC50 vrednost (koncentracija uzorka koja je neophodna za neutralizaciju 50% DPPH radikala) izražavani su u  $\mu\text{g/ml}$  (Đorđević, 2008). Niža vrednost IC50 znači da antioksidans ima veću antioksidativnost (Cuvelier et al., 1992). Antioksidativna aktivnost može da se izražava i kao antiradikalska moć, gde veće vrednosti ukazuju na viši antioksidativni kapacitet. To je recipročna vrednost IC50 vrednosti (Becker et al., 2004).

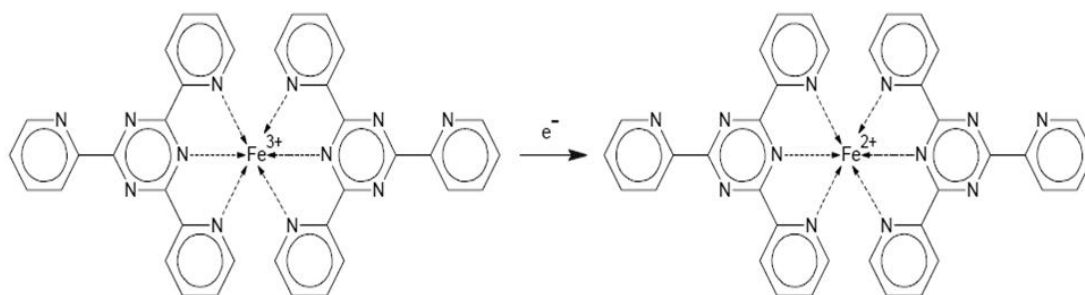
Za poređenje je korišćen vitamin C. IC50 vrednosti za vitamin C dobijene su na isti način kao i za uzorke.

**4.2.8.2. FRAP metoda****Princip:**

FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) metoda je korišćena za određivanje redukujuće moći uzoraka i odrađena je po postupku opisanom u literaturi (Fu et al., 2011). Metoda se zasniva na sposobnosti polifenolnih jedinjenja (antioksidanasa) da u kiseloj sredini ( $\text{pH} = 3.60$ ) redukuju žuto obojeni kompleks gvožđa i 2,4,6- tri (2-piridil)-s-triazina [ $\text{Fe}^{3+}$  -TPTZ] do intenzivno plavog kompleksa [ $\text{Fe}^{2+}$  -TPTZ] (slika 42). Apsorpcioni maksimum dobijenog kompleksa očitava se na  $\lambda = 593 \text{ nm}$ . Vrednost apsorbance je linearno proporcionalna koncentraciji antioksidanasa u rastvoru.

Reakcija je nespecifična, pa bilo koji sistem sa negativnijim redoks potencijalom od para  $\text{Fe}^{3+}$  -TPTZ/ $\text{Fe}^{2+}$  -TPTZ dovešće do redukcije. Redukcioni kapacitet izražava se preko količine nekog standardnog reduktanta ( $\text{Fe}^{2+}$ , askorbinska kiselina i sl.) koja bi izazvala isti nivo redukcije  $\text{Fe}^{3+}$  -TPTZ (Benzie i Strain, 1996).





Slika 42. Reakcija redukcije  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ kompleksa (žuto obojen) u  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ kompleksa (plavo obojen) (Stojanović, 2014)

### Reagensi:

- 40 mM rastvor HCl
- 10 mM rastvor 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) u 40 mM HCl
- 20 mM  $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$
- 300 mM acetatni pufer, pH 3,60
- FRAP reagens (pomešani su: acetatnipufer, rastvor TPTZ i rastvor  $\text{FeCl}_3$  u odnosu 10:1:1, respektivno)
- $\text{FeSO}_4$

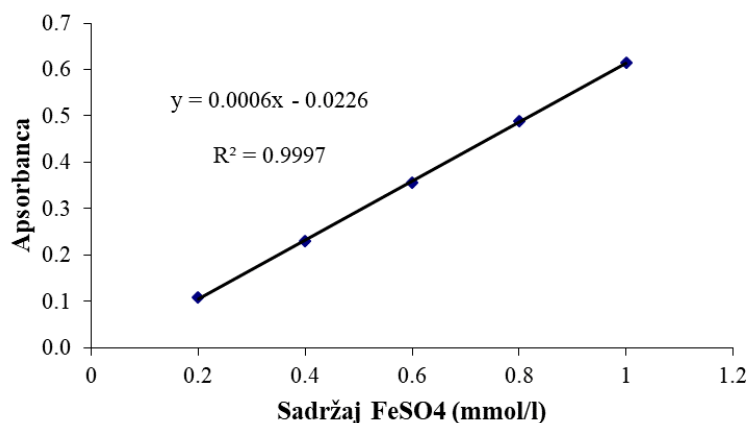
### Postupak:

FRAP reagens je napravljen od acetatnog pufera (300 mM, pH 3,6), TPTZ rastvora (10 mM TPTZ u 40 mM HCl) i rastvora  $\text{FeCl}_3$  (20 mM u vodi) u odnosu 10:1:1. U 3ml FRAP reagensa zagrejanog na 37 °C dodato je 100 $\mu\text{l}$  uzorka razblaženog u pogodnom rastvaraču (etanol). Nakon 4 minuta merena je apsorbancija na 593 nm. Kao slepa proba umesto razblaženog uzorka korišćen je rastvarač. Kao referentni standard korišćen je rastvor  $\text{FeSO}_4$ .

### Proračun:

Rezultati su prikazani kao mmol Fe(II)/l soka ili ekstrakta.

Na osnovu izmerenih apsorbanci, sa kalibracione krive standardnog rastvora  $\text{FeSO}_4$  (slika 43), korišćenjem prikazane jednačine prave, određuju se FRAP vrednosti (mmol Fe(II)/l).

Slika 43. Kalibraciona kriva rastvora FeSO<sub>4</sub>

#### 4.2.9. Određivanje sadržaja fenolnih kiselina i flavonoida (LC/MS metoda)

##### Tečna hromatografija

Analiza fenolnih jedinjenja u uzorcima rađena je uz pomoć Waters Acquity UPLC uređaja opremljenog kvaternom pumpom, injektorom, grejačem kolone i UV detektorom i povezanog sa kvadrupolnim masenim detektorom (TQD, triple quadrupole detector) (Gratacos-Cubarsi et al., 2010). Za razdvajanje fenolnih jedinjenja korišćena je ZORBAX Eclipse XDB C18 kolona (150 × 4,6 mm; 5 μm). Tečna hromatografija je rađena pri protoku mobilnih faza od 0,7 mL/min i temperaturi kolone od 25 °C, pri čemu je injekciona zapremina uzorka iznosila 1 μL. Gradijent mobilnih faza, gde je mobilna faza A 0,2%-tni rastvor mravlje kiseline u dejonizovanoj vodi (v/v) a mobilna faza B acetonitril, prikazan je u tabeli 3. UV detektor je snimao u opsegu talasnih dužina 190–450 nm. Pre injekcije, uzorci su profiltrirani kroz Premium Syringe filtere (regenerisana celuloza, 0,45 μm, 15 mm).

Tabela 3. Režim eluiranja na tečnom hromatografu

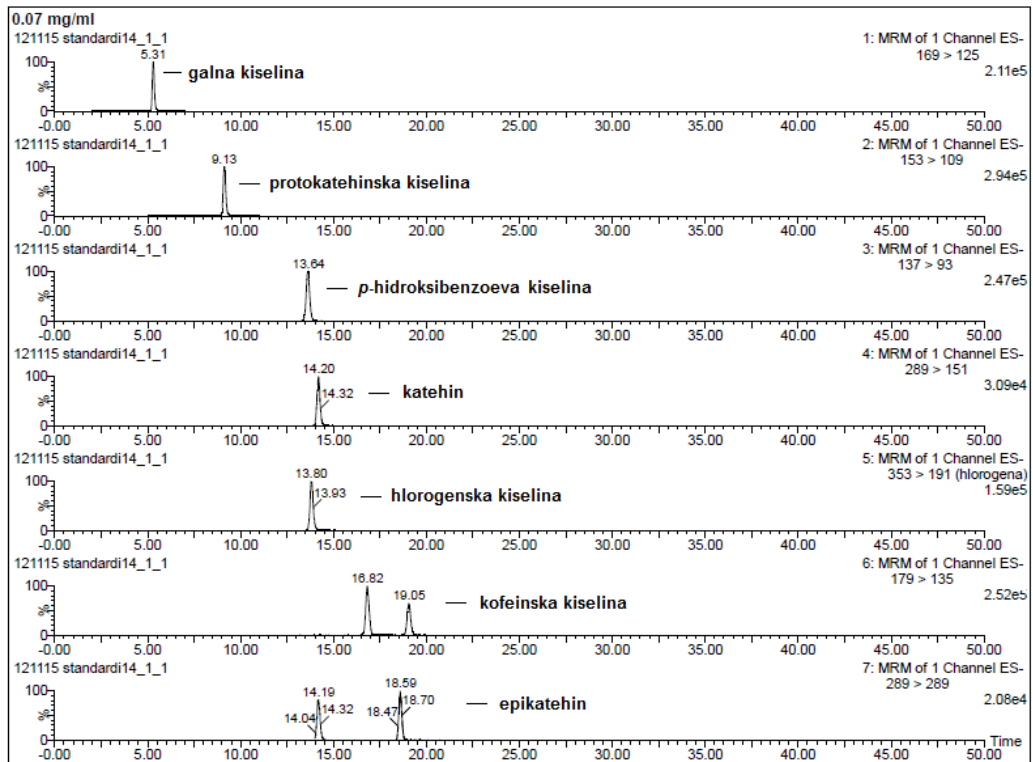
Vreme (min)	Rastvarač A (%)	Rastvarač B (%)
0	95	5
20	84	16
28	60	40
32	30	70
36	2	98
45	2	98
46	95	5
55	95	5

## Masena spektrometrija

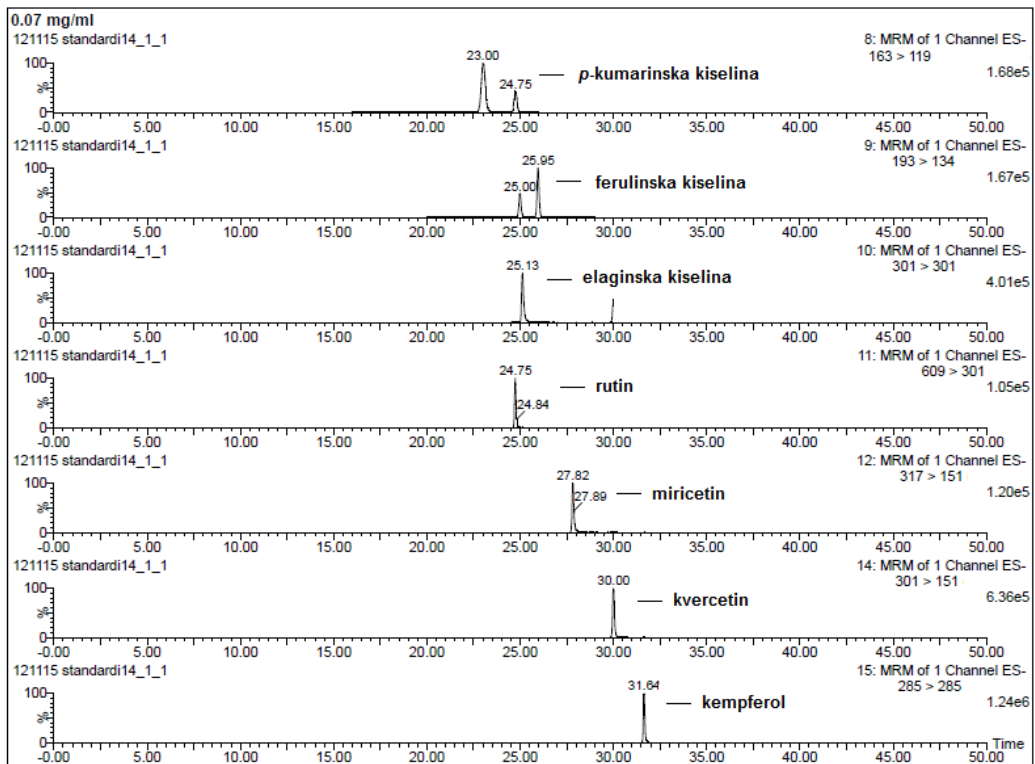
Identifikacija fenolnih jedinjenja izvedena je poređenjem njihovih retencionih vremena, UV spektara i MRM (multiple reaction monitoring) prelaza sa vrednostima dobijenim za standarde. Kvantifikacija identifikovanih jedinjenja izvedena je integraljenjem površina pikova dobijenih praćenjem prelaza  $[M-H]^-$  jona roditelja u jone potomke specifične za analizirana jedinjenja. Rađena je metoda eksternog standarda i dobijene su kalibracione krive za sva ispitivana jedinjenja. ESI (electrospray ionization) jonski izvor je radio u negativnom režimu pri temperaturi od 150 °C, naponu na kapilari od 3,5 kV, naponu na ekstraktoru od 3 V, naponu na konusu od 30 V (60 V za rutin), kolizionoj energiji od 9 eV (20 eV za rutin), pri čemu je argon korišćen kao kolizionni gas. Snimanje uzorka i integraljenje pikova je rađeno u MassLynx 4.1 programu.

## Priprema standarda

Čisti standardi: galne kiseline, protokatehuinske kiseline, 4-hidroksibenzoeve kiseline, kafeinske kiseline, hlorogene kiseline, katehina, epikatehina, p-kumarinske kiseline, elaginske kiseline, ferulinske kiseline, rutina, miricetina, kvercetin i kempferola mešani su i na taj način je pripremljena serija standardnih rastvora. Svaka komponenta u rastvoru imala je sledeće koncentracije: 0.714, 1.43, 3.57, 7.14, 14.28, 21.42, 28.56, 35.70, 49.98, 64.26, 71.40  $\mu\text{g/mL}$ . Od svakog od standardnih rastvora injektovano je po 10  $\mu\text{L}$  u sistem. Dobijeni su rezultati i na osnovu površine ispod dobijenih pikova svake komponente iz standardnih rastvora napravljene su standardne krive za svaki od standardnih rastvora (Đorđević, 2016) (slike 44 i 45).



Slika 44. Hromatogrami standardnih rastvora



Slika 45. Hromatogrami standardnih rastvora

## Priprema uzoraka

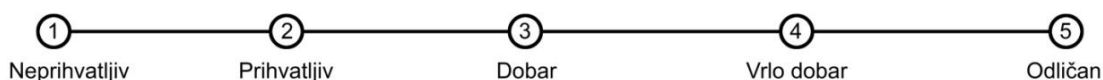
Ekstrahovano je po 20 mL od uzoraka voćnog soka, ekstrakta ili bezalkoholnog pića sa po 20 mL etil acetata. Nakon toga, ekstrakt je osušen i rastvoren u 1 mL metanola. Od ovog rastvora 10  $\mu$ L je injektovano u Waters ACQUITY UPLC/MS sistem. Koncentracije pojedinih komponenti u uzorku dobijene su stavljanjem u odnos površine ispod pikova koje su dobijene od jona određene komponente iz uzorka sa površinom ispod pikova koje su dobijene od jona određene komponente iz standardnih rastvora. Rezultati su izraženi su kao mg fenolnog jedinjenja po litru uzorka- voćnog soka, ekstrakta ili bezalkoholnog pića (mg/l). Softver MassHunter Workstation upotrebljivan je za dobijanje i obradu podataka.

### 4.2.10. Senzorna analiza

Za poređenje senzornog kvaliteta dobijenih bezalkoholnih pića korišćen je metod bodovanja. Degustaciju je vršilo 5 eksperata u oblasti senzorne analize voćnih sokova.

**Eksperti** su osobe koje su ispunile sve uslove za ocenjivače, školovani su i obučeni u oblasti ocenjivanja jednog uskog specifičnog proizvoda, detaljno su upoznati sa tehnologijom proizvodnje odgovarajućeg proizvoda, a poseduju dugogodišnje iskustvo i mogućnost da svakodnevno ocenjuvaju, dok su ocenjivači osobe koje su svoje sklonosti i sposobnosti za ispitivanje i ocenjivanje pića dokazale, uz prethodnu obaveznu edukaciju i upoznavanje sa osnovnom tehnologijom proizvodnje određenih pića.

Prilikom ocenjivanja korišćen je bodovni raspon od 1 do 5 (slika 46), sa mogućnošću korišćenja polovine boda. Prethodno odabrana reprezentativna senzorna svojstva (kategorija) kvaliteta su određivana ocenama: 1-neprihvatljiv, 2-prihvatljiv, 3-dobar, 4-vrlo dobar i 5-odličan kvalitet.



Slika 46. Bodovni raspon kategorija kvaliteta

Budući da pojedinačna svojstva kvaliteta nemaju podjednak uticaj na ukupni kvalitet bezalkoholnih pića, za svako odabrano svojstvo određen je koeficijent važnosti (KV), pomoću kojeg je data ocena korigovana (množenjem sa KV). Odabrana reprezentativna svojstva kvaliteta bila su: ukus, boja, aroma i mutnoća. Ukus predstavlja najvažnije svojstvo nekog proizvoda, a nastaje stimulacijom gustatornih receptora komponentama proizvoda koji se ocenjuje. Mutnoća se ocenjivala umesto bistrine, jer su se u eksperimentu proizvodila bezalkoholna pića od mutnih voćnih sokova i predstavljala je sveukupnu vizuelnu dopadljivost pića. Boja se definiše kao kombinacija vizuelno shvaćene informacije sadržane u svetlosti koju odašilje ili rasipa uzorak (Radovanović i Popov-Raljić, 2001). Termin "aroma" u francuskom i engleskom jeziku je različito definisan. Francuski "arôme" podrazumeva senzorna svojstva koja se registruju olfaktornim čulom, preko pozadine nosa, ali prilikom ispitivanja ukusa. U engleskom termin "aroma" označava – prijatan miris (SRPS ISO 5492:2002 E). Koeficijenti važnosti za svojsva kvaliteta po opadajućem prioritetu bili su: ukus - 8; boja - 5; aroma - 4 i mutnoća - 3. Koeficijenti važnosti izabrani su prema uticaju pojedinih svojstava na ukupan kvalitet, a izbalansirani tako da njihov zbir iznosi 20. Ukupna ocena senzornog kvaliteta bezalkoholnih pića definisana je kao suma korigovanih ocena sva četiri pokazatelja kvaliteta. S obzirom da zbir koeficijenata vrednosti iznosi 20, a da je maksimalna ocena po svojstvu 5, maksimalna suma korigovanih ocena, a samim tim i maksimalna ukupna ocena kvaliteta, iznosila je 100, tako da su izračunate ukupne ocene izražavane kao "% od maksimalno mogućeg kvaliteta". Deljenjem ove vrednosti sa 20 (zbir koeficijenata važnosti) dobija se ponderisana srednja vrednost ocene, koja, takođe, predstavlja ukupan senzorni kvalitet ispitivanih uzoraka.

#### 4.2.11. Statistička analiza

U radu su predstavljene deskriptivne statističke vrednosti za sva posmatrana obeležja. Predstavljane su minimalne i maksimalne vrednosti obeležja, kao mera centralne tendencije prikazana je aritmetička sredina, a kao mera disperzije standardna devijacija.

Statistička analiza dobjenih rezultata, zavisno od dizajna eksperimenta, podrazumevala je korišćenje jedno- i dvofaktorske analize varijanse (ANOVA), sa pratećim *post-hoc* Takijevim testom (Tukey's HSD) za testiranje pojedinačnih razlika aritmetičkih sredina na nivou značajnosti  $p < 0,05$  i  $p < 0,01$ .

Jačina veze između posmatranih metoda ocenjivana je Pirsonovim koeficijentom korelacije, čija je značajnost ocenjivana na nivoima  $p < 0,05$  i  $p < 0,01$ .

Sve analize dobijenih eksperimentalnih podataka urađene su korišćenjem statističkog softverskog paketa SPSS v. 20.

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

### 5.1. ANALIZA POLAZNIH SIROVINA

#### 5.1.1. Određivanje tehnoloških parametara ispitivanih sokova

Randman (%), pH vrednost i sadržaj rastvorljive suve materije (%), analizirani su u polaznim uzorcima, a dobijeni rezultati prikazani su tabelarno (tabele 4-6).

Randman (prinos soka, iskorišćenje voća ili udeo iskoristivog dela ploda pri postupku prerade), prikazan je u tabeli 4.

Tabela 4. Randman pri proizvodnji sokova

Voćni sokovi	Randman (%)	
	I postupak	II i III postupak
<b>jagoda</b>	86	94
<b>malina</b>	80	83
<b>kupina</b>	80	85
<b>višnja</b>	61	84
<b>borovnica</b>	81	85
<b>crvena ribizla</b>	82	87
<b>crna ribizla</b>	75	83

Dobijene vrednosti pokazale su da se randman (iskorišćenje voća) kretao od 61% kod hladno ceđenog soka višnje do čak 94% kod enzimiranog soka jagode. S obzirom na to da je u II i III postupku proizvodnje primenjen enzimski tretman, sa ciljem povećanja ekstrakcije soka iz biljnih ćelija, dobijene su identične vrednosti randmana (Tabela 4). Kod ispitivanih sokova je bio je zabeležen viši prinos u poređenju sa vrednostima koje su dobijene kod hladno ceđenih sokova, istih voćnih vrsta, u istraživanjima autora Konić-Ristić et al. 2011. Plodovi voća, krišćeni u eksperimentu ubrani su u stadijumu tehnološke zrelosti za preradu u voćni sok, pa je u njima već delimično izvršena prirodna hidroliza protopektina i na taj način omogućeno lakše ceđenje soka iz dobijenog kljuka.

Postupak termičkog tretmana kljuka i enzimiranja, na povišenoj temperaturi, kod sokova proizvedenih II i III postupkom, uticao je na povećanje randmana kod ovih uzoraka, odnosno povećao se % izdvojenog soka iz voća. Ovaj uticaj je bio najizraženiji kod sokova jagode i crvene ribizle, gde su dobijene vrednosti randmana iznosile 94% i 87%, respektivno. Enzimaska obrada kljuka povećala je filtrabilnost soka, pa je omogućeno lakše ceđenje. Takođe, termički tretman pre enzimiranja, prouzrokovao je



denaturaciju proteina, u kojima su molekuli vode vezani koloidnim i osmotskim silama, i na taj način potpomogao ceđenje a time i povećanje iskorišćenja voća. Na ovaj način, pigmenti iz pokožice ekstrahovani su u sok, koji je time postao i dodatno obojen (Zlatković, 2003).

U tabeli 5. prikazane su pH vrednosti voćnih sokova.

Tabela 5. pH vrednost voćnih sokova

Voćni sokovi	pH vrednost		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	3,46±0,01	3,38±0,00	3,32±0,00
<b>malina</b>	3,12±0,01	3,11±0,00	3,11±0,00
<b>kupina</b>	3,09±0,01	3,10±0,00	3,15±0,00
<b>višnja</b>	3,03±0,01	3,02±0,00	3,02±0,00
<b>borovnica</b>	2,93±0,01	2,95±0,01	2,95±0,01
<b>crvena ribizla</b>	2,87±0,01	2,92±0,00	2,93±0,00
<b>crna ribizla</b>	2,87±0,01	2,89±0,00	2,90±0,00

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Kod voćnih sokova pH vrednosti kretale su se od veoma niske vrednosti od 2,87 kod hladno ceđenih sokova crvene i crne ribizle, do 3,46 kod hladno ceđenog soka jagode. Ovako niske pH vrednosti dobijenih sokova, govore o njihovoj izrazitoj kiselosti, zbog čega su oni sa senzornog stanovišta, bez odgovarajućih korekcija, neprihvatljiviji. Radi toga je u daljim istraživanjima bilo neophodno izvršiti korekciju slasti, dodatkom soka jabuke. Dobijene vrednosti bile su u saglasnosti sa vrednostima dobijenim u drugim istraživanjima (Konić-Ristić et al., 2011).

Sadržaj rastvorljive suve materije u voćnim sokovima prikazan je u tabeli 6.

Tabela 6. Sadržaj suve materije u voćnim sokovima

Voćni sokovi	Sadržaj rastvorljive suve materije (%)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	8,9±0,1	8,5±0,0	8,5±0,0
<b>malina</b>	10,8±0,2	11,0±0,0	11,0±0,0
<b>kupina</b>	11,1±0,1	11,0±0,0	11,0±0,0
<b>višnja</b>	16,9±0,3	17,0±0,1	17,0±0,1
<b>borovnica</b>	9,1±0,1	10,0±0,0	10,0±0,0
<b>crvena ribizla</b>	11,0±0,2	9,0±0,1	9,0±0,0
<b>crna ribizla</b>	17,1±0,3	18,5±0,1	18,5±0,1

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Vrednosti sadržaja rastvorljive suve materije u voćnim sokovima kretale su se od 8,5% kod enzimiranog nepasterizovanog i pasterizovanog soka jagode, do 18,5% kod

kod enzimiranog nepasterizovanog i pasterizovanog soka crne ribizle. Dobile vrednosti bile su nešto više u odnosu na vrednosti rastvorljive suve materije sokova u drugim istraživanjima (Konić-Ristić et al., 2011).

### 5.1.2. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na sadržaj ukupnih monomernih antocijana u voćnim sokovima

Kod jagodastog voća i višnje od flavonoida su u velikoj meri zastupljeni antocijani, koji ovom voću daju karakterističnu crvenu, ljubičastu ili plavu boju. (Tulipani et al., 2008). Sadržaj ukupnih monomernih antocijana u dobijenim voćnim sokovima prikazan je u tabeli 7.

Sadržaj ukupnih monomernih antocijana kod proizvedenih sokova kretao se od 123,66 mg CGE/l kod hladno ceđenog soka jagode, do čak 3456,67 mg CGE/l kod enzimiranog soka crne ribizle. Izuzetno visoke vrednosti za sok crne ribizle bile su očekivane, jer se izabrana sorta Ometa već pokazala kao sorta crne ribizle koja ima najviše vrednosti ukupnih antocijana. Plod i sok ove sorte imali su najviše vrednosti ukupnih antocijana nakon čuvanja od godinu dana u zamrznutom stanju (Đorđević, 2012).

Tabela 7. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Sadržaj ukupnih antocijana (mg CGE/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	123,66 ± 4,07 <sup>j</sup>	162,67 ± 7,88 <sup>j</sup>	163,37 ± 9,68 <sup>j</sup>
<b>malina</b>	694,34 ± 40,86 <sup>g</sup>	704,14 ± 16,81 <sup>g</sup>	699,13 ± 22,24 <sup>g</sup>
<b>kupina</b>	594,98 ± 12,20 <sup>h</sup>	965,20 ± 28,49 <sup>c</sup>	803,22 ± 5,78 <sup>f</sup>
<b>višnja</b>	476,47 ± 35,75 <sup>i</sup>	690,22 ± 8,57 <sup>g</sup>	693,56 ± 7,71 <sup>g</sup>
<b>borovnica</b>	436,95 ± 20,41 <sup>i</sup>	2022,23 ± 10,43 <sup>d</sup>	2120,76 ± 27,59 <sup>c</sup>
<b>crvena ribizla</b>	163,57 ± 8,67 <sup>j</sup>	155,30 ± 2,17 <sup>j</sup>	157,387 ± 1,505 <sup>j</sup>
<b>crna ribizla</b>	616,19 ± 30,93 <sup>h</sup>	3456,67 ± 54,75 <sup>a</sup>	3200,62 ± 33,74 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Vrednosti u literaturi variraju u širokom rasponu, a razlog tome su agroekološki uslovi, vreme berbe, način ekstrakcije, kao i tehnološki postupci proizvodnje sokova (Kähkönen et al., 2003). Dobile eksperimentalne vrednosti pokazale su da se sadržaj ukupnih monomernih antocijana u sokovima kretao u skladu sa literaturnim podacima (Kalt et al., 2000; Ruiz del Castillo et al., 2004; Stój et al., 2006; Stój et al., 2006b; Jakobek et al., 2007a; Pedersen, 2008).

Prilikom proizvodnje voćnih sokova veoma je bilo važno očuvati njihovu prirodnu boju i aromu. Kod sokova proizvedenih II i III postupkom, ekstrakcija soka i bojnih materija je poboljšana delovanjem toplote i enzima, na izmuljano voće, ali je verovatno došlo i do degradacije antocijana (Vukosavljević, 2006). Siksianas et al. (2006) i Sandell et al. (2009) ističu da je procenat smanjenja sadržaja ukupnih antocijana pri preradi različitih sorti crne ribizle, u sokove bio između 70 i 87%.

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je prilikom enzimiranja (II postupak) došlo do značajnog porasta ukupnih antocijana kod sokova kupine, višnje, a naročito crne ribizle i borovnice. Čak petostruko veću vrednost ukupnih antocijana pokazali su enzimirani sokovi crne ribizle i borovnice u odnosu na hladno ceđene (tabela 7). Ovaj porast sadržaja ukupnih antocijana u soku, izazvan delovanjem povišenih temperatura i enzimskog tretmana, govori u prilog tome da je uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje, na ekstrakciju antocijana iz pokožice plodova ispitivanih voćnih vrsta veoma značajan. Primenom pektolitičkih enzima je došlo do značajnog povećanja ( $p < 0,05$ ) sadržaja ukupnih antocijana u odnosu na postupak hladnog ceđenja.

Između postupaka hladnog ceđenja i enzimiranja, kod sokova jagode, maline i crvene ribizle, nije bilo statistički značajne razlike u sadržaju antocijana, pa se može pretpostaviti da su antocijani kod sokova proizvedenih I postupkom ekstrahovani i bez dejstva povišenih temperatura i enzima, kao i to da je moglo doći i do degradacije ovih pigmenta (pre svih pelargonidina kod jagode) kod sokova proizvedenih enzimiranjem (tabela 7).

Sadržaj i sastav antocijana i drugih fenolnih komponenata, koji utiču na antioksidativnost, može da varira u plodovima voća pre branja, u zavisnosti od relativne vlažnosti vazduha, temperature, intenziteta Sunčeve svetlosti, tipa zemljišta, primenjenih agrotehničkih mera, kao i infekcija različitim patogenima (Kalt et al., 2001; Kähkönen et al., 2003; Hosseinian et al., 2007). Moyer et al., (2002a) su istakli da boja plodova crne ribizle zavisi od sadržaja antocijana, ali takođe zavisi i od temperature i sadržaja kiseonika koji mogu da smanje sadržaj antocijana i vitamina C. Kada se posmatraju plodovi različitih sorti crne ribizle može se zaključiti da sadržaj bojnih materija u ovim plodovima tokom zrenja raste, sa promenom boje u tamno braon (Rubinskiene et al., 2006). Za sortu jagode "Clery", koja je korišćena u eksperimentalnom radu, pokazano je i u ranijim istraživanjima da poseduje visok

sadržaj antocijana, bez obzira na područje gajenja, koje nema značajnog uticaja na sam profil antocijana (Crespo et al., 2010). Međutim, ambijentalni uslovi čuvanja i skladištenja voća utiču na sadržaj antocijana i druge promene u hemijskom sastavu i konzistenciji ploda (Bukvić, 1988; Perkins-Veazie i Kalt, 2002; Poiana et al., 2010; Stojanović et al., 2012). Imajući ovo u vidu, vrednosti sadržaja ukupnih monomernih antocijana kao i drugih parametara kvaliteta mogu u određenim granicama da variraju i kod voćnih sokova, proizvedenih istim postupkom proizvodnje, od istog voća, pod istim uslovima, u zavisnosti od prethodno navedenih uticaja.

S obzirom na to da je proizvodnja sokova u ovom istraživanju sprovedena u periodu od 24 h od berbe, a transportovanje je sprovedeno u rashladnim uslovima, promene u sadržaju antocijana, nakon berbe voća, svedene su na najmanju moguću meru. Svi proizvedeni sokovi su zamrzavani i čuvani na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Ovaj period trajao je nekoliko meseci, dok su sve hemijske analize završene. U tom period moglo je doći do degradacije antocijana, ali se vodilo računa da i ti gubici budu minimalni. Poiana et al. (2010) su pokazali da, je posle 4 meseca čuvanja plodova maline, kupine i borovnice na  $-18^{\circ}\text{C}$  došlo do blagog smanjenja u sadržaju ukupnih antocijana, dok su ti gubici bili značajniji tek posle 10 meseci skladištenja. Đorđević (2012) je prikazao da je smanjenje sadržaja ukupnih antocijana u sokovima crne ribizle nakon čuvanja u zamrznutom stanju, u trajanju od godinu dana, bilo najmanje kod sorte Ometa (13,04%).

Pod dejstvom visokih temperatura i kiseonika može doći do oksidacije i polimerizacije antocijana, fenola, kao i drugih bioaktivnih jedinjenja. Tokom prerade i skladištenja voća, usled negativnog dejstva povišenih temperatura može se stvoriti furfural i hidroksi metil furfural (HMF), produkti enzimskog i neenzimskog potamnivanja, koji daju ukus "na kuvano" i dovode do razgradnje antocijana u plodovima voća (Katalinić, 2006). Prilikom termičkog tretmana kljuka i enzimiranja vodilo se računa o dužini tretmana i visini primenjene temperature, kako bi se promene na antocijanima, posebno antocijanidinu pelargonidinu, koji je izuzetno osetljiv, svele na najmanju meru (Lopes da Silva et al., 2007; Mateus i de Freitas, 2009). S obzirom na to, da termalna degradacija antocijana sledi kinetiku reakcija prvog reda, gde više temperature primenjene u toku dužeg vremenskog perioda izazivaju veće degradacione promene, postupak pasterizacije je izvođen tako da je primenjena visoka temperatura, kratko vreme ( $90^{\circ}\text{C}$ , 2 min), kako bi se minimalizovale nepoželjne promene, U

istraživanjima Vukosavljević et al. (2006) zapaženo je da je čak došlo do blagog porasta u sadržaju antocijana u soku maline nakon primenjenog termičkog tretmana voćnog kljuka.

Konzervisanje pasterizacijom nije imalo statistički značajan uticaj na sadržaj ukupnih monomernih antocijana kod sokova jagode, maline, višnje i crvene ribizle, dok su ove vrednosti kod sokova crne ribizle, borovnice i kupine statistički značajno smanjene primenjenim termičkim tretmanom ( $p < 0,05$ ) (tabela 7).

### 5.1.3. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na sadržaj ukupnih flavonoida u voćnim sokovima

Sadržaj ukupnih flavonoida (srednja vrednost) u uzorcima voćnih sokova prikazan je u sledećoj tabeli (tabela 8).

Tabela 8. Sadržaj ukupnih flavonoida u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Sadržaj ukupnih flavonoida (mg QUE/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	504,92 ± 3,82 <sup>f</sup>	1041,50 ± 10,00 <sup>l</sup>	741,00 ± 6,67 <sup>q</sup>
<b>malina</b>	843,22 ± 6,94 <sup>p</sup>	1176,19 ± 13,47 <sup>j</sup>	1134,58 ± 11,02 <sup>k</sup>
<b>kupina</b>	973,17 ± 7,64 <sup>m</sup>	2279,78 ± 13,88 <sup>f</sup>	1790,64 ± 14,68 <sup>h</sup>
<b>višnja</b>	1396,50 ± 8,66 <sup>i</sup>	2339,78 ± 10,18 <sup>e</sup>	1963,69 ± 3,37 <sup>g</sup>
<b>borovnica</b>	935,33 ± 11,55 <sup>n</sup>	3927,50 ± 22,05 <sup>a</sup>	3285,83 ± 14,43 <sup>c</sup>
<b>crvena ribizla</b>	482,11 ± 5,09 <sup>f</sup>	1158,69 ± 8,91 <sup>j,k</sup>	952,64 ± 8,67 <sup>m,n</sup>
<b>crna ribizla</b>	897,25 ± 15,61 <sup>o</sup>	3396,33 ± 20,82 <sup>b</sup>	2980,28 ± 9,62 <sup>d</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Dobijene vrednosti pokazuju da se sadržaj ukupnih flavonoida kretao od 482,11 mg QUE/l kod hladno ceđenog soka crvene ribizle, do čak 3927,50 mg QUE/l kod enzimiranog soka borovnice. Kod enzimiranog soka borovnice pronađen je značajno niži sadržaj ukupnih monomernih antocijana u odnosu na enzimirani sok crne ribizle. Može se zaključiti da kod soka borovnice pored antocijana ima i drugih flavonoida, koji su mogli doprineti većem sadržaju ukupnih flavonoida – proantocijanidini, flavonoli, fenolne kiseline i drugi (Skrede et al., 2000).

Sadržaj ukupnih flavonoida kod svih voćnih vrsta je bio značajno viši ( $p < 0,05$ ) kod enzimiranih sokova u odnosu na hladno ceđene, kod soka borovnice se enzimiranjem povećao najviše, čak 4,2 puta. Postupkom enzimiranja omogućena je ekstrakcija flavonoida iz pokožice i njihov prelazak u sok.

Postupkom pasterizacije sokova značajno se smanjio sadržaj ukupnih flavonoida kod svih enzimiranih sokova. Ovim su najviše smanjene vrednosti kod soka jagode, a najmanje kod soka maline. Kod soka jagode ovom smanjenju doprinela je i velika osetljivost pelargonidina na visoke temperature (Satué-Garcia et al., 1997). Sadržaj ukupnih flavonoida pasterizovanih sokova je ipak, značajno viši u odnosu na hladno ceđene sokove.

Stajčić et al. (2012) dobili su slične vrednosti sadržaja ukupnih flavonoida za jagodasto voće.

Generalno se može zaključiti da se više flavonoida izdvojilo uz pomoć pektolitičkih enzima, pa su sokovi i pored termičkog tretmana, kod trećeg postupka, zadržali izuzetno visok sadržaj ukupnih flavonoida (tabela 8). Iz ovoga proizilazi da je korisnije konzumirati ovako dobijene sokove u odnosu na hladno ceđene, kod kojih je u tropu, nakon ceđenja, zaostao veliki deo fiziološki i nutritivno vrednih sastojaka (Đorđević et al., 2010).

Odavno je potvrđeno da visok sadržaj flavonoida pokazuje snažan antioksidativni kapacitet (Rice-Evans i Miller, 1996; Satué-Garcia et al., 1997). Neki naučnici tvrde da antioksidativnost flavonoida uslovljava pojedine biološke efekte flavonoida (Cotelle, 2001). Zahvaljujući potentnoj biološkoj aktivnosti flavonoida i polifenolnih jedinjenja uopšte, ovim jedinjenjima se pripisuje pozitivni efekti na ljudsko zdravlje (Stojanović et al., 2012; Shahidi i Ambigaipalan, 2015).

Od flavonoida, u ispitivanim voćnim vrstama, najviše su zastupljeni antocijanidini (cijanidin, malvidin, delphinidin, pelargonidin, petunidin, peonidin), flavonoli (kvercetin, miricetin i kempferol), zatim flavan-3-oli (katehin i epikatehin). Bezbojni flavonoidi prvenstveno su uključeni u zaštitu ćelija od UV zračenja, koje može prouzrokovati oštećenja DNK i poremećaje u raznim fiziološkim procesima usled nagomilavanja slobodnih radikala. Flavoni i flavonoli akumuliraju se u ćelijama epidermisa, filtriraju štetno UV-A i UV-B zračenje i štite dublje slojeve tkiva. Pod dejstvom stresa, povećava se sinteza flavonoida sa većim stepenom hidroksilacije (kvercetin nasuprot kemferolu) odnosno većim antioksidantnim potencijalom (Gould i Lister, 2006; Orčić, 2010).

Pozitivan uticaj konzumiranja plodova i sokova jagodastog voća na ljudsko zdravlje ističe se upravo zbog prisutnih flavonoida u ovom voću (Häkkinen et al., 1999;

Hollman i Katan, 1999; Bermúdez-Soto i Tomás-Barberán, 2004; Siriwoharn i Wrolstad, 2004; Zadernowski et al., 2005). Potvrđeno je da imaju antibakterijsko, antivirusno, antifungalno dejstvo, štite od oksidativnog stresa, smanjuju upale, štite od raznih oboljenja, neurodegenerativnih bolesti starenja (Alchajmerove, Parkinsonove bolesti), posebno kardiovaskularnih (ateroskleroze, moždanog udara), kancera (Määttä-Riihinen et al., 2004; Neto, 2007; Shukitt-Hale et al., 2008). Pellegrini et al. (2003) smatraju da visoka antioksidativnost kupine potiče od visokog sadržaja jedinjenja iz klase flavonoida. Naučnici navode da je preporučeni prosečni dnevni unos flavonoida oko 1g/dan (Kuhnau, 1976). Vrednosti ukupnih flavonoida ispitivanih voćnih sokova, su se kretale u rasponu od 0,5-3g/l, što znači da bismo veoma lako mogli ovaj unos ostvariti konzumiranjem ovih sokova.

#### 5.1.4. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na sadržaj ukupnih polifenola u voćnim sokovima

Vrednosti sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja u voćnim sokovima prikazane su u tabeli 9.

Tabela 9. Sadržaj ukupnih polifenola u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Sadržaj ukupnih polifenola (mg GAE/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	1630,49±11,36 <sup>k</sup>	1952,30±6,53 <sup>j</sup>	1502,62±23,24 <sup>l</sup>
<b>malina</b>	2269,45±20,15 <sup>i</sup>	2281,50±2,94 <sup>i</sup>	2504,70±27,12 <sup>e,f</sup>
<b>kupina</b>	1964,15±30,29 <sup>j</sup>	2904,70±30,52 <sup>d</sup>	2569,62±13,65 <sup>e</sup>
<b>višnja</b>	2368,20±15,02 <sup>h</sup>	2469,73±14,01 <sup>f,g</sup>	2407,87±11,36 <sup>g,h</sup>
<b>borovnica</b>	1457,92±31,03 <sup>l</sup>	4281,64±35,91 <sup>b</sup>	3939,67±15,02 <sup>c</sup>
<b>crvena ribizla</b>	1935,41±5,68 <sup>j</sup>	1941,07±14,88 <sup>j</sup>	1992,13±17,21 <sup>j</sup>
<b>crna ribizla</b>	2463,61±28,19 <sup>f,g</sup>	6397,13±51,04 <sup>a</sup>	6379,51±55,44 <sup>a</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Sadržaj ukupnih antocijana, flavonoida i polifenola je veoma značajan pokazatelj kvaliteta voćnih sokova, što pokazuje i veliki broj objavljenih naučnih radova (Lee et al., 2002; Bermúdez-Soto i Tomás-Barberán, 2004; Jakobek et al., 2007a; Mendiola et al., 2008; Ferrari et al., 2011; Stajčić et al., 2012).

U uzorcima voćnih sokova sadržaj ukupnih polifenola kretao se od 1502,62 mg GAE/l, kod pasterizovanog enzimiranog soka jagode, pa do 6397,13 mg GAE/l, kod enzimiranog soka crne ribizle.

Kod voćnih sokova maline i crvene ribizle nije dobijen statistički značajan porast sadržaja ukupnih polifenola, primenom postupka enzimiranja (tabela 9). Sa druge strane, kod svih ostalih sokova, porast sadržaja ukupnih polifenola enzimiranjem je bio značajan. Na primer, kod enzimiranih sokova crne ribizle i borovnice sadržaj ukupnih polifenola je 2,6, odnosno 2,9 puta viši u odnosu na hladno ceđene.

Proizvodnjom voćnih sokova postupkom hladnog ceđenja, dobijaju se proizvodi kod kojih je očuvan sastav svih termolabilnih sastojaka, koji mogu imati povoljan uticaj na zdravlje ljudi (Konić–Ristić et al., 2011). Međutim, ovim postupkom ne mogu se u potpunosti ekstrahovati svi sastojci koji potiču iz pokožice voća, posebno fenolna jedinjenja, kao važna grupa biološki aktivnih jedinjenja sa značajnom ulogom u borbi protiv oksidativnog stresa (Bravo, 1998; Cosgrove, 2005; Buchert et al., 2005). Prilikom prerade voća u sokove najčešće dolazi do smanjenja sadržaja fenolnih komponenata, čak do 80%, zbog visokog nivoa pektina u ćelijama epidermisa, koji sprečava ekstrakciju fenola iz plodova pri proizvodnji sokova (Häkkinen et al., 2000; Hilz, 2007; Sójka et al., 2009). Primenom enzima i povišenih temperatura, došlo je do bolje ekstrakcije bojenih materija, koje doprinose antioksidativnosti i privlačnijoj i intezivnijoj obojenosti soka, a takođe se ovim postupkom vrši i inaktivacija enzima, pre svega polifenoloksidaze (koja izaziva neenzimatsko potamnjenje), kao i delimična redukcija prisutne mikroflore.

Postupak pasterizacije je različito uticao na sadržaj ukupnih polifenola. Kod enzimiranih voćnih sokova jagode, kupine i borovnice došlo je do smanjenja vrednosti sadržaja ukupnih polifenola, pa se može zaključiti da je visoka temperatura uslovlila degradaciju ovih jedinjenja (Vukosavljević, 2006; Mendiola et al., 2007). Enzimirani voćni sokovi višnje, crvene i crne ribizle nisu pokazali značajnu promenu sadržaja ukupnih polifenola nakon primenjenog postupka pasterizacije. Međutim, kod enzimiranog voćnog soka maline došlo je čak do značajnog porasta vrednosti ispitivanog parametra (tabela 9). Može se pretpostaviti da je došlo do formiranja novih polifenolnih jedinjenja prilikom termičkog tretmana.

Poređenjem eksperimentalnih vrednosti sa literaturnim može se zaključiti da su dobijene vrednosti u skladu sa literaturnim podacima (Heinonen et al., 1998; Sellapan et al., 2002; Piljac-Žegarac et al., 2009; Müller et al., 2010; Rajić et al., 2012). Odstupanja mogu biti posledica vremena berbe, klimatskih uslova, primenjenih



agrotehničkih mera, načina ekstrakcije, tehnološkog postupka proizvodnje voćnih sokova (Kalt et al., 2001; Kähkönen et al., 2003; Hosseinian et al., 2007). U sokovima crvene ribizle dobijenim presovanjem izmuljanog kljuka, došlo je do gubitka od 50% sadržaja ukupnih polifenola, u odnosu na sveže plodove (Đorđević et al., 2010), pa se može zaključiti da je korisnije konzumirati cele plodove ili enzimirane voćne sokove.

Međutim i konzumiranjem hladno ceđenih voćnih sokova, a posebno enzimiranih i pasterizovanih, može se postići značajan unos biološki aktivnih komponenata, neophodnih za očuvanje zdravlja, jer konzumiranje namirnica bogatih polifenolnim jedinjenjima, može doprineti smanjenju pritiska i drugih rizika od kardiovaskularnih bolesti i kancera, jačanju imunog sistema, detoksikaciji organizma, smanjenju upala i usporavanju procesa starenja organizma (Sack i Kass, 1988; Bazzano et al., 2002; Duthie et al., 2003; Losso et al., 2004; Beattie et al., 2005; Stojanović et al., 2012; Shahidi i Ambigaipalan, 2015).

### 5.1.5. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na antioksidativni kapacitet voćnih sokova

#### 5.1.5.1. DPPH metoda (Trolox)

Antioksidativni kapacitet voćnih sokova određen DPPH metodom, izražen u Trolox ekvivalentima, prikazan je u tabeli 10.

Tabela 10. Vrednosti antioksidativnog kapaciteta, DPPH metoda (mmol TE/l) u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Antioksidativni kapacitet - DPPH metoda (mmol TE/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	3,74 ± 0,06 <sup>q</sup>	10,98 ± 0,04 <sup>l</sup>	8,02 ± 0,07 <sup>n</sup>
<b>malina</b>	11,42 ± 0,08 <sup>k</sup>	13,83 ± 0,05 <sup>h</sup>	12,40 ± 0,08 <sup>j</sup>
<b>kupina</b>	8,66 ± 0,10 <sup>m</sup>	16,81 ± 0,04 <sup>f</sup>	14,62 ± 0,09 <sup>g</sup>
<b>višnja</b>	7,38 ± 0,05 <sup>o</sup>	19,51 ± 0,10 <sup>e</sup>	13,30 ± 0,09 <sup>i</sup>
<b>borovnica</b>	4,35 ± 0,07 <sup>p</sup>	26,02 ± 0,13 <sup>c</sup>	20,22 ± 0,09 <sup>d</sup>
<b>crvena ribizla</b>	7,17 ± 0,03 <sup>o</sup>	16,73 ± 0,07 <sup>f</sup>	12,51 ± 0,08 <sup>j</sup>
<b>crna ribizla</b>	11,35 ± 0,07 <sup>k</sup>	45,22 ± 0,09 <sup>a</sup>	35,38 ± 0,14 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Vrednosti antioksidativnog kapaciteta dobijene DPPH metodom, izražene u Trolox ekvivalentima kretale su se u rasponu od 3,74 mmol TE/l, kod hladno ceđenog soka jagode, do 45,22 mmol TE/l, kod enzimiranog nepasterizovanog soka crne ribizle.

Kod enzimiranih sokova jagodastog voća, sok kupine je dao najviše DPPH vrednosti, što je u skladu sa podacima iz literature (Pantelidis et al., 2007), dok je kod hladno ceđenih sokova jagodastih vrsta, sok maline imao najviše vrednosti antioksidativnosti. Ovo bi moglo da se objasni slabijom ekstrakcijom fenolnih jedinjenja iz pokožice kupine kod koje nije primenjen postupak enzimiranja, u odnosu na isti postupak primenjen kod plodova maline, gde je i bez primene enzimskog tretmana, došlo do bolje ekstrakcije fenolnih jedinjenja.

Kod svih sokova dobijenih primenom enzimskih preparata, došlo je do boljeg prelaska fenolnih jedinjenja u sok što je doprinelo višestrukome povećanju vrednosti antioksidativnog kapaciteta (tabela 10). Kod crne ribizle je dobijena četverostruko viša vrednost antioksidativnog potencijala, dok je kod soka borovnice ovo povećanje bilo gotovo šestostruko. Većina antocijana i drugih fenolnih jedinjenja zaostaje u pokožici u postupku hladnog ceđenja, zbog čega su i dobijene vrednosti antioksidativnog potencijala značajno niže kod hladno ceđenih sokova.

Način prerade može značajno uticati na antioksidativni potencijal voća i dovesti do smanjenja sadržaja bioaktivnih komponenata (Kalt, 2005; Paunović et al., 2014a; Paunović et al., 2014b; Paunović et al., 2015). Dejstvo visoke temperature prilikom pasterizacije uslovalo je statistički značajno ( $p < 0,05$ ) smanjenje antioksidativnog potencijala kod svih enzimiranih sokova. Međutim, dobijene vrednosti su i dalje bile značajno više od vrednosti za hladno ceđene sokove. Razlog tome leži u činjenici da primenjena visoka temperatura, koja je mogla uticati na degradaciju antocijana, vitamina C i drugih jedinjenja nije dugo delovala (Satué-García et al., 1997; Lee et al., 2002; Mateus i de Freitas, 2009; Stojanović et al., 2012).

Utvrđivanje antioksidativnog kapaciteta voćnih sokova je značajno sa aspekta procene njihovog pozitivnog uticaja na ljudsko zdravlje (Sariburun et al., 2010). Antioksidativnost voća, voćnih sokova, koncentrisanih voćnih sokova i voćnih nektara je dosta izučavana, primenom DPPH metode (Brand-Williams et al., 1995; Bermúdez-Soto i Tomás-Barberán, 2004; Nakajima et al., 2004; Piljac-Žegarac et al., 2009).

Ipak, postoje fenolni antioksidansi koji snažno reaguju prema Folin Ciocalteu reagensu, ali ne reaguju prema DPPH radikalima (Yang et al., 2007). Ovo može biti jedan od razloga što se kod pojedinih uzoraka sa visokim sadržajem ukupnih polifenola mogu dobiti niže DPPH vrednosti od očekivanih.

Jakobek et al. (2007b) dobili su DPPH vrednosti za plodove voćnih vrsta, koje su korišćene i u ovoj disertaciji, u rasponu od 6 do 125  $\mu\text{molTE/g}$ , što predstavlja nešto više vrednosti u odnosu na proizvedene eksperimentalne sokove.

### 5.1.5.2. DPPH metoda (IC50)

Rezultati ove DPPH metode su izraženi kao IC50 vrednost ( $\mu\text{l/ml}$ ), to jest ona koncentracija uzorka koja dovodi do 50% neutralizacije DPPH radikala. Vrednosti IC50 koje su dobijene za voćne sokove, mogu se porediti sa IC50 vrednošću vitamina C. Zbog toga je određena koncentracija vitamina C koja je neophodna za neutralizaciju 50 % slobodnih radikala.

Dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 11.

Tabela 11. Vrednosti antioksidativnog kapaciteta u uzorcima voćnih sokova, DPPH metoda – IC50 ( $\mu\text{l/ml}$ )

Voćni sokovi	Antioksidativni kapacitet - DPPH metoda– IC50 ( $\mu\text{l/ml}$ )		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	49,33 $\pm$ 0, 66 <sup>p</sup>	18,33 $\pm$ 0, 25 <sup>h</sup>	28,70 $\pm$ 0, 09 <sup>k</sup>
<b>malina</b>	20,23 $\pm$ 0, 02 <sup>i</sup>	13,89 $\pm$ 0,06 <sup>f</sup>	17,45 $\pm$ 0,08 <sup>h,g</sup>
<b>kupina</b>	29,33 $\pm$ 0, 19 <sup>k</sup>	11,48 $\pm$ 0,04 <sup>e,d</sup>	14,68 $\pm$ 0,05 <sup>f</sup>
<b>višnja</b>	31,26 $\pm$ 0,07 <sup>l</sup>	11,07 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	22,07 $\pm$ 0, 07 <sup>j</sup>
<b>borovnica</b>	46,29 $\pm$ 0, 54 <sup>o</sup>	7,76 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	18,26 $\pm$ 0,08 <sup>h</sup>
<b>crvena ribizla</b>	36,77 $\pm$ 0, 17 <sup>m</sup>	12,22 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>	18,26 $\pm$ 0,09 <sup>h</sup>
<b>crna ribizla</b>	16,68 $\pm$ 0, 08 <sup>g</sup>	4,13 $\pm$ 0, 03 <sup>a</sup>	5,68 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>
<b>Vitamin C</b>	42,03 $\pm$ 0,01 <sup>n</sup>		

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Enzimirani sok crne ribizle je pokazao najbolji antioksidativni kapacitet primenom ove DPPH metode, IC50 vrednost ovog soka (koncentracija soka koja dovodi do 50% neutralizacije DPPH radikala) iznosila je 4,13  $\mu\text{l/ml}$  rastvora. Najslabiju antioksidativnost (a najviše vrednosti) pokazao je hladno ceđeni sok jagode, gde je IC50 vrednost ovog soka iznosila 49,33 $\mu\text{l/ml}$ . Ova metoda je, takođe, pokazala da se enzimiranjem značajno pojačao antioksidativni kapacitet voćnih sokova, što potvrđuje predhodne zaključke da su fenolna jedinjenja i drugi antioksidansi prešli u sok enzimiranjem. Postupak pasterizacije je značajno smanjio pomenuti kapacitet, ali je on i dalje bio značajno bolji od antioksidativnog kapaciteta hladno ceđenih sokova.

Značajno slabiju antioksidativnost u odnosu na vitamin C imali su hladno ceđeni sokovi jagode i borovnice. Svi ostali hladno ceđeni, kao i svi enzimirani i svi

pasterizovani sokovi imali su značajno bolju antioksidativnost od vitamina C. Enzimirani sok borovnice pokazao je 5,4 puta jači antioksidativni kapacitet u odnosu na vitamin C, pasterizovani sok crne ribizle 7,4 puta, dok je enzimirani sok crne ribizle pokazao je čak 10 puta jači antioksidativni kapacitet u odnosu na vitamin C (tabela 11). Plodovi crne i crvene ribizle, maline, kupine i borovnice pokazali su bolji antioksidativni kapacitet u odnosu na dobijene vrednosti eksperimentalnih sokova (Konić-Ristić et al., 2011; Stajčić et al., 2012), što može biti posledica razlike u sortama, agrotehničkim uslovima, ali se može i zaključiti da je visoka koncentracija antocijana i drugih bioaktivnih supstanci zaostala u tropu, prilikom postupka ceđenja soka (kod hladno ceđenih sokova); kao i činjenica da je usled dejstva povišenih temperatura moglo doći do degradacije termolabilnih biološki vrednih komponenata (kod enzimiranih i pasterizovanih sokova) (Kähkönen et al., 2003; Vukosavljević, 2006; Hosseinian et al., 2007; Mendiola et al., 2007; Đorđević et al., 2010).

### 5.1.5.3. FRAP metoda

Vrednosti antioksidativnog kapaciteta voćnih sokova, dobijene FRAP metodom prikazane su u tabeli 12.

Tabela 12. Vrednosti antioksidativnog kapaciteta, FRAP metoda (mmol Fe (II)/l) u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Antioksidativni kapacitet - FRAP metoda (mmol Fe (II)/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	17,83±0,07 <sup>n</sup>	27,13±0,15 <sup>j</sup>	20,41±0,15 <sup>m</sup>
<b>malina</b>	30,26±0,20 <sup>i</sup>	39,80±0,10 <sup>f</sup>	34,75±0,04 <sup>h</sup>
<b>kupina</b>	23,86±0,04 <sup>l</sup>	51,22±0,08 <sup>e</sup>	40,44±0,17 <sup>f</sup>
<b>višnja</b>	23,22±0,08 <sup>l</sup>	38,24±0,13 <sup>g</sup>	30,08±0,21 <sup>i</sup>
<b>borovnica</b>	17,00±0,17 <sup>o</sup>	64,31±0,44 <sup>c</sup>	51,83±0,07 <sup>e</sup>
<b>crvena ribizla</b>	20,81±0,76 <sup>m</sup>	35,06±0,04 <sup>h</sup>	25,91±0,00 <sup>k</sup>
<b>crna ribizla</b>	55,50±0,20 <sup>d</sup>	118,89±0,2 <sup>a</sup>	97,60±0,73 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

FRAP vrednosti kretale se u granicama od 17,00 mmol Fe(II)/l, kod hladno ceđenog soka borovnice, do 118,89 mmol Fe(II)/l, kod enzimiranog soka crne ribizle. Kod svih voćnih vrsta, enzimirani sokovi imali su značajno veće vrednosti antioksidativnosti od hladno ceđenih sokova. Ponovo se pokazalo da su ekstrahovani sastojci iz voća prilikom enzimiranja prešli u sok i uticali na povećanje antioksidativnog

kapaciteta voćnih sokova. Pasterizovani enzimirani sokovi pokazali su značajno niže FRAP vrednosti od enzimiranih, pa se zaključuje da su visoke temperature prilikom pasterizacije uticale na delimičnu degradaciju fenolnih i drugih termolabilnih sastojaka, što je uticalo na smanjenje antioksidativnosti svih voćnih sokova (Vukosavljević, 2006; Mendiola et al., 2007). Ipak, FRAP vrednosti enzimiranih sokova bile su i dalje značajno više u odnosu na hladno ceđene sokove (tabela 12), što još jednom potvrđuje da se uz pomoć blanširanja i enzimiranja ekstrahuju velike količine antioksidanasa, koje prilično ostaju očuvane uprkos dejstvu visokih temperature pasterizacije.

Slične vrednosti su dobijene i u prethodnim studijama (Deighton et al., 2000; Bermudez-Soto i Tomas-Barberan, 2004; Piljac-Žegarac et al., 2009; Fu et al., 2011; Müller et al., 2010; Piljac-Žegarac i Šamec, 2011; Bordonaba i Terry, 2012; Rajić et al., 2012).

Ispitivajući antioksidativnost plodova različitih sorti kupina i borovnica, došlo se do zaključka da su divlje borovnice imale najveći sadržaj ukupnih polifenola i ukupnih antocijana, dok su najviše FRAP vrednosti dobijene kod divlje kupine (Koca i Karadeniz, 2009). Kod crvenog voća antocijani čine značajan deo polifenolnih jedinjenja, ipak, visokom antioksidativnom kapacitetu plodova voća i njihovih prerađevina značajno doprinosi visok sadržaj vitamina C, kojeg ima najviše u zelenim plodovima, dok njegov sadržaj opada sa sazrevanjem (Moyer et al., 2002a; Rubinskiene et al., 2008).

Ispitivajući bistre, mutne i kašaste sokove različitih sorti jagode, pokazalo se da su kašasti i mutni sokovi imali bolje FRAP vrednosti u odnosu na bistre sokove, a da je čuvanje sokova na nižim temperaturama povoljno uticalo na očuvanje antioksidativnog kapaciteta (Oszmiański i Wojdyło, 2009).

### 5.1.6. Uticaj tehnoloških postupaka proizvodnje na sadržaj fenolnih jedinjenja u voćnim sokovima (LC/MS analiza)

U voćnim sokovima određivana je kvalitativna i kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja, metodom tečne hromatografije, a rezultati analiza prikazani su u tabelama 13 do 26. Identifikovano je i kvantifikovano ukupno 14 fenolnih jedinjenja, i to: fenolne kiseline (*p*-hidroksibenzoeva, protokatehinska, galna, elaginska, *p*-kumarinska, kofeinska, ferulinska i hlorogenska kiselina) i flavonoidi (kempferol, kvercetin, miricetin, rutin, katehin i epikatehin).

***p*-Hidroksibenzoeva kiselina** je u malim količinama kvantifikovana u voćnim sokovima jagode, maline, kupine, crvene ribizle i višnje (tabela 13).

Tabela 13. Sadržaj *p*-hidroksibenzoeve kiseline u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	<i>p</i> -Hidroksibenzoeva kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	1,36±0,00e	3,06±0,00 <sup>a</sup>	1,73±0,01 <sup>c</sup>
<b>malina</b>	0,22±0,011	2,83±0,02 <sup>b</sup>	0,51±0,01 <sup>j</sup>
<b>kupina</b>	0,66±0,02i	1,47±0,03 <sup>d</sup>	0,38±0,03 <sup>k</sup>
<b>višnja</b>	1,03±0,03g	1,08±0,05 <sup>f,g</sup>	0,86±0,07 <sup>h</sup>
<b>borovnica</b>	0,08±0,01n	0,36±0,04 <sup>k</sup>	0,08±0,01 <sup>n</sup>
<b>crvena ribizla</b>	0,60±0,03i,j	1,14±0,04 <sup>f</sup>	0,81±0,06 <sup>h</sup>
<b>crna ribizla</b>	0,12±0,01m,n	0,79±0,05 <sup>h</sup>	0,20±0,02 <sup>l,m</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Enzimirani sokovi (II postupak) su pokazali značajno više vrednosti u sadržaju *p*-hidroksibenzoeve kiseline u odnosu na hladno ceđene (I postupak) i pasterizovane (III postupak) (tabela 13). Aalto et al. (1953) su došli do zaključka da se estri *p*-hidroksibenzoeve kiseline mogu koristiti kao konzervansi u prehrambenoj industriji, a proizvodi koji sadrže značajnu koncentraciju ovog jedinjenja mogu imati potencijalni konzervišući efekat.

Sadržaj pojedinačnih fenolnih jedinjenja nije jedini uslov za antioksidativni kapacitet i moguću zdravstvenu korisnost. Pored njihovog ukupnog sadržaja, tip fenolnih jedinjenja koji je zastupljen u sokovima predstavlja važan faktor antioksidativnog kapaciteta sokova (Satué-Garcia et al., 1997; Stajčić et al., 2012). Dobra korelacija je dobijena u istraživanju Mendiola et al. (2008), upoređivanjem sadržaja ukupnih fenola sa zbirom ukupnih fenolnih jedinjenja dobijenih primenom predložene HPLC metode, a zaključuje se da glavna fenolna jedinjenja utiču i na

antioksidativni potencijal. Osnovna karakteristika svih polifenola je prisustvo jednog ili više hidroksilovanih aromatičnih prstena. Antioksidativni kapacitet obično se povećava sa povećanjem broja hidroksilnih grupa, čije je svojstvo neutralizacija slobodnih radikala (Rice-Evans et al., 1997; Fukumoto i Mazza, 2000; Villaño et al., 2007).

Najviši sadržaj **protokatehinske kiseline** je dobijen kod enzimiranih voćnih sokova borovnice (26,25 mg/l), kupine, maline i višnje, dok su se ove vrednosti značajno smanjile kod pasterizovanih sokova od ovog voća (tabela 14).

Tabela 14. Sadržaj protokatehinske kiseline u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Protokatehinska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	0,18±0,00 <sup>k</sup>	0,23±0,00 <sup>k</sup>	0,16±0,01 <sup>k</sup>
<b>malina</b>	1,62±0,01 <sup>j</sup>	15,22±0,08 <sup>d</sup>	3,01±0,02 <sup>h</sup>
<b>kupina</b>	3,86±0,06 <sup>g</sup>	21,14±0,08 <sup>b</sup>	9,31±0,08 <sup>f</sup>
<b>višnja</b>	2,29±0,01 <sup>i</sup>	13,04±0,09 <sup>e</sup>	3,50±0,24 <sup>g,h</sup>
<b>borovnica</b>	20,07±0,29 <sup>c</sup>	26,25±0,63 <sup>a</sup>	21,11±0,49 <sup>b</sup>
<b>crvena ribizla</b>	1,61±0,04 <sup>j</sup>	1,74±0,04 <sup>i,j</sup>	1,71±0,04 <sup>i,j</sup>
<b>crna ribizla</b>	0,66±0,03 <sup>k</sup>	1,94±0,06 <sup>i,j</sup>	1,56±0,05 <sup>j</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Među hladno ceđenim i pasterizovanim sokovima, po sadržaju ove kiseline se izdvojio sok borovnice (tabela 14).

Najviše koncentracija fenolnih jedinjenja višnje, ali i plodova drugog voća pronađena je u pokožici (Chaovanalikit i Wrolstad, 2004a; Chaovanalikit i Wrolstad, 2004b), pa se zaključuje da bi enzimi i povišena temperature mogli imati pozitivan uticaj na bolju ekstrakciju fenola iz pokožice, što se u enzimiranom soku višnje pokazalo većom ekstrakcijom protokatehinske, kofeinske i *p*-kumarinske kiseline, kao i katehina, epikatehina i rutina (slika 4, tabele 14, 17, 18, 24-26).

Nile i Park (2014) ističu visok antioksidativni potencijal **galne kiseline**, koji je čak tri puta viši od antioksidativnog potencijala vitamina C. Galna kiselina (sa tri hidroksilne grupe) i njeni derivati predstavljaju snažne antioksidanse, pa se može zaključiti da su pri antioksidativnom delovanju primaoci elektrona sve tri hidroksilne grupe (Rice-Evans et al., 1997; Nile i Park, 2014).

Sadržaj galne kiseline u eksperimentalno dobijenim voćnim sokovima prikazan je u tabeli 15.

Tabela 15. Sadržaj galne kiseline u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Galna kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	1,80±0,01 <sup>l</sup>	17,54±0,01 <sup>g</sup>	6,01±0,01 <sup>j</sup>
<b>malina</b>	2,75±0,01 <sup>k,l</sup>	8,57±0,01 <sup>i</sup>	3,05±0,04 <sup>k</sup>
<b>kupina</b>	21,10±0,16 <sup>f</sup>	47,09±0,33 <sup>a</sup>	23,31±0,19 <sup>e</sup>
<b>višnja</b>	0,22±0,01 <sup>m</sup>	0,27±0,02 <sup>m</sup>	0,17±0,02 <sup>m</sup>
<b>borovnica</b>	29,34±0,69 <sup>c</sup>	34,01±0,56 <sup>b</sup>	25,20±0,66 <sup>d</sup>
<b>crvena ribizla</b>	0,19±0,03 <sup>m</sup>	0,34±0,02 <sup>m</sup>	0,27±0,05 <sup>m</sup>
<b>crna ribizla</b>	2,71±0,37 <sup>k,l</sup>	23,78±0,78 <sup>e</sup>	9,69±0,12 <sup>h</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Pokazalo se da su se po visokom sadržaju galne kiseline isticali voćni sokovi kupine, borovnice, crne ribizle i jagode. Najviše vrednosti pokazali su enzimirani sokovi (II postupak), dok su se pasterizacijom ove vrednosti značajno smanjile. Od hladno ceđenih sokova (I postupak) najviše galne kiseline je identifikovano u sokovima borovnice i kupine. Sadržaj galne kiseline bio je najviši u enzimiranom soku kupine (47,09 mg/l) (tabela 15). Do nastanka galne kiseline moglo je doći i razlaganjem tanina. U ranijim studijama su, takođe, u plodu kupine pronađene galna, kao i kofeinska, p-kumarinska, ferulinska i elaginska kiselina (Sellappan et al., 2002). Ova kiselina može nastati hidrolizom tanina, estara galne kiseline flavan-3-ola (Rentzsch et al., 2009).

Dokazano je da **elaginska kiselina** deluje izuzetno povoljno na zdravlje . Ona može da deluje citotoksično i antiproliferativno i da izaziva smrt ćeli ja karcinoma (Losso et al., 2006). Sadržaj ove kiseline u voćnim sokovima prikazan je u tabeli 16.

Tabela 16. Sadržaj elaginske kiseline u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Elaginska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	10,54±0,01 <sup>g</sup>	20,12±0,01 <sup>e</sup>	13,16±0,01 <sup>f</sup>
<b>malina</b>	44,62±0,27 <sup>a</sup>	43,67±0,52 <sup>b</sup>	22,40±0,32 <sup>d</sup>
<b>kupina</b>	8,44±0,05 <sup>h</sup>	28,76±0,26 <sup>c</sup>	12,79±0,19 <sup>f</sup>
<b>višnja</b>	/	/	0,14±0,02 <sup>i</sup>
<b>borovnica</b>	0,15±0,02 <sup>i</sup>	0,12±0,01 <sup>i</sup>	0,23±0,01 <sup>i</sup>
<b>crvena ribizla</b>	/	/	/
<b>crna ribizla</b>	/	/	0,13±0,02 <sup>i</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.



Elaginske kiseline bilo je najviše u soku maline, i to hladno ceđenom (44,62 mg/l), zatim enzimiranom, a upola manje u pasterizovanom soku (tabela 16).

Enzimirani sokovi kupine i jagode isticali su se visokim sadržajem elaginske kiseline, koji se smanjio pasterizacijom, ali je dobijena vrednost još uvek bila viša nego vrednost dobijena kod hladno ceđenih sokova, ovih voćnih vrsta. Dominantna fenolna kiselina, i fenolno jedinjenje uopšte, kod hladno ceđenog, kao i pasterizovanog soka jagode (slika 1.1), bila je elaginska kiselina, što potvrđuju i ranija istraživanja (Tulipani et al., 2008). Tulipani et al. (2008) istakli su elaginsku kiselinu i pelargonidin-3-glukozid kao dominantna fenolna jedinjenja u plodovima jagode, kao i njihov doprinos, zajedno sa vitaminom C, antioksidativnosti ovog ploda. U crnoj ribizli detektovane su elaginska, ferulinska, kofeinska, *p*-hidroksibenzoeva kiselina (Häkkinen et al., 1999; Määttä-Riihinen et al., 2004; Jakobek et al., 2007b). Pojedine studije pokazale su da je elaginska kiselina najzastupljenija fenolna kiselina u plodu kupine, gde je jako vezana za ćelijske zidove, dok se najviši sadržaj navedene kiseline nalazi u semenu koštica (De Ancos et al., 2000; Siriwoharn i Wrolstad, 2004). Ranija istraživanja pokazala su prisustvo ove fenolne kiseline u plodovima jagode i maline (Häkkinen et al., 1999; Vattem i Shetty, 2005). Međutim, navodi se da sazrevanjem ploda jagode dolazi do opadanja sadržaja elaginske kiseline (Maas et al., 2002).

Elaginska kiselina je u plodovima jagodastog i koštičavog voća manje rasprostranjena u slobodnom obliku, obično se nalazi vazana, u obliku glikozida ili elagitanina (Häkkinen et al., 1999; Milić et al., 2000; da Silva Pinto et al., 2008). Prilikom kiselinske hidrolize, elagitanini se razlažu i na taj način može se osloboditi elaginska kiselina (Beattie et al., 2005; Bakkalbasi et al., 2009). U plodu maline kao dominantna jedinjenja pronađeni su flavonoidi, elagitanini i fenolne kiseline (Kähkönen et al., 2001; Zhao, 2007). U plodovima jagodastog (maline, kupine, jagode) i jezgrastog voća (orah, leska) identifikovani su elagitanini i njihovi derivati (Koponen et al., 2007).

Zanimljiva je činjenica da je u hladno ceđenom soku maline pronađena statistički značajno viša koncentracija elaginske kiseline u odnosu na enzimirani sok (tabela 16). Ovo je najviša vrednost fenolnog jedinjenja, u hladno ceđenom soku maline, kao i u ostalim sokovima maline (slika 1.2). Enzimiranjem se smanjio sadržaj

elaginske kiseline u soku, jer se najverovatnije pod uticajem visoke temperature delimično degradirala, a pasterizacija je dodatno uticala na degradaciju ove kiseline.

Sadržaj ***p*-kumarinske kiseline** bio je najviši kod enzimiranih sokova borovnice (66,93 mg/l) i višnje (51,56 mg/l), a zatim jagode i maline (tabela 17).

Tabela 17. Sadržaj *p*-kumarinske kiseline u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	<i>p</i> -Kumarinska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	5,15±0,01 <sup>h</sup>	24,98±0,01 <sup>d</sup>	12,67±0,01 <sup>f</sup>
<b>malina</b>	0,81±0,01 <sup>l,m,n</sup>	16,81±0,02 <sup>e</sup>	4,36±0,07 <sup>h,i</sup>
<b>kupina</b>	/	4,51±0,06 <sup>h</sup>	54,40±0,16 <sup>b</sup>
<b>višnja</b>	0,35±0,02 <sup>m,n</sup>	51,56±0,51 <sup>c</sup>	3,53±0,15 <sup>i</sup>
<b>borovnica</b>	1,76±0,22 <sup>i,k</sup>	66,93±0,95 <sup>a</sup>	6,73±0,61 <sup>g</sup>
<b>crvena ribizla</b>	0,32±0,03 <sup>n</sup>	1,19±0,03 <sup>k,l,m</sup>	1,45±0,07 <sup>k,l</sup>
<b>crna ribizla</b>	0,25±0,03 <sup>n</sup>	2,48±0,07 <sup>j</sup>	2,39±0,04 <sup>j</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Najzastupljenija fenolna kiselina u voćnim sokovima kupine je *p*-kumarinska kiselina (slika 1.3). Pasterizacija je značajno smanjila sadržaj *p*-kumarinske kiseline. Od pasterizovanih sokova, jedino je sok kupine pokazao značajno više vrednosti, u odnosu na enzimirani sok, pre termičkog tretmana (54,40 mg/l). Kod hladno ceđenih sokova sok jagode je pokazao najvišu koncentraciju ove fenolne kiseline (tabela 17). U enzimiranom soku jagode dominantno fenolno jedinjenje je *p*-kumarinska kiselina, koje je kvantifikovano u količini od 24,98 mg/l (slika 1.1). U ranijim studijama takođe se navode, kao dominantno zastupljene fenolne kiseline u plodu jagode, elaginska i *p*-kumarinska kiselina (Häkkinen et al., 1999; Jakobek et al., 2007b; Häkkinen i Törrönen, 2000; Milivojević et al., 2011). Takođe je u plodovima višnje, borovnice i crne ribizle *p*-kumarinska kiselina pronađena kao dominantno fenolno jedinjenje (Häkkinen et al., 1999; Määttä-Riihinen et al., 2004; Jakobek et al., 2007b), što se nije pokazalo u eksperimentalnim sokovima od ovih voćnih vrsta.

**Kofeinska kiselina** je u biljnom svetu najzastupljenija fenolna kiselina (Pereira et al., 2009; Dai i Mumper, 2010).

Naročito visoke vrednosti kofeinske kiseline pronađene su u enzimiranom soku borovnice (91,98 mg/l) i višnje (73,27 mg/l), zatim crne ribizle i maline (tabela 18).

Tabela 18. Sadržaj kofeinske kiseline u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Kofeinska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	0,77±0,00 <sup>j,k,l</sup>	1,50±0,01 <sup>i,j</sup>	0,70±0,00 <sup>j,k,l</sup>
<b>malina</b>	1,43±0,01 <sup>i,j</sup>	28,71±0,07 <sup>d</sup>	6,53±0,02 <sup>f,g</sup>
<b>kupina</b>	/	7,13±0,10 <sup>f</sup>	2,32±0,01 <sup>i</sup>
<b>višnja</b>	0,37±0,02 <sup>k,l</sup>	73,27±0,71 <sup>b</sup>	8,46±0,41 <sup>e</sup>
<b>borovnica</b>	0,15±0,01 <sup>k,l</sup>	91,98±1,21 <sup>a</sup>	5,67±0,08 <sup>g,h</sup>
<b>crvena ribizla</b>	0,27±0,01 <sup>k,l</sup>	1,08±0,07 <sup>j,k</sup>	0,96±0,05 <sup>j,k,l</sup>
<b>crna ribizla</b>	0,77±0,08 <sup>j,k,l</sup>	32,78±0,23 <sup>c</sup>	5,36±0,07 <sup>h</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Primena termičkog tretmana doprinelo je značajnom smanjenju ove vrednosti. U hladno ceđenim sokovima (II postupak) su pronađene izuzetno niske koncentracije kofeinske kiseline. Ova kiselina detektovana je kao dominantna fenolna kiselina u crvenoj ribizli, a kvantifikovane su još i *p*-kumarinska i *p*-hidroksibenzoeva kiselina (Jakobek et al., 2007b), dok u ispitivanim sokovima crvene ribizle nisu pronađene značajne količine ove kiseline.

**Ferulinska kiselina** nije identifikovana u hladno ceđenim voćnim sokovima (I postupak), dok su male količine pronađene u enzimiranim sokovima (II postupak) u sokovima odmaline i kupine, dok je kod ostalih uzoraka bila detektovana u tragovima, ili nije nije detektovana uopšte (tabela 19).

Tabela 19. Sadržaj ferulinske kiseline u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Ferulinska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	/	0,18±0,00 <sup>g</sup>	/
<b>malina</b>	/	3,68±0,01 <sup>a</sup>	0,99±0,01 <sup>c</sup>
<b>kupina</b>	/	1,14±0,01 <sup>b</sup>	0,37±0,03 <sup>e</sup>
<b>višnja</b>	/	/	/
<b>borovnica</b>	/	0,33±0,02 <sup>f</sup>	/
<b>crvena ribizla</b>	/	/	/
<b>crna ribizla</b>	/	0,59±0,03 <sup>d</sup>	/

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Ranija istraživanja pokazuju da fenolne kiseline (elaginska, galna, protokatehinska, kofeinska, *p*-kumarinska i ferulinska kiselina) čine veliki deo fenolnog sadržaja plodova jagode, kupine i maline (Milivojević et al., 2011). U plodovima višnje, borovnice i crne ribizle od fenolnih kiselina pronađene su ferulinska, *p*-kumarinska, kofeinska, elaginska kiselina (Häkkinen et al., 1999; Määttä-Riihinen et al., 2004; Jakobek et al., 2007b). Häkkinen et al., (1999) su u jagodastom voću detektovali odabrane hidrosicinaminske kiseline (*p*-kumarinsku, kofeinsku i ferulinsku) i hidroksibenzojeve kiseline (*p*-hidroksibenzojevu, galnu i elaginsku kiselinu).

Izuzetno visoke vrednosti **hlorogenske kiseline** pronađene su kod uzoraka pasterizovanih sokova borovnice i višnje (280,71 mg/l i 130,68 mg/l, respektivno) (tabela 20).

Tabela 20. Sadržaj hlorogenske kiseline u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Hlorogenska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	/	0,17±0,00 <sup>e</sup>	0,18±0,00 <sup>e</sup>
<b>malina</b>	/	/	/
<b>kupina</b>	/	/	/
<b>višnja</b>	58,43±0,53 <sup>c</sup>	1,66±0,05 <sup>e</sup>	130,68±1,06 <sup>b</sup>
<b>borovnica</b>	1,66±0,09 <sup>e</sup>	34,89±0,82 <sup>d</sup>	280,71±3,29 <sup>a</sup>
<b>crvena ribizla</b>	/	/	/
<b>crna ribizla</b>	/	/	0,13±0,02 <sup>e</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Hlorogenska kiselina je najzastupljenije fenolno jedinjenje u voćnim sokovima višnje i borovnice (slike 1.4 i 1.5). Zanimljivo je da je kod enzimiranih voćnih sokova višnje i borovnice pronađena niža vrednost sadržaja ove fenolne kiseline, u odnosu na njen visok sadržaj u pasterizovanom soku (posebno kod soka višnje, gde je vrednost gotovo 80 puta niža), pa se može pretpostaviti da je došlo do njenog naknadnog formiranja kao posledica termičkog tretmana (tabela 20). Takođe relativno visoke vrednosti ove kiseline su pronađene u hladno ceđenom soku višnje (58,43mg/l). U plodu višnje je, takođe, pronađena hlorogenska kiselina, ali dominantna fenolna jedinjenja bili su derivati cijanidina i peonidina. Pored njih u ovom plodu detektovani su i neohlorogenska kiselina, derivati *p*-kumarinske kiseline, zatim glikozidi kvercetina, kaempferola i izoramnetina (Kim et al., 2005).

Isto tako, prisustvo hlorogenske kiseline u enzimiranom soku borovnice, za razliku od hladno ceđenog soka, potvrđuje činjenicu da enzimiranje omogućava bolju ekstrakciju polifenolnih jedinjenja iz voća (pre svega pokožice) u sok (Cosgrove, 2005; Buchert et al., 2005).

Hlorogenska kiselina, estar kofeinske i hininske kiseline, izrazito gorkog ukusa, glavno je fenolno jedinjenje u svežem zrnju kafe, od koje se pri prženju kafe, formira mnoštvo različitih proizvoda, od kojih svaki utiče na ukus kafe (Olthof et al., 2003). Pokazalo se da su hlorogenska kiselina i rutin relativno stabilni tokom grejanja na 100°C. Iako se razlažu na 180°C, neki proizvodi razlaganja su i dalje zadržavali sposobnost uklanjanja slobodnih radikala. Pored toga, pokazano je da hlorogenska kiselina štiti rutin od razlaganja zagrevanjem, verovatno zbog činjenice da je hlorogenska kiselina estar, pa se iz tog razloga lakše raszlaže od rutina (Murakami et al., 2004).

Sadržaj **kempferola** u sokovima prikazan je u tabeli 21.

Tabela 21. Sadržaj kempferola u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Kempferol (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	0,01±0,00 <sup>h,i</sup>	0,33±0,01 <sup>b</sup>	0,15±0,01 <sup>e</sup>
<b>malina</b>	/	0,25±0,03 <sup>d</sup>	0,04±0,01 <sup>g,h,i</sup>
<b>kupina</b>	0,01±0,00 <sup>h,i</sup>	0,30±0,02 <sup>b,c</sup>	0,04±0,00 <sup>g,h,i</sup>
<b>višnja</b>	0,04±0,01 <sup>g,h,i</sup>	0,08±0,03 <sup>f,g</sup>	0,01±0,00 <sup>h,i</sup>
<b>borovnica</b>	/	0,26±0,04 <sup>c,d</sup>	0,10±0,01 <sup>f</sup>
<b>crvena ribizla</b>	0,06±0,00 <sup>f,g,h</sup>	0,01±0,00 <sup>i</sup>	/
<b>crna ribizla</b>	0,05±0,01 <sup>f,g,h,i</sup>	0,39±0,03 <sup>a</sup>	0,15±0,01 <sup>e</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

U voćnim sokovima kempferola je bilo u tragovima (tabela 21).

Naročito visoke vrednosti sadržaja **kvercetina** kvantifikovane su u enzimiranom soku borovnice (75,38 mg/l), koje su značajno opale pasterizacijom (tabela 22). Što potvrđuju i ranija istraživanja, koja su pokazala prisustvo kvercetina u borovnici, crvenoj i crnoj ribizli (Häkkinen et al., 1999). U plodu borovnice kao dominantni flavonol detektovan je kvercetin, a pronađeni su i miricetin i kaempferol (Jakobek et al., 2007b).

Visok sadržaj kvercetina pokazali su enzimirani sokovi maline, kupine i crne ribizle, čija se vrednost smanjila pasterizacijom.

Kod hladno ceđenih sokova kvercetin je pronađen i kod crvene ribizle, višnje, kupine, crne ribizle (tabela 22).

Tabela 22. Sadržaj kvercetina u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Kvercetin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	/	0,99±0,00 <sup>k</sup>	/
<b>malina</b>	0,42±0,01 <sup>k,l</sup>	23,42±0,31 <sup>b</sup>	2,65±0,02 <sup>j</sup>
<b>kupina</b>	3,48±0,03 <sup>h,i</sup>	16,11±0,08 <sup>c</sup>	5,84±0,04 <sup>f</sup>
<b>višnja</b>	4,75±0,04 <sup>g</sup>	3,01±0,08 <sup>i,j</sup>	0,45±0,05 <sup>k,l</sup>
<b>borovnica</b>	/	75,38±0,88 <sup>a</sup>	13,19±0,52 <sup>d</sup>
<b>crvena ribizla</b>	4,18±0,22 <sup>g,h</sup>	/	/
<b>crna ribizla</b>	2,45±0,06 <sup>j</sup>	7,66±0,31 <sup>e</sup>	5,64±0,06 <sup>f</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Chaovanalikit i Wrolstad (2004a) su pokazali da su flavanoli glavna klasa fenolnih jedinjenja u višnji, međutim, pokazalo se da su jedino male količine kvercetina pronađene u hladno ceđenom i značajno manje u enzimiranom soku višnje (slika 1.4, tabela 23). Imajući u vidu veliko variranje u sadržaju ovih jedinjenja, koje može biti posledica agroekoloških uslova, sortimenta i vremena berbe može se pretpostaviti da je visoka koncentracija fenolnih jedinjenja zaostala u tropu nakon ceđenja, ali se može zaključiti da je moglo doći do degradacije fenolnih jedinjenja pod uticajem povišenih temperatura (Niketić-Aleksić, 1982; Vukosavljević, 2006; Lopes da Silva et al., 2007; Mateus i de Freitas, 2009).

**Miricetin** je pronađen samo u sokovima borovnice i crne ribizle, i to najviše kod enzimiranih (II postupak), dok su pasterizacijom opale vrednosti sadržaja miricetina (tabela 23).

Tabela 23. Sadržaj miricetina u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Miricetin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	/	/	/
<b>malina</b>	/	/	/
<b>kupina</b>	/	/	/
<b>višnja</b>	/	/	/
<b>borovnica</b>	/	10,89±0,44 <sup>a</sup>	6,96±0,85 <sup>c</sup>
<b>crvena ribizla</b>	/	/	/
<b>crna ribizla</b>	2,84±0,04 <sup>d</sup>	7,22±0,44 <sup>c</sup>	9,45±0,09 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Ovu vrstu flavonola imao je od hladno ceđenih sokova (I postupak) jedino sok crne ribizle (tabela 23).

Nizak sadržaj flavonola, posebno miricetina i kempferola, pronađen u voćnim sokovima verovatno je povezan sa činjenicom da se flavonoidi retko u prirodi javljaju kao slobodni, već se najčešće sreću u obliku glikozida, tj. aglikona vezanog za šećer (Milić et al., 2000). U plodu crne ribizle su od flavonola detektovani kvercetin i kempferol (Häkkinen et al., 1999; Määttä-Riihinen et al., 2004; Jakobek et al., 2007b).

U plodu crvene ribizle detektovani su flavonoli: kvercetin, zatim miricetin i kempferol (Jakobek et al., 2007b), dok je u eksperimentalnim sokovima crvene ribizle prisutan bio jedino kvercetin, i to u hladno ceđenom soku (slika 1.6).

Prisustvo flavonola i većine fenolnih kiselina u soku crne ribizle je prikazano i u istraživanju Törrönen et al. (2012), a takođe i Häkkinen et al. (1999) su u jagodastom voću od flavonoida detektovali odabrane flavonole (kempferol, kvercetin, miricetin). Heinonen et al. (1998) istakli su prisustvo flavonola u borovnicama, a u eksperimentalnim sokovima bili su prisutni jedino kvercetin i manje količine miricetina, i to u enzimiranim i pasterizovanim sokovima (II i III postupak) (slika 1.5, tabele 22 i 23).

U ranijim istraživanjima su pored fenolnih kiselina, u plodovima jagode i borovnice, u manjim koncentracijama, identifikovani i kvantifikovani i flavonoidi, i to flavonoli: kvercetin, miricetin, kempferol (Häkkinen et al., 1999; Häkkinen i Törrönen, 2000; Jakobek et al., 2007b; Milivojević et al., 2011). Oni su došli do zaključka da viši sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja imaju plodovi borovnice u odnosu na jagodu, što se pokazalo i u eksperimentalnim sokovima borovnice i jagode. U fenolnim profilima u bobicama primećene su značajne razlike, sa određenim sličnostima unutar porodica i rodova. Glavno fenolno jedinjenje analizirano u rodu *Vaccinium* bio je kvercetin. U uzorcima soka jagode nisu identifikovani katehin, rutin i miricetin dok su kvercetin i kempferol pronađeni u tragovima. Međutim, utvrđeno je da tokom čuvanjem na niskim temperaturama do  $-20^{\circ}\text{C}$ , sadržaj ovih jedinjenja opada (Häkkinen et al., 1999).

Po visokom sadržaju **rutina** isticao se naročito enzimirani sok crne ribizle (100,18 mg/l), zatim i enzimirani sok crvene ribizle, ali i njihovi pasterizovani sokovi, sa statistički značajno ( $p < 0,05$ ) nižim vrednostima od nepasterizovanih (tabela 24).

Tabela 24. Sadržaj rutina u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Rutin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	/	/	/
<b>malina</b>	/	/	/
<b>kupina</b>	/	6,94±0,13 <sup>g</sup>	6,98±0,20 <sup>g</sup>
<b>višnja</b>	1,69±0,02 <sup>i</sup>	26,83±0,39 <sup>f</sup>	47,94±0,95 <sup>d</sup>
<b>borovnica</b>	/	6,89±0,43 <sup>g</sup>	/
<b>crvena ribizla</b>	6,15±0,29 <sup>g,h</sup>	55,64±0,61 <sup>c</sup>	41,45±1,23 <sup>e</sup>
<b>crna ribizla</b>	4,44±0,06 <sup>h</sup>	100,18±2,19 <sup>a</sup>	94,20±1,32 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

U ovim sokovima, rutin je detektovan kao dominantno fenolno jedinjenje (slike 1.6 i 1.7). Rutin je pronađen i u enzimiranim voćnim sokovima kupine i borovnice (tabela 24). Pasterizovani voćni sok višnje imao je takođe izuzetno visoke vrednosti sadržaja rutina (47,94 mg/l), gotovo duplo više od nepasterizovanog soka. Može se pretpostaviti da je došlo do njegovog naknadnog nastanka tokom termičkog tretmana. Niske vrednosti sadržaja rutina imali su i sokovi crvene i crne ribizle, kao i borovnice, bez enzimskog tretmana. Chaovanalikit i Wrolstad (2004a) navode da su pri preradi i skladištenju flavonol glikozidi prilično stabilni, što je potvrđeno i u eksperimentalnim uzorcima kupine, višnje, crvene i crne ribizle (tabela 24).

**Katehin** nije pronađen u pasterizovanim sokovima (III postupak), kao i u većini sokova dobijenih primenom druga dva tehnološka postupka (I i II postupka) (tabela 25).

Tabela 25. Sadržaj katehina u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Katehin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	/	/	/
<b>malina</b>	/	/	/
<b>kupina</b>	3,13±0,06 <sup>c</sup>	/	/
<b>višnja</b>	/	28,06±0,39 <sup>a</sup>	/
<b>borovnica</b>	/	6,21±0,54 <sup>b</sup>	/
<b>crvena ribizla</b>	/	/	/
<b>crna ribizla</b>	/	/	/

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.



Visoku koncentraciju katehina sadržao je enzimirani sok višnje (28,06 mg/l), a nižu enzimirani sok borovnice i hladno ceđeni sok kupine. Prisustvo flavonoida (katehin, epikatehin, miricetin, kvercetin i kempferol) potvrđeno je u plodovima borovnice i kupine (Sellapan et al., 2002).

Najzastupljenije fenolno jedinjenje pronađeno u uzorcima soka kupine bio je epikatehin (slika 1.3).

Tabela 26. Sadržaj epikatehina u uzorcima voćnih sokova

Voćni sokovi	Epikatehin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>jagoda</b>	0,10±0,00 <sup>m</sup>	0,18±0,00 <sup>l,m</sup>	0,18±0,00 <sup>l,m</sup>
<b>malina</b>	1,38±0,01 <sup>i,j,k</sup>	2,33±0,02 <sup>g,h</sup>	2,20±0,01 <sup>g,h,i</sup>
<b>kupina</b>	/	71,96±0,85 <sup>b</sup>	79,40±0,54 <sup>a</sup>
<b>višnja</b>	24,74±0,42 <sup>e</sup>	46,38±0,44 <sup>d</sup>	55,97±0,51 <sup>c</sup>
<b>borovnica</b>	1,29±0,09 <sup>i,k</sup>	2,71±0,27 <sup>f,g</sup>	3,56±0,15 <sup>f</sup>
<b>crvena ribizla</b>	0,55±0,03 <sup>k,l,m</sup>	0,58±0,02 <sup>k,l,m</sup>	0,53±0,06 <sup>k,l,m</sup>
<b>crna ribizla</b>	1,07±0,06 <sup>j,k,l</sup>	1,62±0,06 <sup>h,i,j</sup>	1,78±0,07 <sup>h,i,j</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Sadržaj **epikatehina** je bio posebno visok kod pasterizovanog soka kupine (79,40 mg/l), dok je njegova vrednost bila nešto niža kod soka višnje (tabela 26). Ove vrednosti bile su značajno više u odnosu na ove enzimirane sokove bez termičkog tretmana. Od svih jagodastih voćnih vrsta plod kupine se odlikuje najvećim antioksidativnim potencijalom (Pellegrini et al., 2003), a za to su odgovorni flavonoidi i fenolne kiseline, kojih ima najviše u pokožici ploda (Szajdek i Borowska, 2008).

Od hladno ceđenih sokova (I postupak), sok višnje se izdvajao od ostalih po visokom sadržaju epikatehina (24,74 mg/l) (tabela 26). Heinonen et al. (1998) istakli su prisustvo flavan-3-ola u malini, a epikatehin se navodi kao dominantni flavanol ploda maline (Määttä-Riihinen et al., 2004), koji je u sva tri uzorka soka maline pronađen u vrlo malim količinama. Takođe, Rumpunen et al. (2012) navode da plodovi ribizle sadrže dosta katehina i epikatehina, što nije potvrđeno u eksperimentalnim sokovima.

Generalno, može se zaključiti da su proizvedeni voćni sokovi bili izuzetno bogati u sadržaju fenolnih kiselina i flavonoida, i kao takvi bi se mogli konzumirati kao namirnice, koje bi mogle imati i protektivno dejstvo na zdravlje potrošača, jer je dokazano da se fenolna jedinjenja prisutna u plodovima jagodastog i koštičavog voća odlikuju antioksidativnim, antikancerogenim, antiinflamatornim i

antineurodegenerativnim svojstvima (Seeram et al., 2006; i Seeram, 2008). Dominantna fenolna jedinjenja pronađena u proizvedenim voćnim sokovima bili su hlorogenska, kofeinska, *p*-kumarinska i galna kiselina, rutin, kvercetin i epikatehin. Enzimirani sokovi (II postupak) pokazali su najbolje vrednosti za većinu ispitanih parametara kvaliteta, dok su nešto niže vrednosti dobijene kod pasterizovanih sokova (III postupak). Hladno ceđeni sokovi (I postupak) su pokazali najslabiju ekstrakciju fenolnih jedinjenja, a takođe su i posedovali najniže vrednosti antioksidativnog potencijala u odnosu na druga dva tehnološka postupka proizvodnje, ali kada bi se uporedili sa drugom hranom i pićima moglo bi se zaključiti da su i ovi sokovi posedovali visoke vrednosti svih parametara kvaliteta (Scalbert i Williamson, 2000; Đorđević, 2016).

### 5.1.7. Odabir i karakterizacija ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja

Cilj ovog dela istraživanja je bio da se mešanjem eksperimentalno proizvedenih voćnih sokova od jagodastog i koštičavog voća dobije polazna mešavina (PM) voćnog soka u koju su dodavani ekstrakti različitog lekovitog i aromatičnog bilja, kako bi se senzornom analizom odabralo ono bilje koje je sa njom dalo harmonična i prijatna senzorna svojstva. Takođe, pri odabiru bilja vodilo se računa da ono poseduje već dokazana pozitivna svojstva na zdravlje potrošača.

Preliminarna senzorna analiza biljnih ekstrakata vršena je od strane deset obučениh ocenjivača. To su bile osobe čije su sklonosti i sposobnosti za ispitivanje i ocenjivanje dokazane, ali koje su imale i obaveznu prethodnu edukaciju i upoznavanje sa osnovnom tehnologijom proizvodnje bezalkoholnih pića.

Na bazi senzorne analize izabrano je 14 ekstrakata, koji su dalje analizirani i korišćeni u eksperimentima za spravljanje finalnih bezalkoholnih pića. Lekovito i aromatično bilje koje je korišćeno u eksperimentu bilo je: *Echinaceae herba* (herba ehinacee), *Chamomillae flos* (cvast kamilice), *Sambuci flos* (cvet zove), *Urticae folium* (list koprive), *Cynosbati fructus* (plod šipurka), *Melissae folium* (list matičnjaka), *Aronia fructus* (plod aronije), *Equiseti herba* (herba rastavića), *Fagopyri herba* (herba heljde), *Sophorae flos* (cvet japanskog bagrema), *Leonuri herba* (herba srdačice), *Foenugraeci semen* (grčko seme), *Teucarii montani herba* (herba trave ive) i *Serpylli herba* (herba majkine dušice).

Za senzornu analizu biljnih ekstrakata napravljeno je bezalkoholno piće koje je sadržalo 5% ispitivanih biljnih ekstrakata (dobijenih perkolacijom u 50% vodenometanolnom rastvoru), i 95% mešavine voćnih sokova – PM (30% soka jabuke, i po 10% sokova jagode, višnje, maline, kupine, borovnice, crvene ribizle i crne ribizle). Ovakav odnos je primenjen sa namerom da, prilikom senzorne analize, do izražaja dođu karakteristična svojstva svakog pojedinačnog biljnog ekstrakta, dok je mešavina voćnih sokova, izabrana tako da ima isti udeo svakog ispitivanog voćnog soka i 30% soka jabuke. Ovo bezalkoholno piće nije dalje analizirano u radu, već je samo predstavljalo probni uzorak, za senzornu karakterizaciju i selekciju biljnih ekstrakata.

Količina biljnih ekstrakata od 5%, koja je upotrebljena za dobijanje ovog polaznog pića je bila gotovo desetostruko viša od koncentracije od 0,6%, koja je kasnije korišćena za proizvodnju finalnih bezalkoholnih pića. Ova gotovo desetostruko viša koncentracija je primenjena, kako bi ocenjivači mogli što bolje da prepoznaju karakteristične senzorne attribute svakog pojedinačnog bilja. Treba imati u vidu da je u kasnijem radu ona značajno smanjivana, kako se ne bi prekoračila maksimalno dozvoljena koncentracija etanola u finalnim proizvodima, definisana Pravilnikom o kvalitetu voćnih sokova, koncentrisanih voćnih sokova, voćnih sokova u prahu, voćnih nektara i srodnih proizvoda (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011).

Kao kontrolna proba, pri senzornoj analizi je korišćen uzorak polazne mešavine sokova (PM), bez dodatka biljnih ekstrakata.

Ovaj uzorak je senzorno ocenjen kao prijatan, aromatičan, kiselkastog, ali punog ukusa, sa dominantnim mirisom na jagodu i višnju, i ukusom pre svega na višnju, a potom i na jagodu.

Uzorci mešavine voćnih sokova (PM) sa 5% ekstrakta nabrojanih lekovitih i aromatičnih biljaka su ocenjeni na sledeći način:

1. *Echinaceae herba* (herba ehinacee) – miris na ehinaceu, ukus na ehinaceu i voće, nije baš prijatnog ukusa;
2. *Chamomillae flos* (cvast kamilice) – miris na kamilicu, ukus na kamilicu i bilje, kamilica preovladava i na ukusu i na mirisu;
3. *Sambuci flos* (cvet zove) – miris na zovu, ukus na kiselo;

4. *Urticae folium* (list koprive) – miris na voće, ukus na voće, veoma prijatan;
5. *Cynosbati fructus* (plod šipka) – miris na ekstrakt bilja, ukus na voće i bilje, prijatan, osvežavajuć, ukus bolji od PM bez bilja;
6. *Melissae folium* (list matičnjaka) – miris na bilje, ukus na bilje i voće, prijatna gorčina, nije kiselo;
7. *Aronia fructus* (plod aronije) – miris na bilje i voće, ukus na bilje i voće, boljih senzornih svojstava od same PM;
8. *Equiseti herba* (herba rastavića) - prijatan i miris i ukus;
9. *Fagopyri herba* (herba heljde) – prijatan miris i gorčina, prihvatljiv;
10. *Sophora flos*(cvet sofore) – prijatan miris, ukus pomalo herbalan;
11. *Leonuri herba* (herba srdačice) – miris blag, sličan kamilici, ukus gorak i kiselkast;
12. *Foenugraeci semen* (grčko seme) – neodređen miris, na ukusu nije prijatan, podseća na orah;
13. *Teucrium montanum* (trava iva) – bez izražajnog mirisa, asocira na samu PM, prilično gorkog ukusa;
14. *Thymus serpyllum* (majkina dušica) – prihvatljivog i prijatnog mirisa i ukusa, bez gorčine, kiseo.

Zbog svojih senzornih svojstava (nekompatibilnosti sa PM) iz daljih analiza su isključeni ekstrakti lekovitog bilja, sa sledećim karakteristikama:

- *Foeniculum vulgare* (plod morača) – izuzetno herbalan miris, gorkog i herbalnog ukusa, koji dominira;
- *Olivae folium* (list masline) – miris i ukus na maslinu, gorči, lošiji od svih ostalih;
- *Menthae piperitae folium* (list pitome nane) – miris na nanu, ukus gorak, neprihvatljiv;
- *Tiliae flos* (cvet lipa) – miris i ukus na lipu i bilje, nije harmoničan sa PM.

#### 5.1.7.1. Proizvodnja mešavina ekstrakata aromatičnog i lekovitog bilja

Sledeći cilj je bio da se proizvedu tri različite kombinacije biljnih ekstrakata, poznatih fizioloških svojstva, ciljanih za specifične grupe potrošača, sa prihvatljivim senzornim osobinama.

Prilikom izbora ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja, vodilo se računa da ukupni efekat proizvedenih finalnih napitaka na zdravlje potencijalnih potrošača bude takav da pozitivno deluje na: ubrzanje metabolizma što dovodi do smanjenja telesne težine (finalni napitak – “Fit”), zaštitu kardiovaskularnog sistema (finalni napitak – “Kardio”) i jačanje otpornosti organizma (finalni napitak – “Imuno”).

U cilju dobijanja potencijalno funkcionalnih kombinacija ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja (K1, K2 i K3), kombinovani su oni ekstrakti biljaka, čija su potencijalno funkcionalna i korisna fiziološka svojstva bila sledeća:

1. Povoljan uticaj na organe gastrointestinalnog trakta, poboljšani promet materija – metabolizam u organizmu u smislu pojačanog procesa eliminacije diurezom i defekacijom, izbacivanje štetnih materija iz organizma, održavanje dobre kondicije i opšte opuštajuće dejstvo (kombinacija biljnih ekstrakata K1);
2. Blagotvoran uticaj na zaštitu i jačanje kardiovaskularnog sistema ljudi, kardio opuštajuće dejstvo, poboljšanje krvne slike (kombinacija biljnih ekstrakata K2);
3. Povoljan uticaj na povećanje otpornosti organizma, zaštitu od čestih infekcija i postizanja opšteg zdravlja (kombinacija biljnih ekstrakata K3).

Navedena funkcionalna svojstva su odabrana jer su gojaznost, kardiovaskularne tegobe i mnoge bolesti izazvane padom otpornosti organizma najčešća oboljenja savremenog doba. Konzumiranjem niskokaloričnih bezalkoholnih voćnih napitaka sa ekstraktima odgovarajućeg lekovitog i aromatičnog bilja, moglo bi se povoljno uticati na navedene tegobe.

Pomenute kombinacije lekovitog i aromatičnog bilja (K1, K2 i K3) su bile sledećeg sastava:

1. **Kombinacija - K1** - dodavana u finalno bezalkoholno piće “Fit”  
Ekstrakti: 25% šipurak, 25% aronija, 16,67% rastavić, 8,33% matičnjak, 13,34% kopriva, 8,33% kamilica, 3,33% zova.
2. **Kombinacija - K2** - dodavana u finalno bezalkoholno piće “Kardio”  
Ekstrakti: 16,66% heljda, 16,67% japanski bagrem, 16,67% aronija, 16,67% šipurak, 16,67% kopriva, 8,33% srdačica, 8,33% matičnjak.
3. **Kombinacija - K3** - dodavana u finalno bezalkoholno piće “Imuno”  
Ekstrakti: 41,66% aronija, 25% šipurak, 20% kopriva, 3,33% ehinacea, 3,33% grčko seme, 3,33% trava iva, 3,33% majkina dušica.

Na osnovu prikazanog sastava biljnih mešavina, može se uočiti da su u svim kombinacijama upotrebljeni ekstrakti šipurka, ploda aronije i lista koprive. Ovi ekstrakti su izabrani zbog njihovog neutralnog i prijatnog ukusa i mirisa, kao i zbog dokazanih zdravstvenih efekata. Ekstrakt šipurka je imao prijatan, osvežavajući miris, ekstrakt ploda aronije izrazito prijatan i ukus i miris, kao i ekstrakt lista koprive, koji je pokazao veoma prijatan ukus i isticao voćni miris sokova.

Dokazana su povoljna fiziološkim svojstva herbe matičnjaka (Bolkent et al., 2005; Emamghorishi i Talebianpour, 2009) pa je on je zbog toga bio sastojak kombinacija K1 i K2. Međutm, zbog svoje gorčine, nije bio deo kombinacije K3, jer je pojačavao izraženu gorčinu herbe trave ive, koja je iz tih razloga, u mešavinu K3 dodavana u manjoj količini. Ekstrakt herbe trave ive je dodavan zbog njenih dokazanih pozitivnih zdravstvenih efekata (Tumbas et al., 2004; Vuković et al., 2007).

Pored ekstrakata ploda aronije, šipurka, lista koprive i herbe matičnjaka, u kombinaciju K1 ("Fit") dodavani su oni ekstrakti, koji poseduju pozitivan efekat na održavanje telesne težine, pojačano izbacivanje štetnih materija iz organizma i viška tečnosti, i koji deluju opuštajuće. Ova dejstva pokazali su u mnogim istraživanjima ekstrakti herbe rastavića sa diuretičnim delovanjem (Čanadanović-Brunet et al., 2009; Četojević-Simin et al., 2010), cveta kamilice sa antiflogističnim (Srivastava i sar., 2010; Das, 2014) i zove sa dijaforetičnim efektom (Groza et al., 2010; Sidor i Gramza-Michałowska, 2015). Ekstrakt cveta zove je potencirao ukus i miris cveta kamilice, a s obzirom na njegov kiselkast miris, dodavan je u maloj količini.

U kombinaciji biljnih ekstrakata K2 ("Kardio") pored ekstrakata ploda aronije, šipurka, lista koprive i herbe matičnjaka, dodavani su i ekstrakti potvrđenog ciljanog dejstva na kardiovaskularni sistem, kao što su ekstrakti herbe heljde (Huang et al., 2006; Son et al., 2008), cveta japanskog bagrema (Chen i Hsieh, 2010; Shen et al., 2011) i herbe srdačice (Liu et al., 2012; Wojtyniak et al., 2012). Herba heljde i cvet japanskog bagrema su odlični izvori rutina, koji ispoljava, pored mnogih delovanja i dokazano povoljan efekat na elastičnost krvnih sudova. Ekstrakt herbe heljde se odlikovao prijatnim mirisom i pomalo gorkim ukusom, a ekstrakt cveta japanskog bagrema prijatnim mirisom i pomalo herbalnim ukusom, koji nije dominirao. Međutim, kod ekstrakta herbe srdačice kiselkast ukus, koji je uz to posedovao i blagu gorčinu, je uticao na smanjenje količine ovog ekstrakta u pomenutoj kombinaciji.

Ekstrakti koji su upotrebljeni u kombinaciji K3 (“Imuno”) pripremljeni su od: herbe trave ive (Vuković et al., 2007) koja je zbog svog dokazanog ciljanog dejstva na pojačanje apetita zahvaljujući gorkim materijama, dodavana u malim količinama; herbe ehinacea (See et al., 1997; Percival, 2000), kao imunostimulativna biljna droga, zbog svog izraženog mirisa; herba majkine dušice (Horváth et al., 2002) zbog svoje arome i kiselosti i grčko seme (Czygan et al., 2001) zbog značajnog uticaja na aromu u kombinaciji sa ispitivanim sokovima.

### 5.1.8. Određivanje pH vrednosti i sadržaja suve materije proizvedenih ekstrakata

Za ispitivane biljne ekstrakte, pH vrednost i sadržaj rastvorljive suve materije prikazani su u tabeli 27.

Tabela 27. pH vrednost i sadržaj suve materije u biljnim ekstraktima

Biljni ekstrakti	pH vrednost	Sadržaj rastvorljive suve materije (%)
Zova	5,79±0,07	25,0±0,3
Kamilica	5,82±0,12	25,0±0,2
Šipak	4,36±0,08	30,0±0,4
Aronija	4,62±0,05	36,0±0,5
Matičnjak	5,84±0,11	23,0±0,3
Ehinacea	6,24±0,07	24,5±0,2
Trava iva	5,60±0,06	28,0±0,3
Kopriva	7,19±0,16	22,0±0,1
Grčko seme	6,50±0,14	26,0±0,4
Majkina dušica	5,84±0,11	23,0±0,3
Heljda	5,32±0,08	25,0±0,2
Srdačica	5,71±0,13	27,0±0,3
Rastavić	5,60±0,12	21,0±0,2
Japanski bagrem	6,01±0,07	26,0±0,3
K1	4,71±0,06	28,0±0,4
K2	5,11±0,05	27,5±0,3
K3	4,68±0,06	30,0±0,4

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

pH vrednosti ekstrakata kretala se od 4,36 kod ekstrakta šipurka, do 7,19 kod ekstrakta koprive. Kombinacije K1, K2 i K3 pokazale su se kao slabo kisele, sa pH vrednostima 4,71; 5,11 i 4,68, respektivno (tabela 27).

Sadržaj suve materije ekstrakata kretao se u granicama od 21% kod ekstrakta rastavića do 36% kod ekstrakta aronije. Kombinacije K1, K2 i K3 imale su 28,0%; 27,5% i 30,0% suve materije, respektivno.

### 5.1.9. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana, ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola u proizvedenim ekstraktima

Sadržaj ukupnih antocijana, ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola u uzorcima ekstrakata bilja prikazan je u tabeli 28.

Tabela 28. Sadržaj ukupnih antocijana, ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola u uzorcima biljnih ekstrakata

Biljni ekstrakti	Sadržaj ukupnih monomernih antocijana (mg CGE/l)	Sadržaj ukupnih flavonoida (mg QUE/l)	Sadržaj ukupnih polifenola (mg GAE/l)
Zova	169,49 ± 1,91	11.429,86 ± 52,43	8.560,33 ± 25,55
Kamilica	144,61 ± 2,03	4.695,42 ± 26,02	5.267,54 ± 40,95
Šipak	163,87 ± 2,15	20.076,67 ± 33,33	16.360,66 ± 81,97
Aronija	603,25 ± 12,67	18.532,50 ± 43,30	11.504,92 ± 37,56
Matičnjak	213,91 ± 1,50	28.220,83 ± 83,33	13.160,66 ± 0,00
Ehinacea	200,39 ± 3,29	5.813,61 ± 41,11	3.528,96 ± 17,06
Trava iva	236,79 ± 1,45	29.787,50 ± 216,51	24.415,30 ± 47,32
Kopriva	233,78 ± 0,77	2.508,67 ± 34,64	1.722,13 ± 8,20
Grcko seme	205,56 ± 1,26	2.417,56 ± 25,24	2.797,38 ± 39,04
Majkina dušica	249,31 ± 2,57	15.076,67 ± 33,33	7.424,04 ± 9,46
Heljda	419,81 ± 7,83	10.738,33 ± 33,33	8.451,37 ± 18,93
Srdačica	184,66 ± 0,64	15.565,56 ± 83,89	9.768,31 ± 75,72
Rastavić	85,08 ± 1,78	1.676,25 ± 16,67	1.034,10 ± 1,42
Japanski bagrem	325,96 ± 0,67	11.365,83 ± 14,43	15.613,11 ± 0,00
K1	180,18 ± 1,90	13.165,00 ± 50,00	8.218,03 ± 42,59
K2	253,32 ± 2,02	14.381,67 ± 76,38	9.619,67 ± 24,59
K3	239,63 ± 1,76	15.298,33 ± 144,34	9.800,00 ± 37,56

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

U ekstraktima lekovitog i aromatičnog bilja sadržaj ukupnih monomernih antocijana kretao se od 85 mg CGE/l, kod ekstrakta rastavića do 603,25 mg CGE/l, kod ekstrakta aronije (tabela 28). Izuzetno visoku vrednost od 419,81 mg CGE/l pokazao je i ekstrakt herbe heljde. Od kombinacija ekstrakata K2 je pokazala najviši sadržaj ukupnih monomernih antocijana u količini od 253,32 mg CGE/l (tabela 28). Ova kombinacija pored ekstrakta aronije, sadrži i ekstrakt heljde, sa visokim vrednostima pomenutog parametra. Oni su najverovatnije doprineli ovoj vrednosti mešavine K2. Kada se ove vrednosti uporede sa vrednostima koje su dobijene za pojedinačne voćne sokove, može se zaključiti da su one bile nešto više od vrednosti dobijenih za sokove jagode i crvene ribizle. Ostali ispitivani sokovi (maline, kupine, višnje, borovnice i crne ribizle) imali su značajno viši sadržaj ukupnih monomernih antocijana (tabela 7).



Najviši sadržaj ukupnih flavonoida pokazao je ekstrakt trave ive i to čak 29.787,50 mg QUE/l, zatim ekstrakt matičnjaka 28.220,83 mg QUE/l, dok je najniži sadržaj imao ekstrakt rastavića od 1.676,25 mg QUE/l. Najviši sadržaj ukupnih flavonoida od dobijenih kombinacija ekstrakata imala je kombinacija K3 sa sadržajem od 15.298,33 mg QUE/l. Te vrednosti su bile 3 do 4 puta više od najvišeg sadržaja flavonoida koji je dobijen u sokovima crne ribizle i borovnice (tabela 8). Kombinacija K3 sadrži u sebi i ekstrakt trave ive, koji je verovatno doprineo ovoj vrednosti.

Sadržaj ukupnih polifenola kretao se od 1.034,10 mg GAE/l, kod ekstrakta rastavića, do 24.415,30 mg GAE/l, kod ekstrakta trave ive. Od dobijenih kombinacija sadržaj ukupnih polifenola najviši je bio, takođe u kombinaciji K3 u količini od 9.800,00 mg GAE/l, što je oko 1,5 puta viša vrednost od enzimiranog soka crne ribizle (tabela 9).

### 5.1.10. Antioksidativni kapacitet proizvedenih ekstrakata

Antioksidativni kapacitet biljnih ekstrakata prikazana je u tabeli 29 .

Tabela 29. Vrednosti antioksidativnog kapaciteta, DPPH metoda (mmol TE/l), DPPH metoda (IC50 (µl/ml)) i FRAP metoda u uzorcima biljnih ekstrakata

Biljni ekstrakti	Antioksidativni kapacitet		
	DPPH metoda (mmol T/l)	DPPH metoda (IC50 (µl/ml))	FRAP metoda (mmol Fe (II)/l)
Zova	64,36 ± 0,24	3,30 ± 0, 03	91,71 ± 0,76
Kamilica	31,86 ± 0,12	6,61 ± 0, 03	76,59 ± 0, 90
Šipak	117,36 ± 0,25	1,63 ± 0,02	263,82 ± 2,36
Aronija	104,27 ± 0,37	2,03 ± 0,01	131,53 ± 1,20
Matičnjak	110,40 ± 0,50	1,76 ± 0,01	223,31 ± 0,64
Ehinacea	36,80 ± 0,23	5,78 ± 0,02	35,13 ± 0,08
Trava iva	205,98 ± 0,30	0,89 ± 0,01	240,18 ± 1,92
Kopriva	10,98 ± 0,01	17,04 ± 0,06	24,73 ± 0,09
Grcko seme	8,92 ± 0,02	24,14 ± 0,06	18,13 ± 0,05
Majkina dušica	67,55 ± 0,21	2,90 ± 0,02	127,39 ± 0,00
Heljda	56,99 ± 0,20	3,36 ± 0,00	73,99 ± 0,50
Srdačica	103,54 ± 0,23	1,80 ± 0,00	120,90 ± 0,43
Rastavić	8,19 ± 0,07	34,95 ± 0,08	11,74 ± 0,08
Japanski bagrem	88,17 ± 0,31	2,48 ± 0,00	134,64 ± 0,39
K1	44,76 ± 0,22	4,21 ± 0,02	110,98 ± 0,19
K2	39,87 ± 0,25	5,15 ± 0,03	103,76 ± 0, 96
K3	70,87 ± 0,31	3,50 ± 0,01	106,98 ± 0,96
Vitamin C	/	42,03 ± 0,01	/

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Metanolni ekstrakti matičnjaka i koprive u istraživanju Pourmorad et al., (2006) dali su znatno više vrednosti sadržaja ukupnih flavonoida i polifenola, kao i antioksidativnog kapaciteta, međutim zbog toksičnosti metanola, u ovom radu je kao ekstragens korišćen vodeno-etanolni rastvor, kako bi se ekstrakti mogli kasnije koristiti za proizvodnju prehrambenih proizvoda. Dobijene vrednosti antioksidativnog potencijala za kombinacije, K1, K2 i K3 su bile u rangu sa najvišim vrednostima antioksidativnog potencijala koje su dobijene za ispitivane voćne sokove, i to uporedive sa najvišom vrednošću, koja je dobijena za enzimirani sok crne ribizle (tabele 10, 11 i 12).

Generalno se može zaključiti da su ispitivani ekstrakti lekovitog i aromatičnog bilja imali izuzetno visoke vrednosti ukupnih monomernih antocijana, ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola, kao i antioksidativnog kapaciteta, što ukazuje na to da se oni mogu uspešno koristiti u prehrambenoj industriji (u proizvodnji alkoholnih i bezalkoholnih pića, pekarskoj i konditorskoj industriji) kao aditivi koji mogu značajno povećati antioksidativni potencijal gotovih proizvoda.

#### **5.1.11. LC/MS analiza fenolnih jedinjenja u proizvedenim ekstraktima**

U ekstraktima lekovitog i aromatičnog bilja određivana je kvalitativna i kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja, metodom tečne hromatografije, a rezultati analize prikazani su u tabelama 30 do 34.

Identifikovana i kvantifikovana fenolna jedinjenja su fenolne kiseline (galna kiselina, elaginska kiselina, protokatehinska kiselina, *p*-hidroksibenzoeva kiselina, hlorogenska kiselina, *p*-kumarinska kiselina, ferulinska kiselina i kofeinska kiselina) i flavonoidi (katehin, epikatehin, rutin, kvercetin, miricetin i kempferol).

Miricetin nije detektovan ni u jednom ekstraktu lekovitog i aromatičnog bilja.

U kombinacijama ekstrakata K1, K2 i K3 pronađene su visoke koncentracije protokatehinske kiseline (163,00 mg/l, 189,12 mg/l i 189,02 mg/l, respektivno), dok su *p*-hidroksibenzoeva i galna kiselina u ovim kombinacijama ekstrakata bile prisutne u niskim koncentracijama (tabela 30).

Tabela 30. Sadržaj *p*-hidroksibenzojeve, protokatehinske i galne kiseline u biljnim ekstraktima

Ekstrakti bilja	<i>p</i> -Hidroksibenzojeva kiselina (mg/l)	Protokatehinska kiselina (mg/l)	Galna kiselina (mg/l)
Zova	11,61±0,09	57,25±0,54	13,39±0,18
Kamilica	3,99±0,03	15,17±0,49	0,78±0,07
Šipak	1,45±0,02	21,54±0,17	25,22±0,17
Aronija	2,26±0,02	199,00±1,78	1,97±0,02
Matičnjak	6,48±0,05	31,69±0,31	4,48±0,05
Ehinacea	2,11±0,02	6,35±0,03	0,62±0,01
Trava iva	13,85±0,12	14,44±0,10	0,63±0,02
Kopriva	4,19±0,04	11,29±0,11	/
Grcko seme	3,53±0,04	1,14±0,02	/
Majkina dušica	5,93±3,44	15,61±0,11	2,26±0,02
Heljda	7,49±0,06	72,19±0,62	52,14±0,47
Srdačica	7,28±0,04	14,19±0,12	1,09±0,02
Rastavić	3,62±0,04	5,52±0,06	/
Japanski bagrem	18,66±0,19	291,60±1,85	2,26±0,02
K1	3,16±0,02	163,00±1,95	11,46±0,09
K2	8,26±0,04	189,12±1,11	16,16±0,05
K3	2,84±0,04	189,02±1,37	9,12±0,09

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Tabela 31. Sadržaj elaginske, *p*-kumarinske i kofeinske kiseline u biljnim ekstraktima

Ekstrakti bilja	Elaginska kiselina (mg/l)	<i>p</i> -Kumarinska kiselina (mg/l)	Kofeinska kiselina (mg/l)
Zova	0,50±0,05	25,54±0,21	49,52±0,41
Kamilica	0,80±0,02	3,82±0,03	9,76±0,06
Šipak	98,63±0,42	3,56±0,04	/
Aronija	1,56±0,02	3,02±0,03	9,07±0,09
Matičnjak	/	4,93±0,04	94,32±0,88
Ehinacea	2,35±0,02	8,99±0,08	27,85±0,24
Trava iva	1,68±0,02	7,01±0,05	15,67±0,11
Kopriva	/	4,41±0,04	4,57±0,05
Grcko seme	/	6,13±0,04	/
Majkina dušica	0,67±0,01	5,99±0,06	98,50±0,83
Heljda	5,46±0,04	20,36±0,12	39,66±0,35
Srdačica	/	20,86±0,21	58,00±0,47
Rastavić	/	3,77±0,03	5,18±0,04
Japanski bagrem	/	3,52±0,03	1,04±0,01
K1	30,65±0,90	9,02±0,07	58,61±0,74
K2	17,27±0,11	13,99±0,95	93,10±1,19
K3	26,02±1,12	7,09±0,05	28,87±1,08

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Estri *p*-hidroksibenzojeve kiseline se koriste kao konzervansi u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji (Aalto et al., 1953). Značajne količine ove kiseline detektovane u ekstraktima japanskog bagrema, trave ive, zove i K2 mešavini pokazuju da bi ovi ekstrakti mogli imati potencijalni konzervišući efekat.

Visoke vrednosti sadržaja kofeinske kiseline pronađene su u kombinacijama ekstrakata, a potvrđeno je i prisustvo elaginske i *p*-kumarinske kiseline u ovim kombinacijama (tabela 31).

K1 mešavina posedovala je visok sadržaj ferulinske kiseline, dok je hlorogenske kiseline bilo u velikim količinama u sve tri mešavine ekstrakata (Tabela 32).

Tabela 32. Sadržaj ferulinske i hlorogenske kiseline u biljnim ekstraktima

Ekstrakti bilja	Ferulinska kiselina (mg/l)	Hlorogenska kiselina (mg/l)
Zova	7,59±0,06	1915,87±8,16
Kamilica	92,56±0,72	1374,47±8,91
Šipak	/	2,16±0,03
Aronija	1,35±0,02	758,67±7,21
Matičnjak	2,92±0,02	36,46±0,31
Ehinacea	2,85±0,03	17,41±0,13
Trava iva	/	90,74±0,88
Kopriva	/	290,60±2,10
Grcko seme	/	/
Majkina dušica	3,40±0,03	54,82±0,52
Heljda	6,24±0,05	206,40±2,15
Srdačica	8,54±0,06	211,10±1,91
Rastavić	5,43±0,04	34,55±0,33
Japanski bagrem	1,04±0,01	/
K1	594,16±3,58	2157,28±14,06
K2	16,71±0,09	921,00±6,45
K3	9,40±0,09	1556,64±12,25

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Izuzetno visoke koncentracije kvercetina pronađene su u K2 kombinaciji, ali i u K1 i K3 kombinacijama, dok u ovim uzorcima kempferol nije pronađen u značajnoj količini (tabela 33).

Najviša koncentracija fenolnog jedinjenja (rutina) u eksperimentalnim uzorcima pronađena je u kombinaciji K2, sa vrednošću od 25027,88 mg/l (tabela 33).

Tabela 33. Sadržaj kempferola, kvercetina i rutina u biljnim ekstraktima

Ekstrakti bilja	Kempferol (mg/l)	Kvercetin (mg/l)	Rutin (mg/l)
Zova	3,28±0,03	51,08±0,50	232,83±2,41
Kamilica	0,58±0,05	15,41±0,11	3,05±0,02
Šipak	0,21±0,01	14,92±0,08	1,97±0,03
Aronija	0,28±0,02	43,21±0,40	141,08±1,37
Matičnjak	0,10±0,00	/	41,04±0,41
Ehinacea	0,12±0,01	3,99±0,03	108,78±1,02
Trava iva	0,12±0,01	4,96±0,04	302,20±2,85
Kopriva	/	/	192,21±1,80
Grcko seme	/	/	/
Majkina dušica	0,42±0,01	/	5,32±0,05
Heljda	1,74±0,02	122,87±0,96	4038,28±36,16
Srdačica	0,28±0,01	3,42±0,03	544,42±4,57
Rastavić	0,82±0,01	/	7,63±0,06
Japanski bagrem	105,60±0,92	1583,80±12,55	207,19±2,11
K1	0,51±0,04	836,32±5,12	1673,58±12,60
K2	7,38±0,07	2102,26±14,94	25027,88±127,36
K3	0,17±0,01	779,66±6,10	861,66±6,87

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Tabela 34. Sadržaj katehina i epikatehina u biljnim ekstraktima

Ekstrakti bilja	Katehin (mg/l)	Epikatehin (mg/l)
Zova	/	4,75±0,04
Kamilica	/	/
Šipak	85,57±0,68	1,89±0,02
Aronija	/	5,71±0,05
Matičnjak	/	/
Ehinacea	/	/
Trava iva	/	/
Kopriva	/	/
Grcko seme	/	/
Majkina dušica	/	/
Heljda	4,12±0,03	33,06±0,22
Srdačica	/	/
Rastavić	/	/
Japanski bagrem	/	1,44±0,02
K1	301,71±1,63	/
K2	168,22±1,06	/
K3	282,30±1,71	/

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Takođe i u kombinacijama K1 i K3 bile su prisutne visoke koncentracije rutina. Rutin u K2 kombinaciji poticao je od heljde, koja je takođe sadržala izuzetno visoku koncentraciju ovog flavonskog glikozida.

Visoke koncentracije katehina detektovane su u mešavinama K1, K2 i K3, dok epikatehin nije detektovan ni u jednoj mešavini ekstrakata (tabela 34). Dakle, ekstrakti koji su korišćeni za dobijanje kombinacija sa ciljanim fiziološkim dejstvima (K1, K2 i K3) pokazali su visok sadržaj fenolnih jedinjenja. Sadržaj fenolnih jedinjenja ovih kombinacija, kao i svakog proizvedenog biljnog ekstrakta od kojih su one dobijene, prikazan je u prilogu 1.

Ekstrakti šipurka, aronije i koprive bili su prisutni u svim mešavinama, pa su fenolna jedinjenja prisutna u ovim ekstraktima značajno uticala na fenolni sastav mešavina ekstrakata, dok je ekstrakt matičnjaka korišćen u kombinacijama K1 i K2.

Ekstrakt ploda **šipurka** je bio najbogatiji u sadržaju elaginske kiseline i katehina (98,63 mg/l i 85,57 mg/l, respektivno), ali se odlikovao i visokim sadržajem galne i protokatehinske kiseline i kvercetina (slika 1.8), a u ranijim istraživanjima je i pokazano da visoka antioksidativnost ekstrakta šipurka potiče od fitonutrijenata koje sadrži (Gao et al., 2000; Su et al., 2007). Dominantno fenolno jedinjenje u ekstraktu ploda **aronije** bila je hlorogenska kiselina sa sadržajem od 758,67 mg/l, ali se ovaj ekstrakt isticao i po izuzetno visokom sadržaju protokatehinske kiseline i rutina, kao i kvercetina (slika 1.8). Ciocoiu et al., (2013) su u ekstraktu aronije detektovali flavonoide: rutin, hiperozid i kvercetin, cijanidin-3-*O*-glukozid i hlorogensku kiselinu, koji pokazuju antioksidativno dejstvo. U aroniji su, takođe, u drugim istraživanjima pronađeni antocijani, proantocijanidini, flavonoli, flavan-3-oli, hlorogenska i neohlorogenska kiselina (Kulling i Rawel, 2008; Denev et al., 2010). Ekstrakt lista **koprive** obilovao je sadržajem hlorogenske kiseline (290,60 mg/l) i rutina (192,21 mg/l) (slika 1.8). Komes et al., 2010 su utvrdili da vreme ekstrakcije i hidroliza značajno utiču na sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativni kapacitet šest tradicionalno korišćenih lekovitih biljaka (matičnjaka, majkine dušice, koprive, lista kupine, lavande i masline). Sadržaj fenolnih kiselina (rozmarinske, hlorogenske, kofeinske, *p*-kumarinske, ferulinske i *t*-cinaminske kiseline), flavan-3-ola, tanina u ovim ekstraktima značajno se razlikovao u zavisnosti od variranih parametara.

Ekstrakt herbe **matičnjaka**, je bio najbogatiji u sadržaju kofeinske kiseline u količini od 94,32 mg/l, ali je detektovan i visok sadržaj rutina, hlorogenske i protokatehinske kiseline (slika 1.8). U listu matičnjaka su, takođe, kao neisparljive komponente pronađeni derivati hidroksicinaminske kiseline (rozmarinska kiselina, glikozidno povezana hlorogenska i kafena kiselina, kumarinska kiselina) i etarsko ulje (World Health Organization, 2001). Flavonoidi, fenolne kiseline i terpeni doprinose antioksidativnosti matičnjaka (Kennedy et al., 2002; Bolkent et al., 2005). Matičnjak pozitivno deluje na intelektualni i fizički umor, poboljšava koncentraciju, pamćenje i usredređenost (Kennedy et al., 2002). Ovaj ekstrakt je u određenom odnosu dodavan u mešavine ekstrakata K1 i K2.

Pored šipurka, aronije, koprive i matičnjaka, u sastav mešavine ekstrakta K1 ulazili su još i ekstrakti zove, kamilice i rastavića. U ekstraktu cveta **zove** identifikovan je i kvantifikovan izuzetno visok sadržaj hlorogenske kiseline, od čak 1915,87 mg/l; ovaj ekstrakt je obilovao i sadržajem rutina od 232,83 mg/l, a pronađene su i visoke vrednosti kvercetina i protokatehinske, kofeinske i *p*-kumarinske, kao i galne i *p*-hidroksibenzoeve kiseline (slika 1.9). U ranijim istraživanjima u zovi je detektovan flavonski heterozid (rutozid ili rutin) (Sarić, 1989). Cinaminske kiseline i flavonolni glikozidi su prikazani kao glavna fenolna jedinjenja pronađena u zovi i ekstraktu zove (neohlorogenska kiselina, hlorogenska kiselina, rutin, glikozidi kvercetina, kempferola, izoramnetina) (Lee i Finn, 2007; Christensen et al., 2007). Ekstrakt cveta **kamilice** takođe je obilovao izrazito visokim sadržajem hlorogenske kiseline od čak 1374,47 mg/l, ferulinske i protokatehinske kiseline i kvercetina (slika 1.9). U ranijim istraživanjima u ekstraktu kamilice pronađena su fenolnih jedinjenja koja značajno doprinose njegovoj antioksidativnosti (Atoui et al., 2005; Roby et al., 2013a). Ekstrakt herbe **rastavića** bio je bogat sadržajem hlorogenske kiseline u količini od 34,55 mg/l (slika 1.9). Vodeni ekstrakt rastavića pokazao je veoma nizak antioksidativni kapacitet u kojem su flavonoidi otkriveni samo u tragovima. U rastaviću su od flavonoida pronađeni izokvercetin, kempferol 3-O-glukozid, apigenin 5-O-glukozid (Mimica-Dukić et al., 2008). **Kombinacija ekstrakata K1** je sadržala čak 2157,71 mg/l hlorogenske kiseline, čak 1673,58 mg/l rutina, 836,32 mg/l kvercetina, 594,16 mg/l ferulinske kiseline, katehina, protokatehinske, kofeinske i elaginske kiseline (slika 1.12). Zanimljivo je da se nijedan sastojak ove mešavine, posmatran pojedinačno, nije

isticao ovako visokim sadržajem kvercetina. Takođe, i sadržaj ostalih pronađenih fenolnih jedinjenja je bio značajno viši u kombinaciji K1, u odnosu na njene pojedinačne sastojke.

Sastojci kombinacije ekstrakata K2, su pored ekstrakat šipurka, aronije, koprive i matičnjaka, bili još i ekstrakti heljde, srdačice i sofore. Od fenolnih jedinjenja koja su identifikovana u sokovima i ekstraktima, najveći sadržaj rutina bio je u ekstraktu herbe **heljde**, koji je iznosio 4038,28 mg/l. U ovom ekstraktu je zabeležen i izuzetno visok sadržaj hlorogenske kiseline – 206,40 mg/l, kvercetina, kao i protokatehinske, galne, kofeinske i *p*-kumarinske kiseline i epikatehina (slika 1.10). Hinneburg et al., (2006), došli su do zaključka da ekstrakt heljde ima znatno bolju antioksidativnost od antioksidativnosti čistog rutina, glavne komponente ekstrakta heljde. Oni su pored rutina, identifikovali i hlorogensku kiselinu, što je u saglasnosti sa dobijenim rezultatima u ovim istraživanjima. U heljdi je i ranije detektovan rutin u svežem listu, cvetu, stabljici, dok u plodu i semenu nije pronađen, a u osušenoj herbi je kvantifikovano do 4% rutina (Sarić, 1989). U ekstraktu herbe **srdačice** dominantno jedinjenje bio je rutin sa sadržajem od 544,42 mg/l, zatim hlorogenska, kofeinska kiselina, *p*-kumarinska i protokatehinska kiselina (slika 1.10). Armatu et al., (2010) su prikazali visok sadržaj kofeinske i rozmarinske kiseline kao i visoku antioksidativnost kod matičnjaka i majkine dušice, dok kod srdačice nisu dobili reprezentativne vrednosti. Ekstrakt cveta **japanskog bagrema** isticao se izuzetnom količinom kvercetina od 1583,80 mg/l, dok su u visokim količinama bili prisutni i protokatehinska kiselina (291,60 mg/l) i rutin (207,19 mg/l), zatim kemferol, kao i *p*-hidroksibenzoeva kiselina (slika 1.10). U cvetu japanskog bagrema potvrđeno je prisustvo flavonskih heterozida (rutina) i to 10-20% u cvetu, a do 5% u lišću i mladim granama; kao i flavonskih aglikona kvercetina i kemferola (u plodu) (Tucakov, 1996). Cai et al., (2004) su pokazali da japanski bagrem sadrži izuzetno visok sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativni kapacitet, a dominantna jedinjenja su flavonoli (rutin, kvercetin i kemferol). U **kombinaciji ekstrakata K2**, dobijen je izuzetno visok sadržaj rutina od neverovatnih 25.027,88 mg/l, 2102,26 mg/l kvercetina, 921,00 mg/l hlorogenske kiseline, protokatehinske kiseline, katehina, kofeinske, elaginske, ferulinske, galne i *p*-kumarinske kiseline (slika 1.12). Rutin (kvercetin-3-rutinozid) kao jedno od glavnih fenolnih jedinjenja u voću (Seeram et al., 2006), pronađen je u izuzetno visokoj koncentraciji i u herbi heljde, ali



se može zaključiti da je dobijena koncentracija rutina u K2 kombinaciji bila šestostruko viša od koncentracije pronađene u herbi heljde. Pored toga, kvercetin je pokazao visoku vrednost u ekstraktu cveta japanskog bagrema, a hlorogenska kiselina u ekstraktu ploda aronije.

Sastojci mešavine ekstrakata K3, pored šipurka, aronije i koprive, su i ekstrakti ehinacee, trave ive, grčkog semena i majkine dušice. Rutin, u količini od 108,78 mg/l, dominirao je u ekstraktu herbe **ehinacee**, koji je takođe bio bogat i sadržajem kofeinske i hlorogenske kiseline (slika 1.11). Glowniak et al. (1996) i Pellati et al. (2004) su takođe u ekstraktima herbe ehinacee pronašli hlorogensku i kofeinsku kiselinu, kao i druge fenolne kiseline. U ekstraktu herbe **trave ive** dominirao je rutin, kojeg je bilo čak 302,20 mg/l, takođe je zabeležen visok sadržaj hlorogenske, kofeinske, protokatehinske i *p*-hidroksibenzoeve kiseline (slika 1.11). Različit sadržaj fenolnih kiselina i to derivata benzoeve kiseline (galne, protokatehinske, gentizinska, vanilinske i siringinske kiseline) i cinaminske kiseline (hlorogenske, kofeinska, *p*-kumarinska, ferulinske i 3,5-dimetoksi-4-hidroksicinaminske kiseline), je dobijen iz ekstrakata trave ive ekstrahovanih različitim ekstragensima (Tumbas et al., 2004). U ekstraktu **grčkog semena** većina jedinjenja nije identifikovana. Pronađene su male količine *p*-kumarinske kiseline (slika 1.11). Król-Kogus et al., (2014) su istraživali sastav C-glikozil-flavona grčkog semena i tom prilikom je čak 18 flavona izdvojeno i identifikovano u njegovom metanolnom ekstraktu. Ekstrakt herbe **majkine dušice** bio je najbogatiji kofeinskom kiselinom u količini od 98,50 mg/l, ali obilovao je i sadržajem hlorogenske i protokatehinske kiseline (slika 1.11). Kofeinska kiselina, koja se odlikuje karakterističnim aromatičnim mirisom i izrazito gorkim ukusom, detektovana je i ranije u ovoj biljci (Marin et al., 2003; Boros et al., 2010). Majkina dušica sadrži fenolna jedinjenja, sa pozitivnim efektima na zdravlje, i to fenolne kiseline (*p*-kumarinsku, kofeinsku, ferulinsku, ruzmarinsku, hlorogensku kiselinu), flavonole (rutin, kvercetin), flavanole (katehin, epikatehin), flavanone (naringenin, hesperidin, eriodiktiol), flavone (apigenin i luteolin, kao i njihove glukozide) (Marin et al., 2003; Boros et al., 2010). Roby et al., (2013) su, takođe, pokazali prisustvo mnogih fenolnih kiselina i flavonoida u ekstraktu majkine dušice. U vodenom ekstraktu majkine dušice pronađene su fenolne kiseline, flavonoli i flavon-3-oli (Boros et al., 2010). Metanolni ekstrakt majkine dušice pokazao je antimikrobno, antifungalno, antibakterijsko i antikancerogeno dejstvo

(Ateeq-ur-Rehman et al., 2009). U mešavini **ekstrakata K3** hlorogenska kiselina je detektovana u količini od 1556,64 mg/l kao dominantna, a isticao se i izuzetno visok sadržaj rutina - 861,66 mg/l, kvercetina – 779,66 mg/l, katehina – 282,30 mg/l, protokatehinske, kofeinske i elaginske kiseline (slika 1.12). Hlorogenska kiselina pronađena je i u ekstraktima aronije i koprive, u kojima je pronađen i rutin, ali ne u ovako visokoj koncentraciji, kao u ekstraktu K3.

Generalno, može se zaključiti da su kao dominantna jedinjenja u biljnim ekstraktima bile hlorogenska, protokatehinska, kofeinska i elaginska kiselina, rutin, katehin i kvercetin, dok su u kombinacijama ekstrakata K1, K2 i K3 najzastupljenija fenolna jedinjenja bila rutin, hlorogenska kiselina, kvercetin, ferulinska kiselina i katehin.

## **5.2. PROIZVODNJA I KARAKTERIZACIJA FUNKCIONALNIH BEZALKOHOLNIH PIĆA**

### **5.2.1. Proizvodnja finalnih bezalkoholnih pića**

#### **5.2.1.1. Kombinacije voćnih sokova kao osnove za finalne funkcionalne proizvode**

U daljem radu je su proizvedene 3 različite mešavine voćnih sokova od jagodastog i koštičavog voća voća (D1, D2 i D3) dobijene primenom tri različita tehnološka postupka (D kombinacije), u koje su dodavani potencijalno funkcionalni biljni ekstrakti (K1, K2 i K3).

Među ranije već proizvedenim voćnim sokovima od pojedinačnog jagodastog i koštičavog voća (jagode, maline, kupine, višnje, borovnice, crvene i crne ribizle) primenom različitih tretmana, najviše vrednosti antioksidativnog potencijala i sadržaja biološki aktivnih komponenti pokazao je **sok crne ribizle**, zbog čega je on i primenjivan u većem procentu pri formulaciji voćnih mešavina (D kombinacija). Sa senzornog stanovišta, sok crne ribizle se odlikovao veoma kiselim ukusom, kao i jakim i oporim mirisom, koji je nadvladavao ukus. Ova nepoželjna svojstva korigovana su upravo proizvodnjom različitih bezalkoholnih pića, njegovim mešanjem sa drugim voćnim sokovima.

Kada su sumirana senzorna svojstva ostalih pojedinačnih voćnih sokova (jagode, maline, kupine, višnje, borovnice i crvene ribizle) od strane desetočlane ocenjivačke komisije, može se reći da su oni okarakterisani kao: aromatični (jagoda, malina, višnja),

neutralnog mirisa (crvena ribizla, borovnica), trpki-opori (kupina), slatki (jagoda), dok su u sokove kiselog ukusa svrstani sokovi maline, višnje, crvena ribizle i crne ribizle. Ovi senzorni atributi su uzimani u obzir prilikom formulacije mešavina voćnih sokova, kako bi se dobile tri različite kombinacije, prijatnih senzornih svojstava sa potencijalno povoljnim efektom na zdravlje potrošača.

Kod sve tri kombinacije voćnih sokova (D1, D2 i D3), po količini su bili najzastupljeniji voćni sokovi crne ribizle i borovnice, što je razumljivo, jer su za ove sokove dobijene najviše vrednosti u sadržaju biološki aktivnih komponenti. Visok sadržaj prirodnih antioksidanasa prisutnih u kupini (fenolna jedinjenja, vitamin C) u značajnoj meri može doprineti nutritivnoj i lekovitoj vrednosti (Cho et al., 2004). Zahvaljujući značajnoj hranljivoj, profilaktičnoj, dijetetskoj i zaštitnoj vrednosti plodova kupine (Veličković, 2000), ovaj voćni sok je odabran da bude u sastavu finalnih bezalkoholnih pića koja bi imala potencijalno pozitivan uticaj na ubrzanje metabolizma, što bi kao posledicu imalo smanjivanje telesne težine i zaštitu kardiovaskularnog sistema (“Fit” i “Kardio”).

Poznato je da u plodu kupine dominiraju antocijanidini, elaginska kiselina, flavonoli i flavan-3-oli. Prisustvo elagitanina u plodovima kupine i drugog jagodastog voća, čija koncentracija opada sa sazrevanjem ploda, doprinosi stvaranju trpkog ukusa. Sellapan et al. (2002) potvrdili su prisustvo fenolnih kiselina (galne, *p*-hidrokibenzoeve, kofeinske, ferulinske i elaginske kiseline) i flavonoida (katehin, epikatehin, miricetin, kvercetin i kempferol) u plodovima borovnice i kupine.

Visok nivo mikronutrijenata i fitohemijskih sastojaka u plodovima jagode, pored izuzetne arome, doprineo je da voćnih sok od ovog voća bude zastupljen u dve mešavine voćnih sokova (D1 i D3). Tulipani et al. (2008) su potvrdili izuzetan nutritivni potencijal plodova jagode zasnovan na visokom sadržaju fenolnih jedinjenja.

Generalno, voćni sokovi proizvedeni od ispitivanog jagodastog i koštičavog voća (jagode, maline, kupine, višnje, borovnice, crvene i crne ribizle) mogu imati potencijalno protektivno dejstvo na zdravlje ljudi, zahvaljujući dobijenim visokim vrednostima za sadržaj bioaktivnih jedinjenja (ukupnih polifenola, flavonoida, monomernih antocijana, kao i visok sadržaj drugih fenolnih jedinjenja), kao i visokom antioksidativnom potencijalu.

Navodi se da se najvažnije zdravstvene koristi mogu pripisati visokom sadržaju fenolnih jedinjenja i vitaminu C, koji pomažu njihovom antioksidativnom, antikancerogenom, antimutagenom, antimikrobnom, antiinflamatornom i neuroprotektivnom delovanju (Nile i Park, 2014).

Za svaku kombinaciju aromatičnog i lekovitog bilja (K1, K2 i K3) je proizvedena i odgovarajuća senzorno kompatibilna kombinacija proizvedenih voćnih sokova, kako bi se kasnije njihovim mešanjem dobila tri različita finalna proizvoda, sa različitim, ne samo potencijalnim funkcionalnim već i senzornim svojstvima.

Kombinacije voćnih sokova od crvenog voća, koje su predstavljale osnove za finalna bezalkoholna pića, odabrane od strane ocenjivačke komisije na bazi njihovih senzornih svojstava, bile su sledeće:

1. Kombinacija D1 – Mešavina voćnih sokova: 29% crna ribizla, 29% borovnica, 14 % jagoda, 14% crvena ribizla, 14% kupina (osnova za bezalkoholno piće “Fit”),
2. Kombinacija D2 - Mešavina voćnih sokova: 29% crna ribizla, 36% borovnica, 21% malina, 7% kupina, 7% višnja (osnova za bezalkoholno piće “Kardio”),
3. Kombinacija D3- Mešavina voćnih sokova: 43% crna ribizla, 29% borovnica, 21% višnja, 7% jagoda (osnova za bezalkoholno piće “Imuno”).

Svaka od ove tri kombinacije proizvedena je na tri različita postupka proizvodnje:

- od sokova dobijenih ceđenjem kljuka na sobnoj temperatura, bez primene enzimskog tretmana (hladno ceđenih sokova) (I postupak),
- od sokova dobijenih ceđenjem termički tretiranog i enzimiranog kljuka na sobnoj temperaturi, bez pasterizacije (enzimiranih sokova) (II postupak) i
- od sokova dobijenih ceđenjem termički tretiranog i enzimiranog kljuka na sobnoj temperaturi, i pasterizacijom (pasterizovanih sokova) (III postupak).

Na taj način dobilo se 9 uzoraka D kombinacija.

Desetočlana ocenjivačka komisija je došla do zaključka da je mešanje voćnih sokova u prikazanim odnosima, bilo senzorno najprihvatljivije, s obzirom na to, da su nosioci mešavina bili voćni sokovi, pre svega sok crne ribizle, kiselog ukusa i oporog mirisa i sok borovnice koji je bio kiselkastog ukusa i neutralnog mirisa. Poznato je da plodovi borovnice imaju veći odnos šećera i kiselina, tj. veći stepen slasti, u odnosu na plodove maline i kupine (Stajčić et al., 2012).

Primenom aromatičnih sokova, visokog antioksidativnog kapaciteta i sa visokim sadržajem biološki aktivnih komponenti (sokovi maline i višnje) delimično je zamaskiran opor miris crne ribizle, pri čemu su ovi sokovi takođe doprineli i dobijanju prijatne kiselosti kod proizvedenih mešavina. Voćni sok kupine, trpkog i oporog ukusa dao je punoću mešavinama D1 i D2, dok se sok crvene ribizle, zbog prijatnog i osvežavajućeg ukusa i neutralnog mirisa najbolje uklopio u senzorne karakteristike kombinacije D1. Sok crvene ribizle je jedino dodavan u D1 kombinaciji, zbog svoje niske kalorijske vrednosti, budući da je ova kombinacija predstavljala osnovu za proizvodnju finalnog napitka sa pozitivnim funkcionalnim svojstvom za održavanje vitke linije. Takođe, radi svoje aromatičnosti, voćni sok jagode, sa neutralnim do slatkim ukusom je dodavan u kombinacije D1 i D3, kako bi doprineo harmoničnosti senzornih svojstava.

Za kombinaciju D1, odabrana je mešavina osvežavajućih sokova od jagodastog i koštičavog voća sa najaromatičnijim svojstvima (crna ribizla, borovnica, kupina, jagoda i crvena ribizla), kako bi se u finalnom napitku postigla senzorna svojstva koja bi bila prihvatljiva većem broju potencijalnih potrošača, a koja bi bila blagog ukusa. U tom smislu se u ovoj kombinaciji išlo i na smanjivanje procenta izrazito funkcionalnih, ali na ukusu manje prihvatljivih sokova crne ribizle i borovnice.

Kombinacija sokova koja je upotrebljena da bude osnova za proizvodnju bezalkoholnog pića D2 (koja predstavlja osnovu za finalno piće "kardio") pored sokova crne ribizle i borovnice (sa izrazito visokim antioksidativnim potencijalom), sadržala je još i sokove maline, kupine i višnje, koji su se takođe odlikovali visokim vrednostima bioaktivnih sastojaka, ali i prijatnim senzornim svojstvima.

Za proizvodnju bezalkoholnog pića D3 odabrana je kombinacija sokova koja je u osnovi sadržavala takođe visok procenat sokova crne ribizle i borovnice (43% crne ribizle i 29% borovnice), bez obzira na njihova senzorna svojstva, jer je cilj bio da se upotrebe sokovi sa najsnažnijim antioksidativnim potencijalom, imajući u vidu da bi u slučaju konzumiranja ovakvog napitka, potrošači imali veću preferenciju prema potencijalno pozitivnom zdravstvenom efektu koje bi ono sa sobom nosilo, nego prema njegovoj senzornoj prihvatljivosti. Sokovi maline, kupine i višnje, zbog aromatičnosti i osvežavajućeg ukusa uklopili su se u senzorne karakteristike ove kombinacije.

Međutim, za dobijanje optimalnog ukusa i mirisa finalnih kombinacija funkcionalnih bezalkoholnih pića, bilo je neophodno korigovati prirodnu kiselost jagodastog i koštičavog voća, zbog koje bi se ovi napici mogli konzumirati u malim dozama. Kiselost dobijenih voćnih mešavina (D kombinacija) je korigovana na potpuno prirodan način, dodatkom soka jabuke, koji je dobijen iz koncentrisanog voćnog soka, razblaživanjem do suve materije propisane Pravilnikom (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011).

#### 5.2.1.2. Kombinacije voćnih sokova sa voćnim sokom jabuke

Sledeći korak u proizvodnji bezalkoholnog pića je bio da se za dobijene mešavine voćnih sokova (D1, D2 i D3) definiše potrebna količina soka jabuke, koja ne bi značajno uticala na smanjenje funkcionalnih svojstva, a koja bi doprinela dobijanju proizvoda, značajno prihvatljivijih senzornih osobina.

Primenjujući sok od jabuke pre svega se uticalo na poboljšanje slasti kod dobijenih mešavina voćnih sokova od jagodastog i koštičavog voća, mada je na ovaj način došlo i do smanjenja svih ispitivanih parametara koji doprinose antioksidativnom potencijalu dobijenih proizvoda, što je bilo u saglasnosti sa rezultatima koji su dobijeni u istraživanjima Rajić et al., (2012a), Rajić et al., (2012b), Rajić et al., (2014). Posle višebrojnih serija eksperimentalnih proba, od većeg ka manjem udelu voćnog soka jabuke, konačno se došlo do optimalnog udela voćnog soka jabuke, koji je, u svim navedenim mešavinama, iznosio 30%. Ovaj sadržaj voćnog soka jabuke značajno je poboljšao senzorna svojstva dobijenih finalnih napitaka.

Odgovarajuće kombinacije voćnih sokova (D1, D2 i D3) pomešane sa voćnim sokom jabuke dale su nove kombinacije, označene kao: JD1, JD2 i JD3:

1. **JD1** - 70% mešavine voćnih sokova D1 i 30 % soka jabuke - osnova za finalni napitak "Fit",
2. **JD2** - 70% mešavine voćnih sokova D2 i 30 % soka jabuke - osnova za finalni napitak "Kardio"
3. **JD3** - 70 % mešavine voćnih sokova D3 i 30 % soka jabuke - osnova za finalni napitak "Imuno".

### 5.2.1.3. Hemijska analiza voćnog soka jabuke

Voćni sok jabuke proizveden iz koncentrisanog voćnog soka, razblaživanjem do 11,2% suve materije, propisane Pravilnikom (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011).

Kako bi se okarakterisao proizvedeni voćni sok jabuke, urađene su sledeće analize: pH vrednost, sadržaj rastvorljive suve materije (%), sadržaj ukupnih monomernih antocijana, sadržaj ukupnih flavonoida, sadržaj ukupnih polifenola, kao i antioksidativni kapacitet DPPH metoda (Trolox i IC50) i FRAP metoda. Određivan je i sadržaj pojedinačnih flavonoida i fenolnih kiselina primenom tečne hromatografije (LC/MS metoda).

Dobijeni rezultati pokazali su da se ovaj voćni sok odlikovao niskim sadržajem ukupnih monomernih antocijana, ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola, kao i niskim antioksidativnim potencijalom (tabela 35).

Tabela 35. Hemijske analize voćnog soka jabuke

Biljni ekstrakti	Voćni sok jabuke
pH vrednost	3,76 ± 0,05
Sadržaj rastvorljive suve materije (%)	11,2 ± 0,0
Sadržaj ukupnih monomernih antocijana(mg CGE/l)	3,75 ± 0,95
Sadržaj ukupnih flavonoida(mg QUE / l)	114,42 ± 1,67
Sadržaj ukupnih polifenola(mg GAE / l)	232,26 ± 0,66
Antioksidativni kapacitet - DPPH metoda (mmol TE / l)	0,64 ± 0,01
Antioksidativni kapacitet - DPPH metoda (IC50 (µg/ml))	320,04 ± 0,99
Antioksidativni kapacitet - FRAP metoda(mmol Fe (II) / l)	2,04 ± 0,02

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Rezultati LC/MS metode pokazali su prisustvo hlorogenske kiseline, kao i tragove galne i protokatehinske kiseline u voćnom soku jabuke (tabela 36).

Tabela 36. LC/MS analiza fenolnih jedinjenja voćnog soka jabuke

Fenolna jedinjenja(mg/l)	Voćni sok jabuke
<i>p</i> -Hidroksibenzoeva kiselina	/
Protokatehinska kiselina	0,37 ± 0,02
Galna kiselina	0,55 ± 0,03
Elaginska kiselina	/
<i>p</i> -Kumarinska kiselina	/
Kofeinska kiselina	/
Ferulinska kiselina	/
Hlorogenska kiselina	11,19 ± 0,67
Kempferol	/
Kvercetin	/
Miricetin	/
Rutin	/
Katehin	/
Epikatehin	/

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

#### 5.2.1.4. Finalne kombinacije

U sledećoj fazi proizvodnje, dobijeni su konačni proizvodi od tri potencijalno funkcionalna bezalkoholna pića, tako što su u odgovarajuće mešavine voćnih sokova (JD1, JD2 i JD3) dodavane kombinacije sa odgovarajućim lekovitim i aromatičnim biljem (K1, K2 i K3), kako bi se dobili proizvodi sa ciljanim funkcionalnim svojstvima na zdravlje potrošača. Zbog činjenice da su ekstrakti lekovitog i aromatičnog bilja dobijeni postupkom perkolacije u 50% vodeno-etanolnom rastvoru, njihova koncentracija u finalnim pićima nije mogla biti veća od 0,6%, radi mogućeg prelaska etanola, kao ekstrakcionog sredstva, u finalni napitak. Tako su dobijeni voćni sokovi sa lekovitim i aromatičnim biljem, finalne kombinacije bezalkoholnih pića, koje su predstavljale krajnje potencijalno funkcionalne napitke, označene kao:



**1. KD 1- “Fit”**

Voćni sok: 29,4% jabuke, 20% crne ribizle, 20% borovnice, 10% jagode, 10% crvene ribizle, 10% kupine.

Ekstrakt: 0,15% šipurka, 0,15% aronije, 0,10% rastavića, 0,05% matičnjaka, 0,08% koprive, 0,05% kamilice, 0,02% zove.

**2. KD 2- “Kardio”**

Voćni sok: 29,4% jabuke, 20% crne ribizle, 25% borovnice, 15% maline, 5% kupine, 5% višnje.

Ekstrakt: 0,10% heljde, 0,10% sofore, 0,10% aronije, 0,10% šipurka, 0,10% koprive, 0,05% srdačice, 0,05% matičnjaka.

**3. KD 3- “Imuno”**

Voćni sok: 29,4% jabuke, 30% crne ribizle, 20% borovnice, 15% višnje, 5% jagode.

Ekstrakt: 0,25% aronije, 0,15% šipurka, 0,12% koprive, 0,02% ehinacee, 0,02% grčkog semena, 0,02% trave ive, 0,02% majkine dušice.

### 5.2.2. Određivanje tehnoloških parametara proizvedenih bezalkoholnih pića

U svim kombinacijama voćnih sokova i bezalkoholnih pića pH vrednost se kretala u rasponu od 2,94 do 3,08 (tabela 37).

Tabela 37. pH vrednosti bezalkoholnih pića

Kombinacije voćnih sokova	pH vrednost		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	2,95±0,05	2,96±0,03	3,00±0,05
<b>D2</b>	2,97±0,10	2,97±0,02	2,99±0,04
<b>D3</b>	2,94±0,08	2,95±0,01	2,97±0,03
<b>JD1</b>	3,03±0,05	3,04±0,04	3,03±0,03
<b>JD2</b>	3,04±0,07	3,04±0,04	3,05±0,04
<b>JD3</b>	3,00±0,03	3,01±0,04	3,03±0,03
<b>KD1</b>	3,07±0,04	3,07±0,03	3,08±0,02
<b>KD2</b>	3,08±0,04	3,06±0,03	3,08±0,05
<b>KD3</b>	3,04±0,05	3,05±0,04	3,06±0,04

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Sadržaj suve materije kod kombinacija voćnih sokova kretao se u granicama od 11,4 do 15,0 (tabela 38).

Tabela 38. Sadržaj rastvorljive suve materije u bezalkoholnim pićima

Kombinacije voćnih sokova	Sadržaj rastvorljive suve materije (%)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	11,5±0,1	12,0±0,2	12,0±0,2
<b>D2</b>	12,0±0,1	13,5±0,2	13,5±0,2
<b>D3</b>	14,5±0,3	15,0±0,3	15,0±0,3
<b>JD1</b>	11,4±0,1	11,7±0,2	11,6±0,1
<b>JD2</b>	11,7±0,2	12,9±0,2	12,8±0,2
<b>JD3</b>	13,7±0,3	13,8±0,3	13,9±0,2
<b>KD1</b>	11,5±0,1	11,8±0,2	11,7±0,1
<b>KD2</b>	11,8±0,2	13,0±0,2	12,9±0,2
<b>KD3</b>	13,8±0,3	13,9±0,2	14,0±0,3

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Prema „Pravilniku o kvalitetu voćnih sokova, koncentrisanih voćnih sokova, voćnih sokova u prahu, voćnih nektara i srodnih proizvoda“ (Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011) maksimalni sadržaj etanola u voćnim sokovima, ne sme biti iznad 3,0 g/l (g/kg).

U proizvedenim bezalkoholnim pićima, etanol je mogao biti unet sa ekstraktima lekovitog i aromatičnog bilja, koji su dobijeni postupkom perkolacije, gde je kao rastvarač korišćen 50% vodeno-etanolni rastvor. Iako je u proizvodnji bezalkoholnih pića korišćena mala količina biljnih ekstrakata, od svega 0,6%, ipak je proveravan sadržaj etanola u njima kako bi se utvrdilo da on ne prelazi dozvoljene vrednosti propisane Pravilnikom.

Sadržaj etanola u finalnim kombinacijama KD1, KD2 i KD3, dobijenih od sokova proizvedenih različitim tehnološkim postupcima proizvodnje, prikazan je u tabeli 39.

Tabela 39. Sadržaj etanola u finalnim proizvodima- bezalkoholnim pićima

Finalni proizvodi	Sadržaj etanola (% v/v)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>KD1</b>	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01
<b>KD2</b>	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01
<b>KD3</b>	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,26 ± 0,00

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

Dobijene vrednosti pokazale su da se sadržaj etanola u bezalkoholnim pićima kretao u okviru dozvoljenih vrednosti, propisanih Pravilnikom.

### 5.2.3. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana u finalnim proizvodima

Antocijani (Đorđević, 2012), značajno doprinose antioksidativnosti crvenog voća, a predstavljaju glavne bojene materije dobijenih bezalkoholnih pića.

Sadržaj ukupnih monomernih antocijana u tri ispitivane kombinacije voćnih sokova od crvenog voća (D1, D2 i D3), proizvedene različitim postupcima proizvodnje (tabela 40) bio je relativno srazmeran vrednostima dobijenim za voćne sokove borovnice (tabela 7). Ovo su bile veoma visoke vrednosti, obzirom da su sokovi borovnice pokazali najviši sadržaj ukupnih monomernih antocijana, posle sokova crne ribizle.

Tabela 40. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana u uzorcima kombinacija voćnih sokova

Kombinacije voćnih sokova	Sadržaj ukupnih monomernih antocijana (mg CGE/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	454,21 ± 19,26 <sup>b</sup>	1780,10 ± 34,10 <sup>c</sup>	1718,32 ± 17,35 <sup>c</sup>
<b>D2</b>	644,58 ± 17,43 <sup>a</sup>	2005,54 ± 30,61 <sup>b</sup>	2090,70 ± 5,78 <sup>b</sup>
<b>D3</b>	608,95 ± 10,86 <sup>a</sup>	2301,11 ± 40,80 <sup>a</sup>	2144,14 ± 22,96 <sup>a</sup>
<b>JD1</b>	331,31 ± 12,69 <sup>c</sup>	1086,54 ± 38,42 <sup>d</sup>	1195,64 ± 20,32 <sup>g</sup>
<b>JD2</b>	424,82 ± 19,96 <sup>b</sup>	1430,54 ± 28,40 <sup>c</sup>	1337,02 ± 10,20 <sup>e</sup>
<b>JD3</b>	364,37 ± 11,17 <sup>c</sup>	1455,03 ± 25,07 <sup>c</sup>	1471,73 ± 5,10 <sup>d</sup>
<b>KD1</b>	328,97 ± 4,65 <sup>c</sup>	1066,50 ± 15,78 <sup>d</sup>	1030,88 ± 24,62 <sup>h</sup>
<b>KD2</b>	419,14 ± 5,14 <sup>b</sup>	1420,52 ± 23,69 <sup>c</sup>	1256,87 ± 15,78 <sup>f</sup>
<b>KD3</b>	361,36 ± 5,87 <sup>c</sup>	1448,35 ± 15,06 <sup>c</sup>	1318,10 ± 25,29 <sup>e</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Pektolitički enzimi uticali su na povećanje sadržaja ukupnih monomernih antocijana prilikom proizvodnje enzimiranih voćnih sokova, što je i ranije potvrđeno kod sokova borovnice i crne ribizle (Buchert et al., 2005). Dodatak soka jabuke, proporcionalno je smanjio njihov sadržaj, ali je ipak u kombinacijama JD1, JD2 i JD3 ovaj sadržaj bio 1-1,5 puta viši od vrednosti dobijenih za voćne sokove kupine (tabela 7). Dodavanje biljnih ekstrakata (K1, K2 i K3) u kombinacije voćnih sokova (JD1, JD2 i JD3) nije imalo uticaja na povećanje sadržaja ukupnih monomernih antocijana u finalnim pićima (KD) (tabela 40), zbog nižeg sadržaja ovog parametra u K ekstraktima (tabela 28) u odnosu na voćne mešavine.

Može se zaključiti da je u finalnim bezalkoholnim pićima dobijen izuzetno visok sadržaj ukupnih monomernih antocijana, posebno kod pića proizvedenih od enzimiranih

i pasterizovanih sokova. Pokazalo se da se korišćenjem proizvoda koji su bogat izvor antocijana može se doprineti regulisanju rada srca i krvotoka, lečenju hipertenzije, oboljenja jetre, dizenterije, dijareje, infekcija urinarnog trakta i kamena u bubregu, poboljšanju vida i cirkulaciji (Matsumoto et al., 2001; Tumbas, 2010). Takođe je u ranijim ispitivanjima istaknuto da je cijanidin pokazao viši protivupalni efekat u odnosu na aspirin (Wang et al., 1999). Na osnovu svega navedenog može se pretpostaviti da bi se konzumiranje ispitivanih finalnih bezalkoholnih pića, u kojima je detektovan visok sadržaj antocijana moglo doprineti poboljšanju zdravlja potrošača.

#### 5.2.4. Sadržaj ukupnih flavonoida u bezalkoholnim pićima

U proizvedenim pićima sadržaj ukupnih flavonoida se dodatkom soka jabuke značajno smanjio ( $p < 0,05$ ) kod sva tri tehnološka postupka proizvodnje (I, II i III), ali je dodatak biljnih ekstrakata (K1, K2 i K3) uslovio značajno povećanje sadržaja ukupnih flavonoida kod većine uzoraka dobijenih primenom II i III tehnološkog postupka proizvodnje (tabela 41).

Tabela 41. Sadržaj ukupnih flavonoida u uzorcima voćnih sokova

Kombinacije voćnih sokova	Sadržaj ukupnih flavonoida (mg QUE/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	857,56 ± 3,85 <sup>d</sup>	2669,17 ± 8,33 <sup>b</sup>	2312,25 ± 7,50 <sup>c</sup>
<b>D2</b>	966,44 ± 7,70 <sup>b</sup>	2716,39 ± 4,81 <sup>b</sup>	2599,75 ± 8,66 <sup>b</sup>
<b>D3</b>	1148,67 ± 20,00 <sup>a</sup>	2860,83 ± 36,32 <sup>a</sup>	2754,75 ± 32,69 <sup>a</sup>
<b>JD1</b>	651,50 ± 15,00 <sup>h</sup>	1817,86 ± 29,93 <sup>f</sup>	1686,03 ± 12,80 <sup>g</sup>
<b>JD2</b>	721,50 ± 13,23 <sup>f</sup>	2013,11 ± 13,88 <sup>e</sup>	1990,92 ± 20,21 <sup>f</sup>
<b>JD3</b>	859,92 ± 2,89 <sup>d</sup>	2086,44 ± 36,72 <sup>c,d</sup>	2081,00 ± 14,53 <sup>d,e</sup>
<b>KD1</b>	685,75 ± 2,50 <sup>g</sup>	1834,83 ± 28,43 <sup>f</sup>	1719,83 ± 2,89 <sup>g</sup>
<b>KD2</b>	755,75 ± 2,50 <sup>e</sup>	2064,81 ± 6,74 <sup>d,e</sup>	2043,42 ± 15,43 <sup>e</sup>
<b>KD3</b>	907,42 ± 2,89 <sup>c</sup>	2134,81 ± 14,68 <sup>c</sup>	2111,47 ± 18,75 <sup>d</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Sadržaj ukupnih flavonoida bio je skoro dvostruko viši od sadržaja koji je dobijen za sokove jagode, maline i crvene ribizle, ali i nešto niži od sokova kupine i višnje.

Flavonoidi su snažni antioksidansi *in vitro* i mogu inhibirati peroksidaciju lipida i zaštititi lipoproteine male gustine od oksidacije, a takođe mogu smanjiti agregaciju trombocita i poboljšati vazodilataciju (Borges et al., 2010). Ovo ukazuje na činjenicu da bi se proizvedena bezalkoholna pića, koja su se isticala po izuzetno visokom sadržaju

flavonoida, mogla svrstati među namirnice sa dodatom vrednošću. Imajući u vidu da je preporučeni prosečni dnevni unos flavonoida oko 1g/dan (Kuhnau, 1976), a da su se vrednosti ukupnih flavonoida ispitivanih finalnih bezalkoholnih kombinacija kretale u rasponu od 0,7-2g/l (tabela 41), može se zaključiti da bi konzumiranje ovih sokova moglo doprineti dnevnom unosu flavonoida.

### 5.2.5. Sadržaj ukupnih polifenola u bezalkoholnim pićima

Sadržaj ukupnih polifenola značajno se smanjio dodatkom soka jabuke u mešavine voćnih sokova (D kombinacije) (tabela 42).

Tabela 42. Sadržaj ukupnih polifenola u uzorcima voćnih sokova

Kombinacije voćnih sokova	Sadržaj ukupnih polifenola (mg GAE / l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	1740,00 ± 15,36 <sup>e</sup>	3843,99 ± 35,12 <sup>c</sup>	3916,94 ± 23,66 <sup>c</sup>
<b>D2</b>	2411,31 ± 25,91 <sup>b</sup>	4401,37 ± 19,68 <sup>b</sup>	4474,32 ± 17,06 <sup>b</sup>
<b>D3</b>	2487,54 ± 44,87 <sup>a</sup>	4805,74 ± 29,93 <sup>a</sup>	4660,11 ± 33,13 <sup>a</sup>
<b>JD1</b>	1299,34 ± 26,02 <sup>g</sup>	2763,47 ± 19,43 <sup>g</sup>	2793,50 ± 23,89 <sup>f</sup>
<b>JD2</b>	2231,20 ± 23,19 <sup>c</sup>	2979,02 ± 23,40 <sup>f</sup>	3179,45 ± 27,30 <sup>e</sup>
<b>JD3</b>	2018,91 ± 8,76 <sup>d</sup>	3418,36 ± 20,66 <sup>d</sup>	3463,61 ± 32,79 <sup>d</sup>
<b>KD1</b>	1476,23 ± 4,10 <sup>f</sup>	2780,68 ± 18,29 <sup>g</sup>	2803,06 ± 11,94 <sup>f</sup>
<b>KD2</b>	2257,98 ± 17,53 <sup>c</sup>	3079,56 ± 25,95 <sup>e</sup>	3194,75 ± 30,05 <sup>e</sup>
<b>KD3</b>	2043,77 ± 17,21 <sup>d</sup>	3422,73 ± 32,89 <sup>d</sup>	3493,28 ± 30,71 <sup>d</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Dodatkom biljnih ekstrakata (K1, K2 i K3) u kombinacije voćnih sokova od jagodastog i koštičavog voća (dobijenog primenom sva tri ispitivana tretmana) i jabuke (JD kombinacije), gotovo u svim slučajevima vrednost ukupnih polifenola je ostala nepromenjena. Kombinacije bezalkoholnih pića pokazale su visok sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja, koje su za hladno ceđene sokove bile u rangju hladno ceđenih sokova borovnice i crne ribizle, dok su za enzimirana pića vrednosti bile niže od enzimiranog soka borovnice, a više od enzimiranih sokova višnje i kupine (tabela 9).

Polifenoli imaju ulogu hvatača slobodnih radikala, sprečavaju njihovu oksidaciju, deluju antioksidativno, štiteći ćelijske membrane, enzime i genetski materijal u ljudskom organizmu od različitih oštećenja (Rice-Evans et al., 1997; Huang et al., 2005; Nikolić i Milivojević, 2010; Shadidi et al., 2015). Prisustvo fenolnih jedinjenja u voću i drugim biljkama zaslužno je za visoku biološku aktivnost kao što su antioksidativna, antiinflamatorna, antimikrobna i antikarcinogena (Mazza, 2007), zbog

čega bi se konzumiranjem ispitivanih finalnih bezalkoholnih pića, kod kojih su dobijene visoke vrednosti u sadržaju polifenola, kod potencijalnih potrošača, moglo doprineti poboljšanju ciljanih zdravstvenih efekata, kao i poboljšavanju opšteg stanja organizma.

## 5.2.6. Antioksidativni kapacitet bezalkoholnih pića

### 5.2.6.1. DPPH metoda (Trolox)

Dobijene vrednosti antioksidativnog kapaciteta primenom DPPH metode, za ispitivane mešavine voćnih sokova (D1, D2 i D3) (tabela 43) bile su u opsegu vrednosti koje su dobijene za sokove borovnice i crne ribizle, da bi dodatkom soka jabuke (JD kombinacije) one opale na nivo koji je u rangu sa vrednostima dobijenim kod sokova višnje i kupine.

Tabela 43. Vrednosti antioksidativnog kapaciteta, DPPH metoda (mmol TE / l) u uzorcima kombinacija voćnih sokova

Kombinacije voćnih sokova	Antioksidativni kapacitet - DPPH metoda (mmol TE / l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	8,08 ± 0,05 <sup>d,e</sup>	29,82 ± 0,09 <sup>c</sup>	21,71 ± 0,07 <sup>c</sup>
<b>D2</b>	10,03 ± 0,09 <sup>b</sup>	30,76 ± 0,06 <sup>a</sup>	23,36 ± 0,11 <sup>b</sup>
<b>D3</b>	11,36 ± 0,01 <sup>a</sup>	30,41 ± 0,07 <sup>b</sup>	27,30 ± 0,14 <sup>a</sup>
<b>JD1</b>	6,75 ± 0,04 <sup>g</sup>	16,27 ± 0,08 <sup>i</sup>	15,96 ± 0,07 <sup>i</sup>
<b>JD2</b>	7,58 ± 0,06 <sup>f</sup>	18,45 ± 0,03 <sup>h</sup>	16,95 ± 0,06 <sup>g</sup>
<b>JD3</b>	8,66 ± 0,01 <sup>c</sup>	20,17 ± 0,05 <sup>e</sup>	18,04 ± 0,03 <sup>e</sup>
<b>KD1</b>	7,58 ± 0,04 <sup>f</sup>	18,76 ± 0,08 <sup>g</sup>	16,25 ± 0,09 <sup>h</sup>
<b>KD2</b>	8,06 ± 0,08 <sup>e</sup>	19,92 ± 0,01 <sup>f</sup>	17,49 ± 0,03 <sup>f</sup>
<b>KD3</b>	8,22 ± 0,02 <sup>d</sup>	22,43 ± 0,06 <sup>d</sup>	19,76 ± 0,07 <sup>d</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Sa druge strane, dodatkom ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja antioksidativnost je značajno porasla kod sve tri ispitivane kombinacije (KD1, KD2, i KD3) u kojima su korišćeni sokovi dobijeni primenom sva tri postupka proizvodnje (I, II i III). Međutim, bez obzira na to što se sadržaj ukupnih monomernih antocijana, ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola nije značajno menjao, udruženo dejstvo više komponenti, kao i dejstvo neflavonoidnih sastojaka je mogao imati uticaj na to da je antioksidativnost u finalnim kombinacijama značajno porasla.

Vrednosti za antioksidativni kapacitet finalnih kombinacija (KD1, KD2 i KD3), dobijenih od hladno ceđenih, enzimiranih i pasterizovanih sokova (I, II i III postupak)

kretale su se između vrednosti voćnih sokova višnje i kupine i soka borovnice (tabela 10).

### 5.2.6.2. DPPH metoda (IC50)

Dodatak voćnog soka jabuke uticao je na smanjenje antioksidativnog kapaciteta (IC50 vrednosti) kod svih postupaka proizvodnje, a dodatak ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja je kod enzimiranih i pasterizovanih sokova povećao IC50 vrednosti (tabela 44).

Tabela 44. Vrednosti antioksidativnog kapaciteta, DPPH metoda IC50 ( $\mu\text{l/ml}$ ) u uzorcima kombinacija voćnih sokova

Kombinacije voćnih sokova	Antioksidativni kapacitet - DPPH metoda IC50 ( $\mu\text{l/ml}$ )		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	32,60 $\pm$ 0, 45 <sup>d</sup>	6,31 $\pm$ 0,09 <sup>a,b</sup>	9,67 $\pm$ 0, 03 <sup>c</sup>
<b>D2</b>	22,094 $\pm$ 0, 15 <sup>a</sup>	6,45 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	8,82 $\pm$ 0, 04 <sup>b</sup>
<b>D3</b>	23,58 $\pm$ 0, 24 <sup>b</sup>	6,20 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	7,97 $\pm$ 0, 03 <sup>a</sup>
<b>JD1</b>	40,77 $\pm$ 0, 19 <sup>h</sup>	10,81 $\pm$ 0,00 <sup>e</sup>	12,31 $\pm$ 0, 03 <sup>h</sup>
<b>JD2</b>	26,92 $\pm$ 0, 45 <sup>c</sup>	9,00 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	10,95 $\pm$ 0, 08 <sup>e</sup>
<b>JD3</b>	25,99 $\pm$ 0, 06 <sup>e</sup>	8,07 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	11,97 $\pm$ 0,04 <sup>g</sup>
<b>KD1</b>	37,43 $\pm$ 0, 08 <sup>g</sup>	9,79 $\pm$ 0,03 <sup>h</sup>	11,83 $\pm$ 0,04 <sup>f</sup>
<b>KD2</b>	35,84 $\pm$ 0, 15 <sup>f</sup>	8,73 $\pm$ 0,03 <sup>g</sup>	10,63 $\pm$ 0, 02 <sup>d</sup>
<b>KD3</b>	32,94 $\pm$ 0,06 <sup>d</sup>	7,50 $\pm$ 0,03 <sup>f</sup>	9,48 $\pm$ 0,01 <sup>f</sup>
<b>Vitamin C</b>	42,03 $\pm$ 0,01 <sup>1</sup>		

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Antioksidativni kapacitet plodova ribizle i drugog jagodastog voća i njihovih prerađevina zasniva se na vrlo visokim sadržajima vitamina C (Moyer et al., 2002a). Vitamin C ispoljava niz bioloških aktivnosti. Pokazani su efekti na smanjenje oštećenja DNK lanca, ćelijskih zidova i pojavu katarakte (Benvenuti et al., 2004). Preporučena dnevna doza vitamina C iznosi 100 - 120 mg (Malbaša, 2004).

U odnosu na vitamin C, svi uzorci pića imali su jači antioksidativni potencijal, i to kombinacije enzimiranih sokova najveći, zatim pasterizovanih, pa hladno ceđenih sokova. Dobijene vrednosti su pokazale da su kombinacije enzimiranih i pasterizovanih sokova i pića (II i III postupak) imale 3-4 puta veće vrednosti u odnosu na hladno ceđene (tabela 44). Ovom metodom je, takođe, kao i prethodnom, dobijen opseg vrednosti, sličan soku kupine, višnje i borovnice (tabela 11).

Fenolna jedinjenja koja se nalaze u pićima, sokovima i ekstraktima pokazuju sinergistički efekat jedni sa drugim, kao i sa drugim komponentama u uzorku, kao što

su vitamini, eterična ulja i proteini rastvorljivi u etanolu (Singh et al., 2006) i na taj način doprinose antioksidativnom potencijalu bezalkoholnih pića.

### 5.2.6.3. FRAP metoda

Dodatkom biljnih ekstrakata (K1, K2 i K3) u kombinacije voćnih sokova (JD1, JD2 i JD3) vrednosti antioksidativnog potencijala određene ovom metodom gotovo su ostale nepromenjene (tabela 45).

Vrednosti antioksidativnosti određene FRAP metodom za finalne kombinacije (tabela 45) su bile u rangu sa vrednostima dobijenim za sok kupine (tabela 12). Vrednosti antioksidativnog potencijala D kombinacija voćnih sokova dobijene ovom metodom su u saglasnosti sa podacima koje su dobili Müller et al., (2010).

Tabela 45. Vrednosti antioksidativni kapacitet, FRAP metoda (mmol Fe (II) / l) u uzorcima kombinacija voćnih sokova

Kombinacije voćnih sokova	Antioksidativni kapacitet - FRAP metoda (mmol Fe(II)/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	29,91 ± 0,11 <sup>c</sup>	65,36 ± 0,13 <sup>c</sup>	59,14 ± 0,36 <sup>c</sup>
<b>D2</b>	35,13 ± 0,25 <sup>b</sup>	68,51 ± 0,13 <sup>b</sup>	62,68 ± 0,18 <sup>b</sup>
<b>D3</b>	36,16 ± 0,36 <sup>a</sup>	69,49 ± 0,31 <sup>a</sup>	66,88 ± 0,07 <sup>a</sup>
<b>JD1</b>	23,21 ± 0,10 <sup>g</sup>	43,64 ± 0,18 <sup>g</sup>	40,08 ± 0,15 <sup>g</sup>
<b>JD2</b>	23,64 ± 0,12 <sup>f,g</sup>	47,52 ± 0,17 <sup>f</sup>	44,41 ± 0,96 <sup>f</sup>
<b>JD3</b>	24,13 ± 0,28 <sup>e,f</sup>	51,80 ± 0,30 <sup>e</sup>	48,69 ± 0,21 <sup>d</sup>
<b>KD1</b>	23,30 ± 0,08 <sup>g</sup>	43,91 ± 0,18 <sup>g</sup>	41,06 ± 0,10 <sup>g</sup>
<b>KD2</b>	24,31 ± 0,07 <sup>d,e</sup>	47,74 ± 0,24 <sup>f</sup>	45,80 ± 0,22 <sup>e</sup>
<b>KD3</b>	24,86 ± 0,17 <sup>d</sup>	52,61 ± 0,25 <sup>d</sup>	49,19 ± 0,13 <sup>d</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Slobodni radikali prisutni u organizmu mogu da dovedu do raznih poremećaja i bolesti. Zato su neophodni antioksidanti koji će te slobodne radikale neutralisati. Antioksidanti *in vivo* deluju tako što se sami oksiduju i na taj način štite važne ćelijske komponente od oksidacije ili katalitički konvertuju prooksidante u manje reaktivna jedinjenja (Tumbas, 2010). Zbog savremenog načina života često ta ravnoteža biva narušena, u korist prooksidanasa, količina stvorenih radikala nadmašuje količinu proizvedenih endogenih antioksidanasa i nastaje oksidativni stres, koji može dovesti do oštećenja ćelija (Alfada i Sallam, 2012). Kako bi se omogućio balans, neophodno je unošenje antioksidanasa egzogeno, putem hrane i pića.

Dobijeni rezultati, kojima se potvrđuje visok antioksidativni kapacitet proizvedenih bezalkoholnih pića ukazuju na činjenicu da ova pića sa potencijalno



povoljnim ciljanim dejstvima na metabolizam, kardiovaskularni i imunski sistem, mogu predstavljati dobar izvor antioksidanasa, neophodnih za normalno funkcionisanje organizma.

### 5.2.7. Korelacija metoda

U mnogim istraživanjima pokazana je pozitivna korelaciju između antioksidativnog kapaciteta i polifenola, sadržaja vitamina C i antocijana (Wang i Lin, 2000; Sellappan et al., 2002; Reyes-Carmona et al., 2005; Poiana et al., 2010; Milivojević et al., 2011). Korelacija između korišćenih metoda u eksperimentu, pokazana je u tabeli 46.

Tabela 46. Korelacija između sadržaja ukupnih monomernih antocijana, ukupnih flavonoida, ukupnih polifenola i antioksidativnog kapaciteta, određivanog različitim metodama

	Ukupni monomerni antocijani	Ukupni flavonoidi	Ukupni polifenoli	FRAP	DPPH (Trolox)	DPPH (IC50)
Koficijent korelacije (r)						
Ukupni monomerni antocijani	1	<b>-0,258**</b>	-0,097	0,011	-0,125	<b>-0,323**</b>
Ukupni flavonoidi		1	<b>0,924**</b>	<b>0,910**</b>	<b>0,940**</b>	<b>-0,566**</b>
Ukupni polifenoli			1	<b>0,935**</b>	<b>0,968**</b>	<b>-0,608**</b>
FRAP				1	<b>0,921**</b>	<b>-0,654**</b>
DPPH (Trolox)					1	<b>-0,602**</b>
DPPH (IC50)						1

\*\* Корелација је значајна на нивоу 0,01

Iz tabele se može videti da je sadržaj ukupnih monomernih antocijana bio u slaboj korelaciji sa sadržajem ukupnih flavonoida i sa IC50 vrednostima DPPH metode (tabela 46). Sa ostalim hemijskim pokazateljima nije postojala statistički značajna pozitivna korelacija, pa se može zaključiti da je sadržaj ukupnih monomernih antocijana slabo uticao na sadržaj ukupnih flavonoida. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana nije imao uticaja na sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativni kapacitet meren FRAP i DPPH (Trolox) metodama. Antocijana ima najviše u crvenom voću, ali u lekovitom i aromatično bilju su manje zastupljeni, pa verovatno otuda slaba korelacija. Prisustvo veće količine drugih jedinjenja iz klase flavonoida imalo je najverovatnije veći uticaj na sadržaj ukupnih flavonoida, kao i ukupnih polifenola. Sadržaj ukupnih polifenola bio je

visoko korelisan sa sadržajem ukupnih flavonoida ( $r=0,924$ ).

Na antioksidativni kapacitet uzoraka značajno je uticao sadržaj ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola (tabela 46), što se i moglo pretpostaviti, obzirom da su flavonoidi i ostala polifenolna jedinjenja najzastupljeniji biološki aktivni sekundarni metaboliti biljaka (Haminiuk et al., 2012), koji su najviše doprineli njihovoj antioksidativnosti. Ovo se najviše odnosilo kod antioksidativnosti merene FRAP i DPPH (Trolox) metodama, gde je postojala snažna korelisanost ( $r>0,9$ ) (tabela 46). Takođe, sadržaj pojedinačnih fenolnih jedinjenja nije jedini uslov za antioksidativni kapacitet i moguću zdravstvenu korisnost. Pored njihovog ukupnog sadržaja, tip fenolnih jedinjenja koji je zastupljen u sokovima predstavlja važan faktor antioksidativnog kapaciteta sokova, kao i sadržaj vitamina C i drugih antioksidanata (Satué-Garcia et al., 1997; Stajčić et al., 2012). Sve tri metode za određivanje antioksidativnosti bile su u međusobnoj statistički veoma značajnoj korelaciji pogotovo FRAP i DPPH (Trolox) ( $r=0,921$ ). Zato se može pretpostaviti da se ove metode mogu primenjivati za određivanje antioksidativnog kapaciteta voćnih sokova i ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja.

### 5.2.8. LC/MS analiza fenolnih jedinjenja u bezalkoholnim pićima

Sadržaj *p*-hidroksibenzoeve kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića, proizvedenih različitim tehnološkim postupcima proizvodnje, prikazan je u tabeli 47.

Tabela 47. Sadržaj *p*-hidroksibenzoeve kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	<i>p</i> -Hidroksibenzoeva kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	1,59±0,08 <sup>d,e</sup>	0,36±0,04 <sup>c</sup>	1,32±0,03 <sup>b</sup>
<b>D2</b>	1,33±0,01 <sup>e,f</sup>	0,57±0,02 <sup>c</sup>	1,26±0,02 <sup>b,c</sup>
<b>D3</b>	1,49±0,03 <sup>d,e</sup>	0,54±0,01 <sup>c</sup>	1,26±0,03 <sup>b,c</sup>
<b>JD1</b>	1,59±0,07 <sup>d,e</sup>	0,36±0,02 <sup>c</sup>	1,17±0,05 <sup>c,d</sup>
<b>JD2</b>	1,21±0,02 <sup>f</sup>	0,54±0,01 <sup>c</sup>	1,19±0,07 <sup>b,c,d</sup>
<b>JD3</b>	1,69±0,03 <sup>d</sup>	0,47±0,02 <sup>c</sup>	1,09±0,04 <sup>d</sup>
<b>KD1</b>	3,80±0,26 <sup>a</sup>	4,05±0,06 <sup>b</sup>	1,79±0,07 <sup>a</sup>
<b>KD2</b>	2,19±0,03 <sup>c</sup>	7,10±0,58 <sup>a</sup>	1,80±0,05 <sup>a</sup>
<b>KD3</b>	2,65±0,03 <sup>b</sup>	6,93±0,06 <sup>a</sup>	1,84±0,04 <sup>a</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p<0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

U uzorcima bezalkoholnih pića dobijen je relativno nizak sadržaj *p*-hidroksibenzojeve kiseline. Međutim, dodavanje ekstrakata u voćne JD mešavine uticalo je značajno ( $p < 0,05$ ) na povećanje ove fenolne kiseline kod sva tri postupka proizvodnje, i to 1,5 puta kod pića dobijenih od hladno ceđenih i pasterizovanih sokova, a čak 11-15 puta kod pića dobijenih od enzimiranih sokova. Kombinacije KD2 i KD3 dobijene od enzimiranih sokova pokazale su najviši sadržaj ove kiseline, čije se prisustvo u prehrambenim proizvodima može dovesti u vezu sa njihovim potencijalnim konzervišućim efektom (Aalto et al., 1953).

Kao što je već istaknuto u prethodnim rezultatima, u sadržaju protokatehinske kiseline isticali su se sokovi borovnice (kod sva tri postupka), kao i enzimirani sokovi kupine, maline i višnje (tabela 14). Takođe, sve tri kombinacije ekstrakata su bile bogate u sadržaju ove fenolne kiseline (tabela 30).

Sadržaj protokatehinske kiseline u uzorcima finalnih bezalkoholnih pića prikazan je u tabeli 48.

Tabela 48. Sadržaj protokatehinske kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Protokatehinska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	8,82±0,07 <sup>e,f</sup>	2,99±0,07 <sup>f</sup>	10,76±0,32 <sup>c</sup>
<b>D2</b>	11,16±0,03 <sup>d</sup>	4,15±0,05 <sup>d</sup>	10,65±0,08 <sup>c</sup>
<b>D3</b>	8,66±0,50 <sup>f,g</sup>	3,59±0,03 <sup>e</sup>	10,39±0,09 <sup>c</sup>
<b>JD1</b>	8,08±0,08 <sup>g</sup>	2,50±0,05 <sup>g</sup>	8,41±0,06 <sup>c</sup>
<b>JD2</b>	9,38±0,07 <sup>e</sup>	3,22±0,02 <sup>e,f</sup>	9,88±0,06 <sup>d</sup>
<b>JD3</b>	10,74±0,12 <sup>d</sup>	2,86±0,03 <sup>f,g</sup>	8,20±0,08 <sup>e</sup>
<b>KD1</b>	30,36±0,18 <sup>b</sup>	25,19±0,12 <sup>c</sup>	21,14±0,17 <sup>b</sup>
<b>KD2</b>	31,47±0,24 <sup>a</sup>	40,57±0,38 <sup>a</sup>	30,67±0,32 <sup>a</sup>
<b>KD3</b>	26,65±0,21 <sup>c</sup>	33,47±0,27 <sup>b</sup>	20,80±0,15 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Sadržaj protokatehinske kiseline značajno se povećao dodavanjem ekstrakata u voćne mešavine kod sva tri postupka proizvodnje (oko 3 puta kod uzoraka sa hladno ceđenim i pasterizovanim sokovima). U JD kombinacijama pića proizvedenih od enzimiranih sokova (II postupak), detektovane su značajno niže vrednosti u odnosu na ostale postupake proizvodnje, ali su dodatkom ekstrakata, porasle čak 10-12 puta (tabela 48).

Visok sadržaj galne kiseline detektovan je kod sokova kupine i borovnice (kod sva tri postupka proizvodnje), kao i kod enzimiranih sokova crne ribizle i jagode (tabela 15). Galna kiselina se u ljudskom organizmu dobro resorbuje u poređenju sa drugim fenolnim jedinjenjima (Shahrzad i Bitsch, 1998), pa bi konzumiranje ovakvih pića moglo značajno doprineti unosu biološki aktivnih jedinjenja. Sadržaj galne kiseline u bezalkoholnim pićima prikazan je u tabeli 49.

Tabela 49. Sadržaj galne kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Galna kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	14,47±0,44 <sup>d</sup>	6,49±0,08 <sup>c</sup>	18,36±0,46 <sup>d</sup>
<b>D2</b>	13,80±0,05 <sup>d</sup>	5,71±0,07 <sup>d</sup>	14,55±0,22 <sup>c</sup>
<b>D3</b>	8,73±0,06 <sup>g</sup>	4,50±0,05 <sup>e</sup>	13,07±0,11 <sup>g</sup>
<b>JD1</b>	12,80±0,12 <sup>e</sup>	4,63±0,06 <sup>c</sup>	13,89±0,09 <sup>f</sup>
<b>JD2</b>	11,91±0,78 <sup>e</sup>	4,35±0,04 <sup>e</sup>	13,94±0,09 <sup>e,f</sup>
<b>JD3</b>	10,31±0,09 <sup>f</sup>	3,46±0,05 <sup>f</sup>	10,86±0,07 <sup>h</sup>
<b>KD1</b>	32,98±0,32 <sup>a</sup>	37,05±0,33 <sup>b</sup>	25,37±0,30 <sup>b</sup>
<b>KD2</b>	24,03±0,22 <sup>b</sup>	43,47±0,29 <sup>a</sup>	28,64±0,22 <sup>a</sup>
<b>KD3</b>	21,22±0,11 <sup>c</sup>	37,44±0,27 <sup>b</sup>	20,26±0,22 <sup>c</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Sadržaj galne kiseline značajno se povećao dodavanjem biljnih ekstrakata u voćne mešavine kod svih uzoraka pića dobijenih od sokova primenom sva tri postupka proizvodnje (2-3 puta kod pića od hladno ceđenih i pasterizovanih sokova, a 9-10 puta kod pića od enzimiranih sokova). Galna kiselina poseduje visok antioksidativni potencijal, koji je čak tri puta viši od antioksidativnog potencijala vitamina C (Nile i Park, 2014), zahvaljujući svojim hidroksilnim grupama koji se ponašaju kao primaoci elektrona (Rice-Evans et al., 1997; Nile i Park, 2014).

Elaginska kiselina brzo dospeva u krvotok, sa maksimalnom koncentracijom samo 1 h nakon unosa hrane bogate elaginskom kiselinom i elagitaninima (Seeram et al. 2004). Najviši sadržaj elaginske kiseline je kvantifikovano u sokovima maline, kupine i jagode (tabela 16), kao i u sve tri kombinacije biljnih ekstrakata K1, K2 i K3 (tabela 31).

Sadržaj elaginske kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića prikazan je u tabeli 50.

Tabela 50. Sadržaj elaginske kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Elaginska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	4,88±0,09 <sup>c</sup>	1,76±0,06 <sup>c</sup>	8,12±0,08 <sup>d</sup>
<b>D2</b>	20,83±0,09 <sup>b</sup>	3,14±0,05 <sup>c</sup>	9,26±0,07 <sup>c</sup>
<b>D3</b>	1,23±0,02 <sup>g</sup>	0,73±0,02 <sup>f</sup>	2,06±0,04 <sup>f</sup>
<b>JD1</b>	4,84±0,06 <sup>e</sup>	1,82±0,03 <sup>e</sup>	6,32±0,06 <sup>e</sup>
<b>JD2</b>	16,69±0,17 <sup>c</sup>	1,82±0,04 <sup>c</sup>	9,10±0,12 <sup>c</sup>
<b>JD3</b>	1,29±0,02 <sup>g</sup>	0,48±0,02 <sup>g</sup>	1,35±0,01 <sup>g</sup>
<b>KD1</b>	14,75±0,13 <sup>d</sup>	11,19±0,09 <sup>b</sup>	10,37±0,11 <sup>b</sup>
<b>KD2</b>	29,11±0,27 <sup>a</sup>	19,68±0,12 <sup>a</sup>	17,62±0,13 <sup>a</sup>
<b>KD3</b>	1,98±0,08 <sup>f</sup>	2,77±0,03 <sup>d</sup>	2,21±0,03 <sup>f</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Sadržaj elaginske kiseline značajno se povećao dodavanjem ekstrakata u voćne mešavine, kod svih uzoraka (1,5-5 puta kod uzoraka pića dobijenih od hladno ceđenih sokova, 1,5-2 puta kod pića dobijenih od pasterizovanih sokova, a 6-11 puta kod pića od enzimiranih sokova). Dokazano je citotoksično i antiproliferativno dejstvo elaginske kiseline, kao i letalno dejstvo na ćelije karcinoma (Losso et al., 2006), pa se može pretpostaviti njen pozitivan efekat, koji bi se mogao postići konzumiranjem ispitivanih bezalkoholnih pića.

Sadržaj *p*-kumarinske kiseline bio je najviši kod enzimiranih sokova borovnice, višnje, jagode i maline, kao i kod pasterizovanih sokova kupine i jagode (tabela 17). Sadržaj *p*-kumarinske kiseline u bezalkoholnim pićima dat je u tabeli 51.

Tabela 51. Sadržaj *p*-kumarinske kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	<i>p</i> -Kumarinska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	2,26±0,04 <sup>d</sup>	8,51±0,09 <sup>g</sup>	11,40±0,09 <sup>c</sup>
<b>D2</b>	1,94±0,04 <sup>e</sup>	13,31±0,06 <sup>d</sup>	9,73±0,07 <sup>d</sup>
<b>D3</b>	1,75±0,03 <sup>f</sup>	11,74±0,13 <sup>e</sup>	8,81±0,06 <sup>e</sup>
<b>JD1</b>	1,69±0,05 <sup>f</sup>	6,17±0,08 <sup>h</sup>	8,09±0,04 <sup>f</sup>
<b>JD2</b>	1,39±0,03 <sup>g</sup>	10,30±0,09 <sup>f</sup>	8,02±0,08 <sup>f</sup>
<b>JD3</b>	2,53±0,03 <sup>c</sup>	9,06±0,11 <sup>f,g</sup>	6,75±0,03 <sup>g</sup>
<b>KD1</b>	4,72±0,06 <sup>b</sup>	23,26±0,24 <sup>c</sup>	15,52±0,16 <sup>b</sup>
<b>KD2</b>	4,63±0,05 <sup>b</sup>	98,54±0,88 <sup>a</sup>	16,80±0,15 <sup>a</sup>
<b>KD3</b>	4,93±0,06 <sup>a</sup>	93,31±1,04 <sup>b</sup>	15,46±0,14 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Koncentracija *p*-kumarinske kiseline u finalnim (KD) mešavinama značajno se povećala dodavanjem ekstrakata u voćne mešavine (2-4 puta kod pića dobijenih od hladno ceđenih sokova, oko 2 puta kod pića od pasterizovanih i 4-10 puta kod pića dobijena od enzimiranih sokova, koje su se isticale sadržajem ove kiseline) (tabela 51). Potvrđeno sinergističko dejstvo kofeinske, *p*-kumarinske i hlorogenske kiseline sa  $\alpha$ -tokoferolom i askorbinskom kiselinom može doprineti povećanju antioksidativnog kapaciteta uzoraka (Orčić, 2010).

Kofeinska, kafeoilhinska i dikafeoilhinska kiselina zaslužne su za poboljšavanje mobilnosti makrofaga, koji su u većini tkiva prva linija odbrane od infekcija (Tatefuji et al., 1996). Visok sadržaj kofeinske kiseline, sa karakterističnim aromatičnim mirisom i gorkim ukusom (Marin et al., 2003; Boros et al., 2010), pronađen je kod enzimiranih sokova borovnice, višnje, crne ribizle i maline (tabela 18), kao i kod kombinacija ekstrakata K1, K2 i K3 (tabela 31). Sadržaj kofeinske kiseline pronađene u uzorcima bezalkoholnih pića prikazan je u tabeli 52.

Tabela 52. Sadržaj kofeinske kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Kofeinska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	/	5,36±0,04 <sup>g</sup>	5,18±0,07 <sup>e</sup>
<b>D2</b>	/	12,30±0,08 <sup>d</sup>	6,13±0,09 <sup>d</sup>
<b>D3</b>	0,50±0,02 <sup>d</sup>	10,91±0,11 <sup>d,e</sup>	6,25±0,04 <sup>d</sup>
<b>JD1</b>	/	4,34±0,04 <sup>g</sup>	3,80±0,04 <sup>g</sup>
<b>JD2</b>	/	9,78±0,12 <sup>e,f</sup>	5,43±0,14 <sup>e</sup>
<b>JD3</b>	/	8,18±0,07 <sup>f</sup>	4,74±0,03 <sup>f</sup>
<b>KD1</b>	1,61±0,03 <sup>c</sup>	38,97±0,38 <sup>c</sup>	16,35±0,17 <sup>c</sup>
<b>KD2</b>	2,28±0,03 <sup>a</sup>	176,74±1,13 <sup>a</sup>	23,36±0,18 <sup>b</sup>
<b>KD3</b>	2,21±0,03 <sup>b</sup>	148,24±1,25 <sup>b</sup>	24,34±0,16 <sup>a</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

U mešavinama sokova od hladno ceđenih uzoraka sokova, sadržaj ove kiseline, za koju se navodi da je najzastupljenija fenolna kiselina u biljnom svetu (Pereira et al., 2009; Dai i Mumper, 2010), je detektovan u veoma niskim koncentracijama. Povećanje sadržaja kofeinske kiseline dodatkom ekstrakata u voćne mešavine, kod pića od enzimiranih sokova, bilo je 9-18 puta, a kod pića od pasterizovanih sokova 4-6 puta. Visok sadržaj ove kiseline pokazale su finalne kombinacije pića od enzimiranih sokova KD2 i KD3 (II postupak) (tabela 52).

Ferulinska kiselina je detektovana u niskim koncentracijama u voćnim sokovima (tabela 19), dok je izuzetno visok sadržaj zabeležen u kombinaciji ekstrakata K1 (tabela 32). Sadržaj ferulinske kiseline u finalnim bezalkoholnim pićima dat je u tabeli 53.

Tabela 53. Sadržaj ferulinske kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Ferulinska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
D1	/	0,32±0,03 <sup>g</sup>	/
D2	/	0,75±0,03 <sup>e</sup>	/
D3	/	1,34±0,03 <sup>c</sup>	/
JD1	/	0,19±0,01 <sup>h</sup>	/
JD2	/	0,55±0,04 <sup>f</sup>	/
JD3	/	0,97±0,03 <sup>d</sup>	/
KD1	/	/	/
KD2	3,52±0,03 <sup>b</sup>	12,12±0,07 <sup>a</sup>	5,42±0,05 <sup>a</sup>
KD3	3,64±0,04 <sup>a</sup>	7,44±0,09 <sup>b</sup>	/

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Dodatkom ekstrakata, u finalnim pićima, od enzimiranih sokova KD2 i KD3, sadržaj ove kiseline se povećao 22, odnosno 7 puta, respektivno.

Hlorogenska kiselina, estar kofeinske i hininske kiseline, je dominantno fenolno jedinjenje svežeg zrna kafe, izrazito gorkog ukusa, od koje se pri prženju kafe, formira mnoštvo jedinjenja, koja utiču na ukus kafe (Olthof et al., 2003). Visok sadržaj hlorogenske kiseline pronađen je u pasterizovanim voćnim sokovima borovnice i višnje, kao i u hladno ceđenom soku višnje i enzimiranom soku borovnice (tabela 20).

Tabela 54. Sadržaj hlorogenske kiseline u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Hlorogenska kiselina (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
1	1,01±0,06 <sup>h</sup>	49,99±1,12 <sup>e</sup>	85,96±1,20 <sup>f</sup>
D2	4,17±0,05 <sup>f</sup>	55,71±1,11 <sup>d</sup>	91,17±1,84 <sup>c</sup>
D3	12,89±0,11 <sup>e</sup>	56,91±1,68 <sup>d</sup>	96,30±1,25 <sup>d</sup>
JD1	2,22±0,08 <sup>g</sup>	37,98±1,01 <sup>f</sup>	71,12±1,57 <sup>g</sup>
JD2	4,16±0,04 <sup>f</sup>	40,81±0,39 <sup>f</sup>	84,66±0,41 <sup>f</sup>
JD3	15,57±0,14 <sup>d</sup>	41,51±0,36 <sup>f</sup>	81,88±0,65 <sup>f</sup>
KD1	21,92±0,15 <sup>c</sup>	204,44±2,14 <sup>a</sup>	231,86±2,13 <sup>c</sup>
KD2	25,80±0,26 <sup>b</sup>	110,32±1,14 <sup>c</sup>	302,26±3,30 <sup>a</sup>
KD3	42,04±0,40 <sup>a</sup>	153,74±1,37 <sup>b</sup>	292,88±1,70 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

Takođe izuzetno visoke vrednosti sadržaja ove kiseline pokazale su K1, K3 i K2 kombinacije voćnih ekstrakata (tabela 32). Sadržaj hlorogenske kiseline pronađene u bezalkoholnim pićima prikazan je u tabeli 54.

Dodavanjem ekstrakata u voćne mešavine, sadržaj hlorogenske kiseline se povećao kod sva tri postupka proizvodnje (3-10 puta kod pića dobijenih od hladno ceđenih sokova, 3-5 puta kod pića od enzimiranih sokova i oko 3,5 puta kod pića dobijenih od pasterizovanih sokova). Hlorogenska kiselina i rutin pokazali su se kao relativno stabilni tokom grejanja na 100°C, dok su se razlagali na 180°C, ali su i tada neki proizvodi razlaganja i dalje imali sposobnost uklanjanja slobodnih radikala. Takođe, pokazano je da hlorogenska kiselina štiti rutin od razlaganja zagrevanjem, verovatno zbog činjenice da je hlorogenska kiselina ester, pa se lakše razgrađuje od rutina (Murakami et al., 2004). Hlorogenska kiselina kao i njeni derivati, takođe mogu pozitivno uticati na smanjenje povišenog krvnog pritiska i poboljšanje vaskularnog zdravlja (Mubaraka et al., 2012;. Zhao et al., 2012).

Kempferol je kod voćnih sokova pronađen u tragovima (tabela 21), a kod kombinacija ekstrakata jedino su pronađene male količine kod K2 (u ekstraktima je bio jedino prisutan kod sofore) (tabela 33). Sadržaj kempferola u bezalkoholnim pićima prikazan je u tabeli 55.

Tabela 55. Sadržaj kempferola u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Kempferol (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	0,32±0,04 <sup>a</sup>	0,08±0,00 <sup>a,b</sup>	0,53±0,58 <sup>a</sup>
<b>D2</b>	/	0,09±0,01 <sup>a,b</sup>	0,11±0,01 <sup>b</sup>
<b>D3</b>	/	0,10±0,01 <sup>a,b</sup>	0,14±0,01 <sup>b</sup>
<b>JD1</b>	/	0,06±0,01 <sup>b</sup>	0,14±0,01 <sup>b</sup>
<b>JD2</b>	/	0,07±0,01 <sup>b</sup>	0,11±0,01 <sup>b</sup>
<b>JD3</b>	/	0,08±0,01 <sup>a,b</sup>	0,11±0,01 <sup>b</sup>
<b>KD1</b>	/	0,17±0,01 <sup>a,b</sup>	0,16±0,01 <sup>b</sup>
<b>KD2</b>	/	0,58±0,03 <sup>a</sup>	0,21±0,02 <sup>b</sup>
<b>KD3</b>	/	0,45±0,03 <sup>a,b</sup>	0,16±0,01 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju (p<0,05), prema Tukey-evom HSD testu.

U bezalkoholnim pićima kempferol nije pronađen ili je pronađen u tragovima (tabela 55). Pod dejstvom stresa u biljnim ćelijama se potencira sinteza flavonoida sa većim stepenom hidroksilacije (kvercetin nasuprot kempferolu) odnosno većim



antioksidantnim potencijalom (Gould i Lister, 2006), pa ovo može biti razlog niskog sadržaja kempferola u proizvedenim sokovima, ekstraktima i pićima.

Flavonol kvercetin je najaktivniji flavonoid. Mnoge lekovite biljke ispoljavaju svoje aktivnosti zahvaljujući visokom sadržaju kvercetina. Dokazana je značajna antiinflamatorna aktivnost kvercetina usled direktne inhibicije početnih upalnih procesa, antioksidativna aktivnost, kao i antitumorska svojstva kvercetina uključujući inhibiciju ćelija raka proliferaciju i migraciju (Lim et al., 2007), a takođe su pokazani pozitivni efekti kvercetina na prostatu, bolesti srca, kataraktu, alergije, bronhitis i astmu (Janićijević et al., 2007). Sadržaj kvercetina bio je visok kod proizvedenih enzimiranih sokova borovnice, maline i kupine (tabela 22), a takođe izuzetno visoke koncentracije kvercetina pronađene su u kombinacijama ekstrakata K2, K1 i K3, respektivno (tabela 33). Sadržaj kvercetina detektovan u bezalkoholnim pićima prikazan je u tabeli 56.

Tabela 56. Sadržaj kvercetina u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Kvercetin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	11,20±0,62 <sup>a</sup>	93,37±1,02 <sup>e</sup>	5,10±0,09 <sup>d</sup>
<b>D2</b>	/	130,18±2,49 <sup>d</sup>	5,75±0,07 <sup>d</sup>
<b>D3</b>	/	90,16±1,11 <sup>e</sup>	4,39±0,06 <sup>d</sup>
<b>JD1</b>	/	60,62±0,60 <sup>f</sup>	3,56±0,04 <sup>d</sup>
<b>JD2</b>	/	88,37±0,60 <sup>e</sup>	5,01±0,08 <sup>d</sup>
<b>JD3</b>	/	63,78±0,60 <sup>f</sup>	3,11±0,40 <sup>d</sup>
<b>KD1</b>	/	980,40±7,92 <sup>c</sup>	242,10±1,55 <sup>c</sup>
<b>KD2</b>	/	1800,72±18,93 <sup>a</sup>	536,98±3,87 <sup>a</sup>
<b>KD3</b>	/	1182,32±9,23 <sup>b</sup>	265,54±1,42 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

U pićima proizvedenim od enzimiranih sokova kvercetin je pronađen u mnogostruko višoj količini od one pronađene u pićima od pasterizovanih sokova. Dodavanjem biljnih ekstrakata pićima od enzimiranih sokova sadržaj kvercetina se povećao 16-20 puta, dok je ovaj sadržaj u uzorcima od pasterizovanih sokova bio čak 80-107 puta viši. Finalno piće KD2 dobijeno od enzimiranih sokova imalo je čak 1800 mg/l kvercetina (tabela 56).

Male količine miricetina pronađene su jedino kod sokova borovnice i crne ribizle (tabela 23). U ostalim uzorcima voćnih sokova i ekstrakata bilja, miricetin nije detektovan.

Sadržaj miricetina pronađen u finalnim bezalkoholnim pićima prikazan je u tabeli 57.

Tabela 57. Sadržaj miricetina u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Miricetin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
D1	/	65,76±1,24 <sup>e</sup>	/
D2	/	93,14±1,22 <sup>d</sup>	/
D3	/	101,34±1,77 <sup>d</sup>	/
JD1	/	43,76±0,50 <sup>f</sup>	/
JD2	/	62,55±0,22 <sup>e</sup>	/
JD3	/	71,71±0,64 <sup>e</sup>	/
KD1	87,12±1,04 <sup>a</sup>	659,08±5,61 <sup>c</sup>	240,36±2,08 <sup>c</sup>
KD2	/	901,56±8,33 <sup>b</sup>	314,42±2,57 <sup>b</sup>
KD3	52,06±0,49 <sup>b</sup>	973,54±7,01 <sup>a</sup>	410,04±3,94 <sup>a</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Miricetin nije pronađen kod voćnih mešavina dobijenih od hladno ceđenih i pasterizovanih sokova. Dodatkom ekstrakata u ove mešavine, pronađene su izuzetno visoke koncentracije miricetina, pogotovo kod uzoraka sa pasterizovanim i enzimiranim sokovima. Kod pića od enzimiranih sokova sadržaj miricetina značajno se povećao dodatkom ekstrakata (13-15 puta).

Sadržaj rutina je u dobroj korelaciji sa antioksidativnim potencijalom (Hinneburg i Neubert, 2005). Visoke vrednosti rutin je pokazao u voćnim sokovima crne i crvene ribizle i borovnice (tabela 24).

Tabela 58. Sadržaj rutina u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Rutin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
D1	/	29,31±0,92 <sup>e</sup>	40,93±1,18 <sup>d</sup>
D2	/	25,94±1,18 <sup>f</sup>	1,40±0,05 <sup>f</sup>
D3	1,20±0,02 <sup>b</sup>	36,89±0,40 <sup>d</sup>	1,26±0,04 <sup>f</sup>
JD1	/	20,11±0,13 <sup>g</sup>	22,95±0,63 <sup>e</sup>
JD2	/	16,40±0,08 <sup>h</sup>	22,88±0,18 <sup>e</sup>
JD3	1,16±0,02 <sup>b</sup>	25,41±0,19 <sup>f</sup>	25,08±0,17 <sup>e</sup>
KD1	/	136,66±1,44 <sup>c</sup>	131,54±1,10 <sup>c</sup>
KD2	/	166,02±1,38 <sup>b</sup>	191,90±1,95 <sup>a</sup>
KD3	6,01±0,06 <sup>a</sup>	189,48±1,46 <sup>a</sup>	174,86±1,63 <sup>b</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Izuzetno visoke vrednosti rutina pronađene su u kombinacijama ekstrakata K2 (25027,88 mg/l), K1 i K3 (tabela 33). Sadržaj rutina u bezalkoholnim pićima dat je u tabeli 58. Male količine rutina pronađene su jedino kod KD3 kombinacije dobijene od hladno ceđenih sokova. U finalnim kombinacijama pića od enzimiranih i pasterizovanih sokova dodatkom ekstrakata sadržaj rutina povećao se 7-10 puta.

Visok sadržaj katehina među uzorcima sokova detektovan je jedino u enzimiranom soku višnje (tabela 25), dok su sve tri kombinacije biljnih ekstrakata (K1, K3 i K2) pokazale visoke vrednosti katehina, respektivno (tabela 34). Sadržaj katehina u bezalkoholnim pićima prikazan je u tabeli 59.

Tabela 59. Sadržaj katehina u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Katehin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	2,37±0,04 <sup>d</sup>	5,05±0,21 <sup>e</sup>	2,30±0,07 <sup>d</sup>
<b>D2</b>	/	3,85±0,07 <sup>f</sup>	1,73±0,07 <sup>e</sup>
<b>D3</b>	/	6,05±0,06 <sup>d</sup>	/
<b>JD1</b>	/	4,72±0,07 <sup>e</sup>	/
<b>JD2</b>	/	3,40±0,02 <sup>f</sup>	/
<b>JD3</b>	1,95±0,04 <sup>e</sup>	4,98±0,06 <sup>e</sup>	/
<b>KD1</b>	22,05±0,16 <sup>b</sup>	33,58±0,35 <sup>b</sup>	30,41±0,29 <sup>b</sup>
<b>KD2</b>	13,75±0,13 <sup>c</sup>	24,96±0,32 <sup>c</sup>	25,36±0,11 <sup>c</sup>
<b>KD3</b>	22,79±0,21 <sup>a</sup>	38,42±0,36 <sup>a</sup>	34,30±0,28 <sup>a</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

U osnovnoj voćnoj mešavini dobijenoj mešanjem hladno ceđenih sokova, kao i onoj dobijenoj mešanjem pasterizovanih sokova, katehin ili nije pronađen ili su detektovane njegove veoma niske vrednosti. Međutim, dodavanjem biljnih ekstrakata u ove mešavine njegov sadržaj je porastao u svim uzorcima, tako da je njegova količina bila 7-7,5 puta viša kod uzoraka od enzimiranih sokova u odnosu na njihovu polaznu voćnu mešavinu. Moguće je da je ovo jedinjenje u proizvedenim uzorcima sokova bilo prisutno u obliku proantocijanidina, jer su na primer, u plodovima kupine i maline prisutni procijanidini (polimeri katehina), koji su inače odgovorni za osećaj astrigencije (osećaj oporosti) prilikom konzumiranja plodova voća, vina, čokolade, piva ili čaja (Đorđević, 2016).

Visok sadržaj epikatehina pokazali su enzimirani i pasterizovani voćni sokovi kupine i višnje (tabela 26), dok kod kombinacija ekstrakata K1, K2 i K3 nije detektovan epikatehin (tabela 34).

Sadržaj epikatehina u bezalkoholnim pićima dat je u tabeli 60.

Tabela 60. Sadržaj epikatehina u uzorcima bezalkoholnih pića

Kombinacije bezalkoholnih pića	Epikatehin (mg/l)		
	I postupak	II postupak	III postupak
<b>D1</b>	4,54±0,05 <sup>c</sup>	0,38±0,02 <sup>b,c</sup>	24,88±0,53 <sup>a</sup>
<b>D2</b>	6,84±0,06 <sup>c</sup>	0,38±0,03 <sup>b,c</sup>	21,03±0,86 <sup>b</sup>
<b>D3</b>	11,08±0,09 <sup>b</sup>	0,43±0,02 <sup>b</sup>	20,96±0,91 <sup>b</sup>
<b>JD1</b>	3,69±0,08 <sup>f</sup>	0,31±0,01 <sup>c</sup>	19,48±0,11 <sup>c</sup>
<b>JD2</b>	5,58±0,05 <sup>d</sup>	0,33±0,04 <sup>b,c</sup>	19,01±0,19 <sup>c</sup>
<b>JD3</b>	15,01±0,11 <sup>a</sup>	0,34±0,02 <sup>b,c</sup>	16,72±0,06 <sup>d</sup>
<b>KD1</b>	/	0,90±0,08 <sup>a</sup>	1,00±0,02 <sup>e</sup>
<b>KD2</b>	/	1,00±0,03 <sup>a</sup>	1,02±0,02 <sup>e</sup>
<b>KD3</b>	/	0,99±0,02 <sup>a</sup>	0,95±0,04 <sup>e</sup>

Prikazane vrednosti u tabeli date su u obliku srednja vrednost ± standardna devijacija (n=3)

\*Vrednosti obeležene različitim slovima u istoj koloni se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ), prema Tukey-evom HSD testu.

Epikatehin u finalnim bezalkoholnim pićima nije pronađen ili je pronađen u tragovima (tabela 60), dok je u mešavinama voćnih sokova dobijenim od hladno ceđenih i pasterizovanih sokova pronađen u veoma maloj količini. Kod pića od pasterizovanih sokova dodavanjem ekstrakata zapaženo je smanjenje njegovog sadržaja i to 17-20 puta.

Iako je posle dodavanja ekstrakata u mešavine sokova sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana ostao gotovo nepromenjen (tabele 40-42), dobijena bezalkoholna pića pokazala su u većini slučajeva višestruko povećanje sadržaja pojedinačnih fenola (tabele 47-60), kao i značajan porast antioksidativnog kapaciteta (tabele 43-45).

Bezalkoholna pića od pasterizovanih sokova (III postupak) u najvećem broju slučajeva su pokazala višestruko niži sadržaj fenolnih jedinjenja u odnosu na pića od enzimiranih sokova (II postupak) (slike 1.19 – 1.21), ali ne i antioksidativnog kapaciteta (tabele 43-45).

Dobijeni sadržaj fenolnih jedinjenja u finalnim kombinacijama bio je dosta raznolik.

Tako su u bezalkoholnom piću KD1 ("Fit") od enzimiranih sokova (II postupak) zabeležene najviše vrednosti fenolnih jedinjenja – kvercetina (980,40 mg/l) i miricetina (659,08 mg/l), hlorogenske kiseline i rutina (slika 19). U pasterizovanom soku KD1 pronađene su visoke vrednosti miricetina (242,10 mg/l) i kvercetina (240,36 mg/l),

hlorogenske kiseline (231,86 mg/l), rutina. Hladno ceđeni sok KD1 ističe se visokim vrednostima miricetina 87,12 mg/l.

Kod pića KD2 (“Kardio”) od enzimiranih sokova (slika 20) detektovan je izuzetno visok sadržaj kvercetina od 1800,72 mg/l i miricetina 901,56 mg/l, kofeinske kiseline, rutina, hlorogenske kiseline, *p*-kumarinske, galne i protokatehinske kiseline. Takođe, su u piću KD2 od pasterizovanih sokova u visokim koncentracijama pronađeni kvercetin – 536,98 mg/l i miricetin – 314,42 mg/l, hlorogenska kiselina – 302,26 mg/l i rutin.

Piće KD3 (“Imuno”) dobijeno od enzimiranih sokova (slika 21) pokazalo je visoke vrednosti sadržaja kvercetina od 1182,32 mg/l i miricetina 973,546 mg/l, rutina, hlorogenske, kofeinske, *p*-kumarinske, galne, kiseline i katehina. Izuzetno visoke vrednosti u piću KD3 od pasterizovanih sokova pokazali su miricetin (410,04 mg/l), kvercetin (265,54 mg/l), hlorogenska kiselina (292,88 mg/l), rutin. Kod pića KD3 od hladno ceđenih sokova detektovan je visok sadržaj miricetina i hlorogenske kiseline.

### 5.2.9. Senzorna analiza bezalkoholnih pića (finalnih kombinacija)

Senzorna analiza pokazala je da su najbolje ocenjene kombinacije bezalkoholnih pića dobijene od enzimiranih sokova (II postupak), zatim od pasterizovanih (III postupak), i na kraju od hladno ceđenih sokova (I postupak) (tabela 61).

Najbolje ocenjeni uzorak bio je piće KD1 dobijeno od enzimiranih sokova, sa potencijalno povoljnim dejstvom na ubrzanje metabolizma i redukciju telesne težine, sa ponderisanom srednjom vrednosti ocene od 4,70, odnosno ukupnom ocenom 94% od maksimalno mogućeg kvaliteta. Za ovaj uzorak dobijene su i najbolje vrednosti svih pokazatelja kvaliteta.

Aroma, kao parametar kvaliteta, generalno je najbolje ocenjena kod bezalkoholnih pića proizvedenih od hladno ceđenih sokova. Termički tretmani, primenjeni kod ostala dva postupka, najverovatnije su uticali na aromatske sastojke voćnih sokova. Zahvaljujući lakoisparljivoj aromi jagode, koja je sačuvana u KD1 kombinaciji I postupka, aroma ovog uzorka najbolje je ocenjena.

Ipak ukus ove kombinacije dobio je značajno niže vrednosti u odnosu na istu kombinaciju proizvedenu od enzimiranih sokova, koja je dobila najvišu ocenu. Ukus svih enzimiranih i pasterizovanih kombinacija odlikovao se visokim vrednostima ovog

parametra kvaliteta. Boja bezalkoholnih pića bila je značajno bolja kod enzimiranih i pasterizovanih sokova, u odnosu na hladno ceđene. Ovo se i moglo očekivati, jer je enzimiranje uslovalo bolju ekstrakciju bojenih materija iz ćelija voća, a termički tretman primenjen pre enzimiranja uticao na inaktivaciju enzima, posebno polifenoloksidaze (odgovorne za potamnivanje namirnica), pa je dobijena bolja obojenost voćnih sokova, a time i finalnih bezalkoholnih pića. Mutnoća je dobila značajno niže vrednosti kod hladno ceđenih sokova, zbog čestica koje su bile prisutne u sokovima i koje su se taložile. Bezalkoholna pića dobijena od enzimiranih i pasterizovanih sokova bila su stabilnija, sa fino dispergovanim česticama koje nisu imale veliku tendenciju ka taloženju. Eventualno prisutan minimalan talog, poreklom od voća, nestajao je pri blagom mešanju, ovih uzoraka.

Značajno bolje vrednosti pokazatelja kvaliteta dobila su sva tri bezalkoholna pića od enzimiranih sokova, kao i piće KD3 od pasterizovanih sokova (III postupak). Ovo piće od pasterizovanih sokova KD3, sa potencijalnim imunostimulativnim dejstvom, najbolje je ocenjeno među pićima dobijenih od pasterizovanih sokova, sa ukupnom ocenom 87,1% od maksimalno mogućeg kvaliteta.

Može se zaključiti da se vrednosti parametara kvaliteta ukusa, arome i boje bezalkoholnih pića dobijenih od pasterizovanih i enzimiranih sokova nisu statistički značajno razlikovali (tabela 61).

Na osnovu ukupnih rezultata senzorne analize ispitivanih uzoraka moglo bi se zaključiti da su proizvedeni uzorci ocenjeni kao izuzetno prihvatljivi, zbog čega se može pretpostaviti da bi se oni mogli uspešno proizvoditi u industrijskim uslovima i plasirati na tržište kao funkcionalni proizvodi sa dodatnom vrednošću.

Tabela 61. Ocena pokazatelja kvaliteta senzornom analizom

Finalni proizvod	Postupak	Pokazatelji kvaliteta								Ukupna ocena <sup>b</sup>	Sr.vr. ocene <sup>c</sup>
		Ukus <sup>a</sup>		Aroma		Boja		Mutnoća			
KD1	I	28,0 ± 2,8	c	20,0 ± 0,0	a	17,5 ± 1,8	b	9,3 ± 0,7	d	74,8	3,7
	II	36,0 ± 2,8	a	18,0 ± 1,4	ab	25,0 ± 0,0	a	15,0 ± 0,0	a	94,0	4,7
	III	32,8 ± 1,8	abc	16,0 ± 1,4	b	22,5 ± 1,8	a	13,5 ± 1,1	b	84,8	4,2
KD2	I	29,6 ± 2,2	bc	18,0 ± 1,4	ab	17,5 ± 1,8	b	9,3 ± 0,7	d	74,4	3,7
	II	36,0 ± 2,8	a	16,0 ± 1,4	b	25,0 ± 0,0	a	15,0 ± 0,0	a	92,0	4,6
	III	33,6 ± 2,2	ab	16,0 ± 1,4	b	22,5 ± 1,8	a	13,5 ± 1,1	b	85,6	4,3
KD3	I	36,0 ± 2,8	a	18,8 ± 1,1	a	18,0 ± 1,1	b	12,0 ± 1,1	c	84,8	4,2
	II	32,0 ± 2,8	abc	18,0 ± 1,4	ab	25,0 ± 0,0	a	15,0 ± 0,0	a	90,0	4,5
	III	32,0 ± 2,8	abc	17,6 ± 0,9	ab	22,5 ± 1,8	a	15,0 ± 0,0	a	87,1	4,4

<sup>a</sup> aritm. sredine označene različitim slovima statistički se razlikuju na osnovu Takijevog testa (Tukey's HSD) na nivou P<0.05

<sup>b</sup> procenat (%) od maksimalno mogućeg kvaliteta, zbir aritmetičkih sredina pokazatelja kvaliteta

<sup>c</sup> ponderisana aritmetička sredina ocene

## 6. ZAKLJUČAK

U skladu sa postavljenim ciljevima i na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Za proizvodnju voćnih sokova, koji su predstavljali osnovu finalnih bezalkoholnih pića visoke antioksidativnosti, izabrane su sledeće voćne vrste: jagoda, malina, kupina, borovnica, višnja, crvena i crna ribizla.
2. Sadržaj rastvorljive suve materije dobijenih voćnih sokova kretao se od 8,5% do 18,5%, a pH vrednosti od 2,27 do 3,46. Zbog izražene kiselosti, u daljoj proizvodnji finalnih pića bilo je neophodno izvršiti korekciju slasti.
3. Voćni sokovi su proizvedeni primenom tri različita tehnološka postupka: ceđenje voćnog kljuka na sobnoj temperaturi (I postupak), ceđenje enzimiranog voćnog kljuka na povišenoj temperaturi (II postupak) i ceđenje enzimiranog voćnog kljuka na povišenoj temperaturi i pasterizacija (III postupak). Primenjeni tehnološki tretmani su na različite načine uticali na sadržaj ukupnih monomernih antocijana, flavonoida i polifenola. Najveći sadržaj ispitivanih aktivnih jedinjenja utvrđen je kod enzimiranih (II postupak), a najniži kod hladno ceđenih voćnih sokova (I postupak).
4. Primena povišenih temperatura i enzimskog tretmana kod II postupka doprineli su lakšem ceđenju, intenzivnijoj obojenosti, kao i većem sadržaju fenolnih jedinjenja i antioksidativnom kapacitetu ovih voćnih sokova u odnosu na neenzimirane sokove ceđene na sobnoj temperaturi (I postupak).
5. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana u analiziranim sokovima bio je najveći kod enzimiranih i pasterizovanih sokova crne ribizle (3456,67 mg CGE/l i 3200,62 mg CGE/l, respektivno). Enzimirani i pasterizovani sokovi crne ribizle imali su i najveći sadržaj ukupnih polifenola (6397,13 mg GAE/l i 6379,51 mg GAE/l, respektivno), a najveći sadržaj ukupnih flavonoida zabeležen kod enzimiranih i pasterizovanih sokova borovnice (3927,50 mg QUE/l i 3285,83 mg QUE/l, respektivno) i neznatno manje kod crne ribizle.



6. Najveći antioksidativni kapacitet, izmeren je kod enzimiranih sokova, i to kod soka crne ribizle, a vrednosti dobijene korišćenjem DPPH metode (izražene preko Trolox ekvivalenta i IC50 vrednosti), kao i FRAP metode iznosile su: 45,22 mmol TE/l, 4,13  $\mu$ l/ml i 118,89 mmol Fe (II)/l, respektivno. Za pasterizovani sok crne ribizle ove vrednosti su bile značajno niže. U odnosu na vitamin C značajno slabiji kapacitet, izražen kao IC50 vrednost, imali su jedino hladno ceđeni sokovi jagode i borovnice. Ostali hladno ceđeni, i svi enzimirani kao i pasterizovani sokovi imali su značajno bolju antioksidativnost od vitamina C. Pasterizovani sok crne ribizle pokazao je 7, a enzimirani čak 10 puta jači antioksidativni kapacitet u odnosu na vitamin C.
7. LC/MS analizom izvršena je kvantifikacija fenolnih jedinjenja u analiziranim sokovima. Voćni sokovi jagode pokazali su značajan sadržaj *p*-kumarinske, elaginske i galne kiseline, u sokovima maline dominirale su elaginska, kofeinska kiselina i kvercetin, kupine - epikatehin, *p*-kumarinska i galna kiselina, višnje - hlorogenska, kofeinska, *p*-kumarinska kiselina, epikatehin i rutin, borovnice - hlorogenska, kofeinska, *p*-kumarinska kiselina i kvercetin, crvene ribizle - rutin, crne ribizle - takođe rutin, ali i kofeinska i galna kiselina. Identifikovana i kvantifikovana fenolna jedinjenja su potvrdila visok antioksidativni kapaciteta ispitivanih sokova.
8. Za proizvodnju potencijalno funkcionalnih bezalkoholnih pića sa ciljanim dejstvima na ubrzanje metabolizma koje dovodi do smanjenja telesne težine, zaštitu kardiovaskularnog sistema i jačanje otpornosti organizma, eksperimentalno su proizvedeni ekstrakti različitog lekovitog i aromatičnog bilja, metodom perkolacije uz primenu 50% vodeno-etanolnog rastvora kao ekstragensa. Za postizanje pomenutih zdravstvenih efekata na zdravlje potencijalnih potrošača, izabrane su sledeće biljne vrste: kopriva, šipurak, matičnjak, aronija, ehinacea, kamilica, zova, rastavić, heljda, japanski bagrem, srdačica, grčko seme, trava iva i majkina dušica.

9. Od izabranog lekovitog i aromatičnog bilja, najviši antioksidativni potencijal pokazali su ekstrakti herbe trave ive, ploda šipurka i herbe matičnjaka (čak 2-4,5 puta više od enzimiranog soka crne ribizle). Međutim, ekstrakt herbe trave ive, zbog izražene gorčine, nije mogao biti dodavan u formulisana bezalkoholna pića u visokoj koncentraciji. Ali ekstrakti plodova aronije i šipurka, lista koprive koprive i herbe matičnjaka pokazali su se izuzetno kompatibilno sa mešavinama voćnih sokova, pa su, a i zbog svojih profilaktičnih svojstava, bili zastupljeni u višim procentima u finalnim pićima.
10. Sadržaj fenolnih jedinjenja ispitivanih biljnih ekstrakata bio je izuzetno visok. U ekstraktima cveta zove i kamilice, lista koprive, herbe rastavića i ploda aronije kvantifikovane su visoke vrednosti hlorogenske kiseline. Kod ekstrakta ploda šipurka dominirala je elaginska kiselina, ekstrakata herbe matičnjaka i majkine dušice - kofeinska kiselina. U ekstraktima herbe heljde, srdačice, ehinacee i trave ive rutin je bio dominantno fenolno jedinjenje. Ekstrakt japanskog bagrema isticao se sadržajem kvercetina i rutina. Pored ovih dominantnih, u ekstraktima je detektovan i visok sadržaj drugih fenolnih jedinjenja, što ukazuje na to da bi njihova primena mogla imati izuzetno povoljno fiziološko dejstvo na zdravlje potrošača.
11. Za dalju formulaciju finalnog pića, proizvedene su tri osnovne mešavine odabranih biljnih ekstrakata sa potencijalnim efektima na: ubrzanje metabolizma i smanjenje telesne težine (K1), u čiji sastav ulaze ekstrakti šipurka, ploda aronije, herbe rastavića, matičnjaka, koprive, cveta kamilice, zove; zaštiti kardiovaskularnog sistema (K2), koju sačinjavaju ekstrakti herbe heljde, cveta japanskog bagrema, ploda aronije i šipurka, lista koprive, srdačice i, matičnjaka i jačanju otpornosti organizma (K3), dobijene od ekstrakata ploda aronije, I šipurka, lista koprive, herbe ehinacee, grčkog semena, trave ive, i majkine dušice. Odabrane kombinacije biljnih ekstrakata isticale su se visokim sadržajem fenolnih jedinjenja i antioksidativnim potencijalom (u rangu enzimiranog soka crne ribizle). Najviši sadržaj rutina imala je kombinacija K2 (25027,88 mg/l), inače bogata ekstraktom herbe heljde, koji je izuzetno bogat izvor rutina.

12. Korekcija izražene kiselosti proizvedenih D kombinacija (kombinacije voćnih sokova) je korigovana dodatkom soka jabuke, u količini od 30 %, tako da su dobijane JD kombinacije. Analizom novodobijenih mešavina je utvrđeno da je dodatak soka jabuke značajno uticao na smanjenje njihovog antioksidativnog kapaciteta, kao i ostalih funkcionalnih pokazatelja.
13. Dodatak od 0,6% odgovarajućih K kombinacija biljnih ekstrakata u JD mešavine voćnih sokova je različito uticao na antioksidativni potencijal dobijenih finalnih proizvoda. Vrednosti antioksidativnog potencijala finalnih bezalkoholnih pića kretale su se u granicama od 23,30 do 52,61mmol Fe (II)/l (FRAP metoda). DPPH metodom dobijene su vrednosti od 7,58 do 22,43 mmol TE/l, odnosno IC50 vrednosti od 37,43 do 7,50  $\mu$ l/ml, pa se može zaključiti da je antioksidativni kapacitet ovih bezalkoholnih pića bio izuzetno visok, u poređenju sa drugom sličnom hranom i pićima.
14. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana bio u statistički slaboj korelaciji jedino sa sadržajem ukupnih flavonoida, kao i sa IC50 vrednostima DPPH testa. Sa ostalim hemijskim pokazateljima nije postojala korelacija, pa se može zaključiti da sadržaj monomernih antocijana nije u značajnoj meri doprineo vrednostima ukupnih flavonoida. Ovo se može objasniti činjenicom da su u ove analize uključeni rezultati ukupnih monomernih antocijana svih ispitivanih uzoraka (voćnih sokova, biljnih ekstrakata i finalnih proizvoda), pa je do ovog smanjenja uticaja antocijana na sadržaj flavonoida moglo doći zbog njihove manje količine u biljnim ekstraktima u odnosu na sokove (izuzev kod ekstrakta aronije). Takođe, u uzorcima, a posebno ekstraktima je bio prisutan izuzetno visok sadržaj drugih jedinjenja iz klase flavonoida, pored antocijana, pa su oni doprinosili sadržaju ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola, i na taj način uticali na smanjenje uticaja antocijana. Sa druge strane, sadržaj ukupnih flavonoida i sadržaj ukupnih polifenola pokazali su visoku međusobnu korelisanost ( $r=0,924$ ), što pokazuje da je sadržaj ukupnih flavonoida značajno uticao na sadržaj ukupnih polifenola.

15. Takođe, može se zaključiti da je na antioksidativni kapacitet uzoraka značajno uticao sadržaj ukupnih flavonoida i ukupnih polifenola, što se i moglo očekivati, s obzirom na to da su flavonoidi i ostala polifenolna jedinjenja kao najzastupljeniji biološki aktivni sekundarni metaboliti biljaka, najviše odgovorni za visoku antioksidativnost. Generalno se može zaključiti da su primenjene metode za određivanje antioksidativnosti bili u međusobnoj statistički veoma značajnoj korelaciji, posebno FRAP i DPPH (Trolox) metode ( $r=0,921$ ). Ovi rezultati ukazuju na to da se ove metode mogu uspešno primenjivati za određivanje antioksidativnog kapaciteta voćnih sokova i ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja.
16. Evidentan je izuzetan uticaj korišćenih ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja na sadržaj flavonoida i fenolnih kiselina u finalnim bezalkoholnim pićima, iako su dodavani u malim količinama (0,6%). Najviše vrednosti sadržaja dominantnog kvercetina pronađene su u kombinacijama u kojima su primenjeni enzimirani sokovi, i to u kombinaciji KD1 980,40 mg/l, KD2 1800,72 mg/l, i KD3 1182,32 mg/l. Takođe, u ovim pićima su pronađene izuzetno visoke vrednosti i miricetina, rutina, hlorogenske, kofeinske i *p*-kumarinske kiseline.
17. U finalnim bezalkoholnim pićima u kojima su dodavani sokovi dobijeni primenom povišenih temperatura i enzimiranjem, dobijene su višestruko više vrednosti u sadržaju ukupnih monomernih antocijana (3-4 puta), ukupnih flavonoida (oko 2,5 puta), ukupnih polifenola (1-2 puta) i antioksidativnog kapaciteta (u proseku 2-4 puta), u odnosu na uzorke finalnih pića u kojima su primenjeni neenzimirani hladno ceđeni sokovi.
18. U finalnim bezalkoholnim pićima u kojima su primenjeni sokovi dobijeni pasterizacijom enzimiranih sokova, takođe su dobijene višestruko više vrednosti sadržaja ukupnih monomernih antocijana (3-3,5 puta), ukupnih flavonoida (oko 2,5 puta) i ukupnih polifenola (1-2 puta), kao i antioksidativnog kapaciteta (2-3,5 puta), u odnosu na uzorke u kojima su primenjeni neenzimirani hladno ceđeni sokovi.

19. Analizom fenolnih jedinjenja utvrđeno je da je u finalnim pićima proizvedenim od pasterizovanih enzimiranih sokova pronađen 2-5 puta niži sadržaj kvercetina i miricetina u odnosu na pića dobijena od istih enzimiranih nepasterizovanih sokova. Međutim, i pored primenjenog termičkog tretmana, može se zaključiti da je sadržaj kvercetina, miricetina, hlorogenske kiseline i rutina, kod ovih uzoraka bio efektivan.
20. Sa aspekta potencijalne proizvodnje dobijenih finalnih bezalkoholnih pića u industrijskim uslovima, pića proizvedena od enzimiranih pasterizovanih sokova bi predstavljala najbolji izbor. Postupak enzimiranja bi mogao omogućiti olakšano ceđenje, povećanje randmana i ekstrakciju bioaktivnih komponenata, koje bi doprinele antioksidativnom kapacitetu i obojenosti soka (antocijani), dok bi postupak pasterizacije omogućio mikrobiološku stabilnost gotovog proizvoda.
21. Senzorna analiza je pokazala da su najbolje ocenjene kombinacije bezalkoholnih pića dobijene kod uzoraka gde su korišćeni enzimirani sokovi, zatim pasterizovani i na kraju hladno ceđeni. Najbolje ocenjeni uzorak bilo je piće sa primenjenim sokovima dobijenim postupkom enzimiranja, sa potencijalno povoljnim dejstvom na metabolizam i redukciju telesne težine, koje je dobilo ponderisanu srednju vrednost ocene od 4,70 odnosno ukupnu ocenu 94% od maksimalno mogućeg kvaliteta. Najbolje ocenjeno piće dobijeno primenom pasterizovanih sokova je bilo bezalkoholno piće sa potencijalnim delovanjem na jačanje organizma, sa ukupnom ocenom 87,1% od maksimalno mogućeg kvaliteta. Može se zaključiti da se vrednosti parametara kvaliteta, ukusa, arome i boje, između finalnih uzoraka dobijenih od pasterizovanih i enzimiranih sokova nisu statistički značajno razlikovale.
22. Generalno, može se zaključiti da su za proizvedena finalna bezalkoholna pića sa potencijalnim ciljanim delovanjem na očuvanju dobrog zdravlja potrošača, dobijene visoke vrednosti sadržaja bioaktivnih materija (*in vitro*) i antioksidativnog kapaciteta. Dalja istraživanja bi trebalo usmeriti u pravcu *in vivo* istraživanja, na ciljana fiziološka dejstva, kako bi se sa sigurnošću mogao istaći njihov pozitivan efekat na zdravlje potencijalnih potrošača.

## 7. LITERATURA

1. Aalto, T.R, Rigler, N.E., Firman, M.C. (1953): p-Hydroxybenzoic acid esters as preservatives. I. Uses, antibacterial and antifungal studies, properties and determination. *Journal of the American Pharmaceutical Association* 42: 449-457.
2. Abdullah, A.G.L., Sulaiman, N.M., Aroua, M.K., Noor, M.M.J.M. (2007): Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. *Journal of Food Engineering* 81: 65-71.
3. Aguirre, M.J., Chen, Y.Y., Isaacs, M., Matsuhira, B. Mendoza L., Torres, S. (2010): *Food Chemistry* 121: 44-48.
4. Alberte, R.S., Roschek, W.P., Li, D. (2010): Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Extracts from Nettle. US Patent Application 12/502, 543.
5. Ahmadiani, A., Javan, M., Semnanian, S., Barat, E., Kamalinejad, M. (2001): Anti-inflammatory and antipyretic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaves extract in the rat. *Journal of Ethnopharmacology* 75(2-3): 283-286.
6. Alfadda, A.A., Sallam, R.M. (2012): Reactive oxygen species in health and disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Epub ID 936486, 14 pp.
7. Amakura, Y, Umino, T, Tsuji, S, Tonogai, Y. (2000): Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(12): 6292-6297.
8. Ananga, A., Georgiev, V., Ochieng, J., Phills, B., Tsovala, V. (2013): Production of anthocyanins in grape cell cultures: A potential source of raw material for pharmaceutical, food, and cosmetic industries. In: Sladonja, B., Poljuha, D. (Eds.), *The Mediterranean Genetic Code—Grapevine and Olive*, InTech, Rijeka, pp. 247-287.
9. Armatu, A., Colceru, S., Bubueance, C., Draghici, E., Pirvu, L. (2010): Evaluation of antioxidant and free scavenging potential of some Lamiaceae species growing in Romania. *Romanian Biotechnological Letters* 15 (3): 5274-5280.

10. Arts, I.C.W., van de Putte, B., Hollman, P.C.H. (2000): Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands, 1. Fruits, vegetables, staple food, and processed foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1746-1751.
11. Ateeq-ur-Rehman, Mannan, A., Inayatullah, S., Akhtar, M.Z., Qayyum, M., Mirza, B. (2009): Biological evaluation of wild thyme (*Thymus serpyllum*). *Pharmaceutical Biology* 47(7): 628-633.
12. Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. (2005): Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry* 89: 27-36.
13. Bakkalbasi, E., Menten, Ö., Artik, N. (2009): Food ellagitannins - occurrence, effects of processing and storage. *Food Science and Nutrition* 49(3): 283-298.
14. Bakowska-Barczak, A.M., Kolodziejczyk, P.P. (2011): Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products* 34: 1301-1309.
15. Bazzano, L.A., He, J., Ogden, L.G., Loria, C.M., Vupputuri, S., Myers, L., Whelton, P.K. (2002): Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first national health and nutrition examination survey epidemiologic follow-up study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 76: 93-99.
16. Beattie, J., Crozier, A., Duthie, G.G. (2005): Potential health benefits of berries. *Current Nutrition and Food Science* 1: 71-86.
17. Becker, E. M., Nissen, L. R., Skibsted, L. H. (2004): Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology* 219: 561-571.
18. Beekwilder, J., Jonker, H., Meesters, P., Hall, R.D., Van de Meer, I.M., Ric de Vos, C.H. (2005): Antioxidants in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 3313-3320.
19. Bengoechea, M.L., Sancho, A.I., Bartolome, B., Estrella, I. Gómez-Cordovés, C., Hernández, M.T. (1997): *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 4071-4075.

20. Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M., Bertelli, D. (2004): Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Science* 69(3): 164-169.
21. Bermúdez-Soto, M. J., Tomás-Barberán, F. A. (2004): Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *European Food Research and Technology* 219: 133-141.
22. Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
23. Bolkent, S., Yanardag, R., Karabulut-Bulan, O., Yesilyaprak, B. (2005): Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: A morphological and biochemical study, *Journal of Ethnopharmacology* 99 (3): 391-398.
24. Bonani, M., Andreoli, G., Granelli, G., Eccher, T., Tateo, F. (2006): „Cyanidin volumetric index“ and „chromaticity coordinates ratio“ to characterize red raspberry (*Rubus idaeus*). *International Journal of Food Science and Nutrition* 57(5-6): 369-375.
25. Bordonaba, J.G., Terry, L.A. (2008): Biochemical profiling and chemometric analysis of seventeen UK-grown black currant cultivars (*Ribes nigrum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(16): 7422-7430.
26. Bordonaba, J.G., Terry, L.A. (2012): Electrochemical behaviour of polyphenol rich fruit juices using disposable screen-printed carbon electrodes: Towards a rapid sensor for antioxidant capacity and individual antioxidants. *Talanta* 90: 38-45.
27. Borges, G., Degeneve, A., Mullen, W., & Crozier, A. (2009): Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 3901-3909.
28. Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhar, Z., Kilar, F., Felinger, A. (2010): Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. 1217: 7972-7980.



29. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995): Use of the radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 28: 25-30.
30. Bravo, L. (1998): Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11): 317-333.
31. Brenchley, J.M., Price, D.A., Schacker, T.W., Asher, T.E., Silvestri, G., Rao, S., Kazzaz, Z., Bornstein, E., Lambotte, O., Altmann, D., Blazar, B.R., Rodriguez, B., Teixeira-Johnson, L., Landay, A., Martin, J.N., Hecht, F.M., Picker, L.J., Lederman, M.M., Deeks S.G., Douek D.C. (2006): Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature Medicine* 12: 1365-1371.
32. Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 10(4): 221-247.
33. Bub, A., Watzl, B., Blockhaus, M., Briviba, K., Liegibel, U., Müller, H., Pool-Zobel, B.L., Rechkemmer, G. (2003): Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 14: 90-98.
34. Buchert, J., Koponen, J.M., Suutarinen, M., Mustranta, A., Lille, M., Torronen, R., Poutanen, K. (2005): Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 2548-2556.
35. Bukvić B. (1988): Prilog poznavanju bojjenih materija u grožđu i soku nekih sorti vinove loze tipa bojadisera. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
36. Cai, Y.Z., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. (2004): Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences* 74: 2157–2184.
37. Čanadanović-Brunet, J. (1998): Kiseonikovi slobodni radikali i prirodni antioksidanti, Zadužbina Andrejević, Beograd.

38. Čanadanović-Brunet, J.M., Četković, G.S., Djilas, S.M., Tumbas, V.T., Savatović, S.S., Mandić, A.I., Markov, S.L., Cvetković, D.D. (2009): Radical scavenging and antimicrobial activity of horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts. *International Journal of Food Science and Technology* 44(2): 269-278.
39. Cassidy, A., O'Reilly, É.J., Kay, C., Sampson, L., Franz, M., Forman, J.P., Curhan, G., Rimm, E.B. (2011): Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 93: 338-347.
40. Castrejón, A.D.R., Eichholz, I., Rohn, S., Kroh, L.W., Huyskens-Keil, S. (2008): Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. *Food Chemistry* 109(3): 564-572.
41. Cavanna, M., Beccaro, G. L., Bounous, G. (2008): Antioxidant compounds in *Ribes* spp. Cultivars grown in Piemonte (Italy). *Workshop on Bioactive Compounds in Berry Fruits: Genetic Control, Breeding, Cultivar, Analytical Aspects and Human Health*. Zurich, Switzerland, 21.
42. Četojević-Simin, D.D., Čanadanović-Brunet, J.M., Bogdanović, G.M., Djilas, S.M., Četković, G.S., Tumbas, V.T., Stojiljković, B.T. (2010): Antioxidative and antiproliferative activities of different horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts. *Journal of Medicinal Food* 13(2): 452-459.
43. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C. (2002): Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
44. Chaovanalikit, A., Wrolstad, R. E. (2004a): Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. *Journal of Food Science* 69(1): FCT73-FCT83.
45. Chaovanalikit, A., Wrolstad, R. E. (2004b): Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *Journal of Food Science* 69(1): FCT67-FCT72.
46. Chen, H.-N., Hsieh, C.-L. (2010): Effects of *Sophora japonica* flowers (Huaihua) on cerebral infarction. *Chinese Medicine* 5: 34  
<http://www.cmjournal.org/content/5/1/34>

47. Christensen, S., Riis, A., Norgaard, M., Sørensen, H.T., Thomsen, R.W. (2007): Short-term mortality after perforated or bleeding peptic ulcer among elderly patients: a population-based cohort study. *BMC Geriatrics* 7: 8-15.
48. Cho, M.J., Howard, L.R., Prior, R.L., Clark, J.R. (2004): Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84: 1771-1782.
49. Cho, J.M., Howard, R.L., Prior, L.R., Clark, R.J. (2005): Flavonol glycosides and antioxidant capacity of various blackberry and blueberry genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 85: 2149-2158.
50. Chrubasik, C., Maier, T., Dawid, C., Torda, T., Schieber, A., Hofmann, T., Chrubasik, S. (2008): An observational study and quantification of the actives in a supplement with *Sambucus nigra* and *Asparagus officinalis* used for weight reduction. *Phytotherapy Research* 22: 913-918.
51. Ciocoiu, M., Badescu, L., Miron, A., Badescu, M. (2013): The involvement of a polyphenol-rich extract of black chokeberry in oxidative stress on experimental arterial hypertension. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp. 8. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/912769>
52. Cordenunsi, B.R., Genovese, M.I., João, R.S., Hassimotto, N.A., Santos, R.J., Lajolo F. M. (2005): Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chemistry* 91(1): 113-121.
53. Cosgrove, D. J. (2005): Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6: 850-861.
54. Cotelle, N. (2001): Role of flavonoids in oxidative stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1(6): 569-590.
55. Crespo, P., Bordonaba, J.G., Terry, L.A., Carlen, C. (2010): Characterisation of major taste and health-related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites. *Food Chemistry* 122: 16-24.

56. Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N. (2006): Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. In: Crozier, A., Clifford, M.N., Ashi, H., (Eds.), Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Blackwell Publishing Ltd., UK, pp: 1-25.
57. Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1992): Comparison of the antioxidative activity of some acidphenols: structure-activity relationship. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 56: 324-327.
58. Da Silva Pinto, M., Kwon, Y.I., Apostolidis, E., Lajolo, F.M., Genovese, M I., Shetty, K. (2008): Functionality of bioactive compounds in Brazilian strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivars: evaluation of hyperglycemia and hypertension potential using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 4386-4392.
59. Dai, J., Mumper, R.J. (2010): Plant Phenolics: extraction, analysis and their antioxidant anticancer properties. *Molecules* 15: 7313-7352.
60. Das, M. (2014) Chamomile: Medicinal, Biochemical and Agricultural Aspects. CRC Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida.
61. de Ancos, B., Ibañez, E., Reglero, G., and Cano, P. (2000): Frozen storage effects on anthocyanins and volatile compounds of raspberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 873-879.
62. Deighton, N., Brennan, R., Finn, C., Davies, H.V. (2000): Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1307-1313.
63. Denev, P., Ciz, M., Ambrozova, G., Lojek, A., Yanakieva, I., Kratchanova, M. (2010): Solidphase extraction of berries' anthocyanins and evaluation of their antioxidative properties. *Food Chemistry* 123: 1055-1061.
64. Diplock, A.T., Aggott, P.J., Ashwell, M. et al., (1999): Scientific concept of functional foods in Europe: consensus document. *British Journal of Nutrition* 81 (Suppl): 1S-27S.
65. Đorđević, S. (2008): Farmakognoksijsko proučavanje *Carlina acaulis* subsp. *caulescens* i *Carlina acanthifolia* subsp. *utzka* (Asteraceae). Doktorska disertacija, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, Srbija.

66. Đorđević, B. (2012): Proizvodna, nutritivna i antioksidativna svojstva sorti ribizle (*Ribes cv.*). Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, Srbija.
67. Đorđević, B., Šavikin, K., Zdunić, G., Janković, T., Vulić, T., Oparnica, Č., Radivojević, D. (2010): Biochemical properties of red currant varieties in relation to storage. *Plant Foods for Human Nutrition* 65(4): 326-332.
68. Đorđević, R. (2016): Uticaj načina vinifikacije na antioksidativni kapacitet voćnih vina. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, Srbija.
69. Dugo, P., Mondello, L., Errante, G., Zappia, G., Dugo, G. (2001): Identification of anthocyanins in berries by narrow-bore high-performance liquid chromatography with electrospray ionization detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(8): 3987-3992.
70. Duthie, G. G., Gardner, P. T., Kyle, J. A. M. (2003): Plant polyphenols: Are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society* 62: 599-603.
71. Duthie, G.G., Brown, K.M. (1994): Reducing the risk of cardiovascular disease. In: Goldberg I. (Eds.), *Functional Foods: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*. Chapman and Hall, New York, pp. 19-38.
72. EMA Monographs <http://www.ema.europa.eu>
73. Emamghorishi, M., Talebianpour, M.S. (2009): Antidepressant effect of *Melissa officinalis* in the forced swimming test. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 17: 42-47.
74. Fan-Chiang, H. J., Wrolstad, R. E. (2005): Anthocyanin pigment composition of blackberries. *Journal of Food Science* 70(3): C198-C202.
75. Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G.Y. (2002): Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18: 872-879.
76. Fang, Z. X., Bhandari, B. (2010): Encapsulation of polyphenols-A review. *Trends in Food Science & Technology* 21: 510-523.
77. Fernandez, M.T., Mira, M.L., Florenco, M.H., Jenings, K.R. (2002): Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study. *Journal of Inorganic Biochemistry* 92: 105-111.

78. Ferrari, G., Maresca, P., Ciccarone, R. (2011): The effects of high hydrostatic pressure on the polyphenols and anthocyanins in red fruit products, *Procedia Food Science* 1: 847-853.
79. Folin, O., Ciocalteu, V. (1927): Tyrosine and tryptophan determinations proteins. *Journal of Biological Chemistry* 73: 627-650.
80. Fu, L., Xu, B.T., Xu, X.R., Gan, R.Y., Zhang, Y., Xia, E.Q., Li, H.B. (2011): Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry* 129: 345-350.
81. Fukumoto, L.R., Mazza, G.J. (2000): Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(8): 3597-3604.
82. Fukushima, Y., T. Ohie, Y., Yonekawa, K., Yonemoto, H., Aizawa, Y., Mori, M., Watanabe, M., Takeuchi, M., Hasegawa, C., Taguchi, Kondo, K. (2009): Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (4): 1253-1259.
83. Gao, X., Bjork, L., Trajkovski, V., Uggl, M. (2000): Evaluation of antioxidant activities of rose hip ethanol extracts in different test systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 2021-2027.
84. Gil, M. I., Holcroft, D.M., Kader, A.A. (1997): Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45. 1662-1667.
85. Giongo, L., Grisenti, M., Eccher, M., Palchetti, A., Vrhovsek, U., Mattivi, F. (2008): Horticultural and nutritional qualities of white, red and black currants. *Acta Horticulturae* 777: 167-172.
86. Glowniak, K., Zgorza, G., Kozyra, M. (1996): Solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography of free phenolic acids in some Echinacea species. *Journal of Chromatography A* 730: 25-29.
87. Gould, K.S., Lister, C. (2006): Flavonoid functions in plants. In: Andersen, Ø.M., Markham, K.R. (Ed.), *Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications*. CRC Taylor & Francis, Boca Raton, USA, pp. 397-441.

88. Gratacos-Cubarsi, M., Ribas-Agusti, A., Garcia-Regueiro, J.A., Castellari, M. (2010): Simultaneous evaluation of intact glucosinolates and phenolic compounds by UPLC-DAD-MS/MS in *Brassica oleracea* L. var. *botrytis*. *Food Chemistry* 121: 257-263.
89. Groza, M., Ciocoiu, M., Bădescu, L., Bădulescu, O., Bădescu, M. (2010): The effects of the *Sambucus nigra* vegetal extracts on the immune system dysfunction in the diabetes mellitus. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 15: 241-246.
90. Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C. (2007): *PDR for Herbal Medicines*. 4th ed. Montvale, New Jersey: Thomson Healthcare Inc.
91. Guern, J., Renaudin, J.P., Brown, S.C. (1987): The compartmentation of secondary metabolites in plant cell cultures. In: Constabel, F., Vasil, I. K., (Eds.), *Cell culture in phytochemistry*, Academic Press, London, pp. 43-76.
92. Häkkinen, S. (2000): *Flavonols and phenolic acids in berries and berry products*. Doctoral dissertation. Kuopio University, Finland.
93. Häkkinen, S., Heinonen, M., Karenlamp, S., Mykkanen, H., Ruuskanen, J., Torronen, R. (1999): Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International* 32: 345-352.
94. Häkkinen, S.H., Kärenlampi, S.O., Mykkänen, H.M., Törrönen, A.R. (2000): Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(7): 2960-2965.
95. Häkkinen, S.H., Törrönen, A.R. (2000): Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food research international* 33: 517-524.
96. Halliwell, B. (1994): Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews* 52: 253-265.
97. Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold, A.B., Haffner, K., Baugerod, H., Andersen, L.F., Moskaug, J.O., Jacobs, D.R.Jr., Blomhoff, R. (2002): A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition* 132: 461-471.

98. Haminiuk, C.W.I., Maciel, G.M., Plata-Oviedo, M.S.V., Peralta, R.M. (2012): Phenolic compounds in fruits. *International Journal of Food and Tehnology* 47(10): 2023-2044.
99. He, J., Klag, M.J., Whelton, P.K., Mo, J.P., Chen, J.Y., Qian, M.C., Mo, P.S., He, G.Q. (1995): Oats and buckwheat intakes and cardiovascular disease risk factors in an ethnic minority of China. *The American Journal of Clinical Nutrition* 61: 366-372.
100. Heinonen, I.M., Meyer, A.S., Frankel, E.N. (1998): Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(10): 4107-4112.
101. Hider, R.C., Liu, Z.D., Khodr, H.H. (2001): Metal chelation of polyphenols. *Methods in Enzymology* 335: 190-203.
102. Hilz, H., Bakx, E.J., Schols, H.A., Voragen, A.G.J. (2005): Cell wall polysaccharides in black currants and bilberries-characterisation in berries, juice, and press cake. *Carbohydrate Polymer* 59: 477-488.
103. Hinneburg, I., Kempe, S., Ruettinger, H.H., Neubert, R.H.H. (2006): *Pharmazie* 61: 237-240.
104. Hinneburg, I., Neubert, H. H. (2005): Influence of extraction parameters on the phytochemical characteristics of extracts from buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) herb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 3-7.
105. Ho, G.T.T., Bräunlich, M., Austarheim, I., Wangensteen, H., Malterud, K.E., Slimestad, R., Barsett, H. (2014): Immunomodulating activity of *Aronia melanocarpa* polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences* 15(7): 11626- 11636.
106. Horváth, Gy., Kocsis, B., Botz, L., Németh, J., Szabó, L.Gy. (2002): Antibacterial activity of Thymus phenols by direct bioautography. *Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology* 46(3-4): 145-146.
107. Hosseinian, F.S., Wende, L., Beta, T. (2007): Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chemistry* 109(4): 916-924.



108. Howard, R., Hager, J. (2007): Berry fruit phytochemicals. In: Zhao, Y. (Ed.), *Berry Fruits: value-added products for health promotion*. Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 74-99.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3424049/>
109. Huang, Y., Li, X., Zhang, L. (2006): Protective effects of flavones of buckwheat on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of Sichuan Normal University* 29: 499-501.
110. Ishida, H., Umino, T., Tsuji, K., Kosuge, T. (1989): Studies on the antihemostatic substances in herbs classified as hemostatics in traditional Chinese medicine. I. On the antihemostatic principles in *Sophora japonica* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 37(6): 1616-1618.
111. Isman, M.B. (2000): Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19: 603-8.
112. Iversen, K. C. (1999): Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *Journal of Food Science* 64(1): 37-41.
113. Jakobek, L., Šeruga, M., Medvidović-Kosanović, M., Jovanović, I.N. (2007a): Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 103(2): 58-64.
114. Jakobek, L., Šeruga, M., Novak, I., Medvidović-Kosanović, M. (2007b): Flavonols, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruit. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 103(8): 369-378.
115. Jančićević, H.S., Kenić, J., Arsić-Komljenović, G. (2008): Antioksidantni potencijal biljke matočina (*Mellitis Melisophyllum*). *Praxis Medica* 36(3-4): 83-87.
116. Jančićević, J., Tošić, S., Mitrović, T. (2007): Flavonoids in plants. *Proceeding of the 9th Symposium on Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions*. Niš, Serbia, pp. 153-156.
117. Jayaprakasam, B., Vareed, S.K., Olson, L.K., Nair, M.G. (2005): Insulin secretion by bioactive anthocyanins and antocyanidins present in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 28-31.

118. Jiao, B., Cassano, A., Drioli, E. (2004): Recent advances on membrane processes for the concentration of fruit juices: a review. *Journal of Food Engineering* 63: 303-324.
119. Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Heinonen, M., (2001): Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4076-4082.
120. Kähkönen, M.P., Heinamaki, J., Ollilainen, V., Heinonen, M. (2003): Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83(14): 1403-1411.
121. Kalt, W. (2005): Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science* 70(1): R11-R19.
122. Kalt, W., McDonald, J.E., Donner, H. (2000): Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity of Processed Lowbush Blueberry Products. *Journal of Food Science* 65(3): 390-393.
123. Kalt, W., Ryan, D.A.J., Duy, J.C., Prior, R.L., Ehlenfeldt, M.K., Kloet, S.P.V. (2001): Interspecific variation in anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity among genotypes of highbush and lowbush blueberries (*Vaccinium* Section *cyanococcus* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4761-4767.
124. Kang, S.-Y., Seeram, N.P., Nair, G.M., Bourquin, L.D. (2003): Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in *Apc<sup>Min</sup>* mice and reduce proliferation of human colon cancer cells. *Cancer Letters* 194: 13-19.
125. Kasote, D.M. (2013): Flaxseed phenolics as natural antioxidants. *International Food Research Journal* 20: 27-34.
126. Kasote, D.M., Katyare, S.S., Hegde, M.V., Bae, H. (2015): Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences* 11: 982-991.
127. Katalinić, V. (2006): *Kemija mediteranskog voća i tehnologija prerade*. Kemijsko-tehnološki fakultet, Split.
128. Kazmierczak, R., Hallmann, E., Rusaczonek, A., Rembiałkowska, E. (2008): Antioxidant content in black currants from organic and conventional cultivation. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 11(2), 28 pp.

129. Kennedy, D.O., Scholey, A.B., Tildesley, N.T., Perry, E.K., Wesnes, K.A. (2002): Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of *Melissa officinalis* (lemon balm). *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 72: 953- 964.
130. Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T., Vasantha Rupasinghe, H.P. (2008): Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Composition and Analysis* 21(5): 396-401.
131. Kim, D.O., Heo, H.J., Kim, Y.J., Yang, H.S., Lee, C.Y. (2005): Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *Journal of agricultural and food chemistry* 53: 9921-9927.
132. Kišgeci, J., Jelačić, S., Beatović, S. (2009): Lekovito, aromatično i začinsko bilje. Poljoprivredni fakultet, Beograd
133. Kišgeci, J. (2002): Lekovito bilje. Partenon, Beograd.
134. Klopotek, Y., Otto, K., and Bohm, V. (2005): Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5640-5646.
135. Koca, I., Karadeniz, B. (2009): Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black sea region of Turkey. *Scientia Horticulturae* 121: 447-450.
136. Kokotkiewicz, A., Jaremicz, Z., Luczkiewicz, M. (2010): Aronia Plants: A Review of traditional use, biological activities and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food* 13: 255-269.
137. Kolodziej, H., Kiderlen, A.F. (2005): Antileishmanial activity and immune modulatory effects of tannins and related compounds on *Leishmania* parasitised RAW 264.7 cells. *Phytochemistry* 66: 2056-2071.
138. Komes, D., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., Rusak, G., Likić, S., Berendika, M. (2010): Phenolic composition and antioxidant properties of some traditionally used medicinal plants affected by the extraction time and hydrolysis. *Phytochemical Analysis* 22(2): 172-180.

139. Konić-Ristić, A., Šavikin, K., Zdunić, G., Janković, T., Juranić, Z., Menković, N., Stanković, I. (2011): Biological activity and chemical composition of different berry juices. *Food Chemistry* 125: 1412-1417.
140. Koponen, J.M., Happonen, A.M., Mattila, P.H., Törrönen, A.R. (2007): Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(4): 1612-1619.
141. Kovačević, N. (2004): *Osnovi farmakognozije*, Srpska školska knjiga, Beograd.
142. Kraujalyte, V., Venskutonis, P.R., Pukalskas, A., Cesoniene, L., Daubaras, R. (2015): Antioxidant properties, phenolic composition and potentiometric sensor array evaluation of commercial and new blueberry (*Vaccinium corymbosum*) and bog blueberry (*Vaccinium uliginosum*) genotypes. *Food Chemistry* 188: 583-590.
143. Król-Kogus, B., Głód, D., Krauze-Baranowska, M., Matławska, I. (2014): Application of one- and two-dimensional high-performance liquid chromatography methodologies for the analysis of C-glycosylflavones from fenugreek seeds. *Journal of Chromatography A* 1367: 48-56.
144. Kuhnau, J. (1976): The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Review of Nutrition and Dietetics* 24: 117-91.
145. Kulling, S.E., Rawel, H.M. (2008): Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - a review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Medica* 74(13): 1625- 1634.
146. Lajšić, S., Grujić-Injac, B. (1998): *Hemija prirodnih proizvoda*, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
147. Lapornik, B., Prošek, M., Wondra, A.G. (2005): Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* 71: 214-222.
148. Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. (2002): Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science* 67(5): 1660-1667.

149. Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. (2005): Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International* 88: 1269-1278.
150. Lee, J., Finn, C.E. (2007): Anthocyanins and other polyphenolics in American elderberry (*Sambucus canadensis*) and European elderberry (*S. nigra*) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 2665- 2675.
151. Lee, J., Koo, N., Min, D.B. (2004): Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *CRFSFS* 3: 21-23.
152. Lee, W.C., Yusof, S., Hamid, N.S.A., Baharin, B.S. (2006): Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *Journal of Food Engineering* 73(1): 55-63.
153. Lennard, T.W.J., Shenton, B.K., Borzotta, A.,P. K. Donnelly, White, M., Gerrie, L.M., Proud, G. Taylor, R.M.R. (1985): The influence of surgical operations on components of the human immune system. *British Journal of Surgery* 72: 771-776.
154. Lim, J.H., Park, J.-W., Min, D.S., Chang, J.-S., Lee, Y.H., Park, Y.B., Choi, K S., Kwon, T.K. (2007): NAG-1 up-regulation mediated by EGR1 and p53 is critical for quercetin-induced apoptosis in HCT116 colon carcinoma cells. *Apoptosis* 12(2): 411-421.
155. Lister, C.E., Wilson, P.E., Sutton, K.H., Morrison, S.C. (2002): Understanding the health benefits of blackcurrants. *Acta horticulturae* 585: 443-449.
156. Liu, X.H., Pan, L.L., Zhu, Y.Z. (2012): Active chemical compounds of traditional Chinese medicine *Herba Leonuri*: implications for cardiovascular diseases. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 39(3): 274-282.
157. Loh, K.P., Huang, S.H., Tan, B.K.H., Zhu, Y.Z. (2009): Cerebral protection of purified *Herba Leonuri* extract on middle cerebral artery occluded rats. *Journal of Ethnopharmacology* 125(2): 337-343.
158. Lopes da Silva, M.F., Escribano-Bailón, M.T., Santos-Buelga, C. (2007): Stability of pelargonidin 3-glucoside in model solutions in the presence and absence of flavanols. *American Journal of Food Technology* 7: 602-617.

159. Losso, J.N., Bansode, R.R., Trappey, A., Bawadi, H.A., Truax, R. (2004): In vitro antiproliferative activities of ellagic acid. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15(11): 672-678.
160. Lugasia, A., Hóvária, J., Kádára, G., Denes, F. (2011): Phenolics in raspberry, blackberry and currant cultivars grown in Hungary. *Acta Alimentaria* 40(1): 52-64.
161. Maas, J.L., Wang, S.Y., Galetta, G.J. (1991): Evaluation of strawberry cultivars for ellagic acid content. *HortScience* 26: 66-68.
162. Määttä-Riihinen, K.R., Kamal-Eldin, A., Törrönen, A.R. (2004): Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6178-6187.
163. Macheix, J.J., Fleureit, A., Billot, J. (1990): *Fruit phenolics*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
164. Magazin, N., Keserović, Z., Milić, B. (2012): Nutritional values of three organic grown black currant cultivars. *Acta Horticulturae* 946: 419-422.
165. Malbaša, R. (2004): Ispitivanje antioksidativne aktivnosti napitka od čajne gljive. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
166. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Jimenez, L. (2004): Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79: 727-747.
167. Mander, L., Liu, H.-W.B. (2010): *Comprehensive Natural Products II Vol.9 Modern Methods in Natural Products Chemistry* 36-38.
168. Marin, P.D., Grayer, R.J., Kite, G.C., Matevski, V. (2003): External leaf flavonoids of *Thymus* species from Macedonia. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 1291-1307.
169. Marinova, D., Ribarova F., Atanasova, M. (2005): Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy* 40: 255-260.
170. Martinović, E., Kojić, M. (1998): *Samonikle vrste voćaka Srbije*. Institut za istraživanja u poljoprivredi, Beograd.

171. Marxen, K., Vanselow, K.H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., Hansen, U. (2007): Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements, *Sensors* 7: 2080-2095.
172. Mateus, N., de Freitas, V. (2008): Anthocyanins as food colorants. In: Gould, K., Davies, K., Winefield, K. (editors), *Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications*. Springer, New York, pp. 283-304.
173. Matsumoto, H., Hanamura, S., Kawakami, T., Sato, Y., Hirayama, M. (2001): Preparative-scale isolation of four anthocyanin components of black currant (*Ribes nigrum* L.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 1541-1545.
174. Mattila, P.H., Hellstrom, J., McDougall, G., Dobson, G., Pihlava, J.-M., Tiirikka, T., Stewart D. (2011): Karjalainen, R. Polyphenol and vitamin C contents in European commercial blackcurrant juice products. *Food Chemistry* 127: 1216-1223.
175. Mazza, G. (2007): Anthocyanins and heart health. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità* 43(4): 369-374.
176. McKay, D.L., Blumberg, J.B. (2006): A Review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research* 20: 519-530.
177. Mendiola, J. A., Marin, F. R., Señoráns, F.J., Reglero, G., Martín, P.J., Cifuentes, A., Ibáñez E. (2008): Profiling of different bioactive compounds in functional drinks by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A* 1188: 234-241.
178. Milatović, D., Nikolić, M., Miletić, N. (2011): *Trešnja i višnja*. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.
179. Milić, B., Đilas, S., Čanadanović-Brunet, J., Sakač, M. (2000): *Biljni polifenoli*. Matica srpska, Novi Sad.
180. Milivojević J., Maksimović V., Nikolić M., Bogdanović J., Maletić R., Milatović D. (2011): Chemical and antioxidant properties of cultivated and wild *Fragaria* and *Rubus* berries. *Journal of Food Quality* 34: 1-9.

181. Milivojević, J. (2008): Pomološka i antioksidativna svojstva plodova jagodastih vrsta voćaka. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
182. Milivojević, J., Nikolić, M. (2015): Dostignuća i trendovi u proizvodnji jagode u Srbiji. 5. Savetovanje „Inovacije u voćarstvu“, tema „Savremena proizvodnja jagode“, Zbornik radova, pp. 5-18.
183. Milivojević, J., Nikolić, M., Bogdanović Pristov, J. (2010): Fizičko-hemijska i antioksidativna svojstva sorti i samoniklih vrsta rodova *Fragaria* i *Rubus*. Voćarstvo 44: 55-64.
184. Miller, N.J., Rice-Evans, C.A. (1997): The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. Food Chemistry 60(3): 331-337.
185. Milner, J.A. (1994): Reducing the Risk of Cancer. In: Goldberg I. (Eds.), Functional Foods: Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals. Chapman and Hall, New York, pp. 39-70.
186. Mimica-Dukić, N., Simin, N., Cvejić, J., Jovin, E., Orčić, D., Bozin, B. (2008): Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants. Molecules 13: 1455-1464.
187. Mišan, A., Arsić, I., Đorđević, S., Tadić, V., Psodorov, Đ. (2013): Funkcionalna hrana i lekovito bilje. Naučni institut za prehrambene tehnologije, Novi Sad, pp. 424.
188. Mišić, P. (1994): Jabuka. Nolit, Beograd.
189. Mišić, P., Nikolić, M. (2003): Jagodaste voćke. Institut za istraživanja u poljoprivredi, Beograd.
190. Moyer, A.R., Hummer, E.K., Finn, E.C., Frei, B., Wrolstad, E.R. (2002a): Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 519-525.
191. Moyer, R., Hummer, K., Wrolstad, R.E., Finn, C. (2002b): Antioxidant compounds in diverse *Ribes* and *Rubus* germplasm. Acta Horticulturae 585: 501-505.
192. Mratinić, E. (2002): Višnja. Vizartis, Beograd.



193. Mubarak, N.M., Daniel, S., Khalid, M., Tan, J. (2012): Comparative study of functionalize and non-functionalized carbon nanotube for removal of copper from polluted water. *International Journal of Chemical and Environmental Engineering* 3: 1-4.
194. Müller, L., Gnoyk, S., Popken, A.M., Böhm V. (2010): Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology* 43: 992-999.
195. Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T. (2004): Effects of thermal treatment on radical-scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. *Journal of Food Science* 69(1): 7-10.
196. Nagao, A., Seki, M., Kobayashi, H. (1999): Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 63: 1787-1790.
197. Naidu, K.A. (2003): Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Journal of Nutrition* 2: 7-16.
198. Nakajima, J-I., Tanaka, I., Seo S., Yamazaki, M., Saito, K. (2004): LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5: 241-247.
199. Neeser, C. (2009): A survey of antioksidant activity, anthocyanins and other nutritional components in saskatoons ant black currant relevant to human health. Ph.D. Horticulture Station Road East Brooks, Alberta, Canada.
200. Nencu, I., Istudor, V., Ilies, D.C., Radulescu, V. (2013): Preliminary research regarding the therapeutic uses of *Urtica dioica* L., and the dynamics of accumulation of total phenolic compounds and ascorbic acid. *Farmacia* 61: 276-283.
201. Neto, C. (2007): Cranberry and blueberry: Evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. *Molecular Nutrition and Food Research* 51: 652-664.
202. Niketić-Aleksić, G. (1982): Tehnologija vića i povrća. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
203. Nikolić, M., Milivojević, J. (2010): Jagodaste voćke, Tehnologija gajenja. Naučno voćarsko društvo Srbije, Čačak.

204. Nile, S.H., Park, S.W. (2014): Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition* 30: 134-144.
205. Oancea, S., Cotinghiu, A., Oprean, L. (2011): Studies investigating the change in total anthocyanins in black currant with postharvest cold storage. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 16(1): 359-363.
206. Olthof, M.R., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. (2001): Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *Journal of Nutrition* 131: 66-71.
207. Orčić, D. (2010): Vrste tribusa Scandiceae (Apiaceae Lindley 1836, subfam. Apioideae) potencijalni izvor biološki i farmakološki aktivnih sekundarnih biomolekula, Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija.
208. Oszmiański, J., Wojdyło, A. (2007): Effect of various clarification treatments on phenolic compounds and color of apple juice. *European Food Research and Technology* 224(6): 755-762.
209. Oszmiański, J., Wojdyło, A. (2009): Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices. *Eur European Food Research and Technology* 228:623-631.
210. Pantelidis, G.E., Vasilakakis, G., Mangaris, G.A., Diamantidis, G. (2007): Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry* 102: 777-783.
211. Papp, N., Szilvássy, B., Szabó, Z., Nyéki, J., Stefanovits-Bányai, E., Hegedűs, A. (2008): Antioxidant capacity, total phenolics and mineral element contents in fruits of Hungarian sour cherry cultivars. *International Journal of Horticultural science* 14(1-2): 59-64.
212. Parr, A.J., Bolwell, J.P. (2002): Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 985-1012.
213. Partap, S., Pandey, S. (2012): A Review on Herbal Antioxidants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1: 26-37.
214. Pascual-Teresa, S., Sanchez-Ballesta, M.T. (2008): Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemistry Reviews* 7: 281-299.

215. Paunović, D., Mirković, D., Rabrenović, B., Petrović, T., Rajić, J., Veljović, M. (2014a): The stability of vitamin C in the rose hip (*Rosa canina* L.) products and the possibility of valorization of rose hip seed oil. *Voćarstvo* 48(185/186): 55-60.
216. Paunović, D., Veljović, M., Mirković, D., Petrović, T., Rajić, J., Stošić, N., Zlatković, B. (2014b): Effect of heat treatment on antioxidant properties of rose hip (*Rosa canina* L.) products. II International Congress, "Food Technology, Quality and Safety", Novi Sad, Serbia, pp. 627-631.
217. Paunović, D., Veljović, M., Petrović, T., Mirković, D., Pokeržnik, I., Rajić, J., Zlatković, B. (2015): Uticaj različite temperature sušenja na antioksidativna svojstva jabuke sorte Idared i Golden Delicious. *Voćarstvo* 49(191-192): 73-79.
218. Paunović, D., Kalusević, A., Mirković, D., Petrović, T., Rajić, J., Cvetković, M., Nedović, V. (2016): Antioksidativna svojstva različitih proizvoda od kupine (*Rubus fruticosus*). *Journal of Pomology* 50(193-194): 39-45.
219. Pedersen, H. L. (2008). Juice quality and yield capacity of black currant cultivars in Denmark. *ISHS Acta Horticulturae 777: IX International Rubus and Ribes Symposium, Leuven, Belgium*, pp. 510-516.
220. Pedisić, S., Levaj, B., Dragović-Uzelac, V., Kos, K. (2007): Physicochemical composition, phenolic content and antioxidant activity of sour cherry cv. *Marasca* during ripening. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72: 295-300.
221. Pelayo-Zaldivar C., Ebeler S., Kader A. A. (2005): Cultivar and harvest date effects on flavor and other quality attributes of California strawberries. *Journal of Food Quality* 28: 78-97.
222. Pellati, F., Benvenuti, S., Margro, L., Melegari, M., Soragni, F. (2004): Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of *Echinacea* spp. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 35: 289-301.
223. Pellegrini N., Searfini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F. (2003): Total antioxidant capacity of plant, foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133: 2812-2819.
224. Pennington, J.A.T., Fisher, R.A. (2009): Classification of fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: S23-S31.

225. Percival, M. (1998): Antioxidants. *Clinical Nutrition Insight* 31: 1-4.
226. Pereira, D.M., Valentão, P., Andrade, P. (2009): Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules* 14: 2202-2211.
227. Perkins-Veazie P., Kalt W. (2002): Postharvest storage of blackberry fruit does not increase antioxidant levels. *Acta Horticulturae* 585: 521-524.
228. Perkins-Veazie, P., Collins, K. J. (2001): Contribution of nonvolatile phytochemicals to nutrition and flavor. *HortTchnology* 11(4): 539-546.
229. Ph. Jug IV (1984): Farmakopeja SFRJ, Pharmacopoea Jugoslavica edicio quarta. Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, Beograd 1: 116-118.
230. Piljac-Žegarac, J., Šamec, D. (2011): Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. *Food Research International* 44: 345-350.
231. Piljac-Žegarac, J., Valek, L., Martinez, S., Belščak, A. (2009): Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chemistry* 113: 394-400.
232. Pinchuk, I., Shoval, H., Dotan, Y., Lichtenberg, D. (2012): Evaluation of antioxidants: scope, limitations and relevance of assays. *Chemistry and Physics of Lipids* 165(6): 638-47.
233. Poiana, M.A., Moigradean, D., Raba, D., Alda, L.M., Popa, M. (2010): The effect of long-term frozen storage on the nutraceutical compounds, antioxidant properties and color indices of different kinds of berries. *Journal of Food Agriculture and Environment* 8: 54-58.
234. Poljsak, B., Šuput, D., Milisav, I. (2013): Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 956792, 11 pp.
235. Pourmorad, F. Hosseinimehr, S. J., Shahabimajd, N. (2006): Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, *African Journal of Biotechnology* 5(11): 1142-1145.

236. Pravilnik o kvalitetu proizvoda od voća, povrća, pečurki i pektinskih preparata, Službeni list SFRJ, 1/79, 20/82, 39/89 - dr. pravilnik, 74/90 i 46/91 - dr. pravilnik, Službeni list SRJ, 33/95 - dr. pravilnik i 58/95 i Službeni list SCG, 56/2003 - dr. pravilnik, 4/2004 - dr. pravilnik, 12/2005 - dr. pravilnik i 43/2013, 72/2014, 101/2015
237. Pravilnik o kvalitetu voćnih sokova, koncentrisanih voćnih sokova, voćnih sokova u prahu, voćnih nektara i srodnih proizvoda, Službeni glasnik RS, br. 27/2010, 67/2010, 70/2010 - ispr., 44/2011 i 77/2011.
238. Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., Mainland, C.M. (1998): Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, Maturity, and variety of vaccinium species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2686-2693.
239. Radovanović, R., Popov-Rajčić, J. (2001): Senzorna analiza prehrambenih proizvoda. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
240. Rajić, J., Petrović, T., Veljović, M., Paunović, D., Bradaš, M., Nedović, V., Vukosavljević, P. (2012a): The influence of apple juice added in blackberry and sour cherry juices on their total phenols content and antioxidative capacity. *Proceedings of 6th Central European Congress on Food*, Novi Sad, Serbia, pp. 133-138.
241. Rajić, J., Petrović, T., Nedović, V., Veljović, M., Paunović, D., Vukosavljević, P. (2012b): The influence of technological process of production on antioxidant capacity of cherry and raspberry fruit juices. *12<sup>th</sup> Congress of Nutrition: Nutrition to Health in 21<sup>st</sup> Century*, Belgrade, Serbia, pp: 84-85.
242. Rajić, J., Petrović, T., Vukosavljević P., Paunović, D., Nešić, K., Đorđević, R., Nedović, V. (2014): Formulation and antioxidant capacity of plum and apple juices. *Proceedings of II International Congress Food Technology, Quality and Safety*, Novi Sad, Serbia, pp.510-515.
243. Ramadan, M. F. Moersel, J.T. (2007): Impact of enzymatic treatment on chemical composition, physicochemical properties and radical scavenging activity of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice. *The Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 452-460.

244. Rentzsch, M., Wilkens, A., Winterhalter, P. (2009): Non-flavonoid phenolic compounds. In: Moreno-Arribas, M.V., Polo, M.C. (Eds.), Wine chemistry and biochemistry. Springer, New York, pp. 509-527.
245. Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G. (1997): Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in plant science 2: 152-159.
246. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. (1996): Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. Biochemical Society Transactions 24(3): 790-795.
247. Robbins, R.J. (2003): Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(10): 2866-2887.
248. Rubinskiene, M., Viskelis, P., Jasutiene, I., Duchovskis, P., Bobinas, C. (2006): Changes in biologically active constituents during ripening in black currants. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research 14 (2): 237-246.
249. Rubinskiene, M., Viškelis, P., Stanys, V., Šikšnianas, T., Sasnauskas, A. (2008): Quality changes in black currant berries during ripening. Sodininkyste ir Daržininkyste 27(2): 235-243.
250. Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A., Khalel, K.I (2013): Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Industrial Crops and Products, 44: 437-445.
251. Ruiz del Castillo, M.L., Dobson, G., Brennan R., Gordon, S. (2004): Fatty acid content and juice characteristics in black currant (*Ribes nigrum* L.) genotypes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 948-952.
252. Rumpunen, K., Vagiri, M., Ekholm, A. (2012): Poliphenolic compounds in blackcurrants. Acta Horticulturae 946: 113-118.
253. Sacks, F.M., Kass, E.H. (1988): Low blood pressure in vegetarians: effects of specific foods and nutrients. The American journal of clinical nutrition 48: 795-800.
254. Sanchez-Moreno, C. (2002): Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology International 8: 121-137.

255. Sandell, M., Laaksonen, O., Jarvinen, R., Rostiala, N., Pohjanheimo, T., Tiitinen, K., Kallio, H. (2009): Orosensory profiles and chemical composition of black currant (*Ribes nigrum* L.) juice and fractions of press residue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 3718-3728.
256. Sandhu, N.S., Kaur, S., Chopra, D. (2010): *Equietum arvense*: pharmacology and phytochemistry - a review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 3: 146-150.
257. Sariburun, E., Sahin, S., Demir, C., Türkben, C., Uylaşer, V. (2010): Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *Journal of Food Science* 75(4): 328-335.
258. Sarić, M. (1989): *Lekovite biljke SR Srbije*. Posebna izdanja, Srpska akademija nauka i umetnosti, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, knj.65, Beograd.
259. Satué-Garcia, T., Heinonen, M., Frankel E.N. (1997): Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 3362-3367.
260. Scalbert, A., Williamson, G. (2000): Dietary intake and bioavailability of polyphenols in chocolate: modern science investigates an ancient medicine. *American Society for Nutrition's* 2073S-2085S.
261. Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L. (2005): Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45: 287-306.
262. Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., Révész, C. (2002): Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 56: 276-282.
263. Scalzoa, J., Currieb, A., Stephenc, J., McGhied, T., Alspachc, P. (2008): The anthocyanin composition of different *Vaccinium*, *Ribes* and *Rubus* genotypes. *BioFactors* 34: 13-21.
264. Schilcher, H., Kammerer, S. (2000): *Leitfaden Phytotherapie*. Munchen: Urban & Fischer Verlag, Munich, Germany.
265. Seeram, N.P. (2008): Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 56: 627-629.

266. Seeram, N.P., Adams, L.S., Zhang, Y., Lee, R., Sand, D., Scheuller, H.S., Heber, D. (2006a): Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cell *in vitro*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54: 9329-9339.
267. Seeram, N.P., Lee, R., Heber, D. (2004): Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. *Clinica Chimica Acta* 348: 63-68.
268. Seeram, N.P., Lee, R., Scheuller, H.S., Heber, D. (2006b): Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chemistry* 97(1): 1-11.
269. Seglina, D., Krasnova, I., Ruisa, S., Strautina, S., Heidemane, G. (2008): Research on antioxidant activity of berries grown in Latvia. *Proceedings of International Scientific Conference „Sustainable Fruit Growing: From Plant To Product“*, Latvia, pp. 265-272.
270. Sellappan, S., Akoh, C.C., Krewer, G. (2002): Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 2432-2438.
271. Seymour, E.M., Singer, A.A.M., Kirakosyan, A., Urcuyi-Llanes D.E., Kaufman, P.B., Bolling, S.F. (2008): Altered hyperlipidemia, hepatic steatosis, and hepatic peroxizome proliferator-activated receptors in rats with intake of tart cherry. *Journal of medicinal food* 11: 252-259.
272. Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015): Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects -A review, *Jour. Funct Food* 18: 820-897.
273. Shahidi, F., Naczk, M. (2003): *Phenolics in food and nutraceuticals*. Taylor & Francis Group, Florida, USA.
274. Shahidi, F., Naczk, M. (1995): *Food phenolics: an overview, Food phenolics sources, chemistry, effects and applications*, Technomic Publishing Co, Pennsylvania, USA1-4.



275. Shahrzad, S., Bitsch, I. (1998): Determination of gallic acid and its metabolites in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *The Journal of Chromatography B* 705: 87-95.
276. Shen, X.C., Yang, Y.P., Xiao, T.T., Peng, J., Liu, X.D. (2011): Protective effect of oxymatrine on myocardial fibrosis induced by acute myocardial infarction in rats involved in TGF-beta(1)-Smads signal pathway. *Journal of Asian Natural Products Research* 13: 215-224.
277. Shukitt-Hale, B., Lau, F.C., Joseph, J.A. (2008): Berry fruit supplementation and the aging brain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 636-641.
278. Sidor, A., Gramza-Michałowska, A. (2015): Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (*Sambucus nigra*) in food - a review. *Journal of Functional Foods* 18(B): 941-958.
279. Siksnianas, T., Stanys, V., Sasnauskas, A., Viskelis, P., Rubinskiene, M. (2006): Fruit quality and processing potential in five new blackcurrant cultivars. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 14(2): 265-271.
280. Šimunić, V., Kovač, S., Gašo-Sokač, D., Pfannhauser, W., Murkovic, M. (2005): Determination of anthocyanins in four Croatian cultivars of sour cherries (*Prunus cerasus*). *European Food Research and Technology* 220: 575-578.
281. Singh, G., Maurya, S., De Lampasona, M.P., Catalan, C. (2006): Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food Control* 17: 745-752.
282. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
283. Siriwoharn, T., Wrolstad, R. E., Finn, C. E., Pereira, C. B. (2004): Influence of Cultivar, Maturity, and Sampling on Blackberry (*Rubus L. Hybrids*) Anthocyanins, Polyphenolics, and Antioxidant Properties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 8021-8030.
284. Siriwoharn, T., Wrolstad, R.E. (2004): Polyphenolic composition of Marion and Evergreen blackberries. *Journal of Food Science* 69 (4): 233-240.

285. Skrede, G., Wrolstad, R.E., Durst, R.W. (2000): Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Food Science* 65(2): 357-364.
286. Šobajić S. (2002): Funkcionalna hrana u prevenciji bolesti i terapiji. *Arhiv za farmaciju* 3:369-375.
287. Sójka, M., Guyot, S., Kołodziejczyk, K., Król, B., Baron, A. (2009): Composition and properties of purified phenolics preparations obtained from an extract of industrial blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) pomace. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 84(6): 100-106.
288. Son, B.K., Kim, J.Y., Lee, S.S. (2008): Effect of adlay, buckwheat and barley on lipid metabolism and aorta histopathology in rats fed an obesogenic diet. *Annals of Nutrition and Metabolism* 52: 181-187.
289. Spencer, J.P.E. (2003): Metabolism of Tea Flavonoids in the Gastrointestinal Tract. *Journal of Nutrition* 133: 3255-3261.
290. Srivastava, J.K., Shankar, E., Gupta, S. (2010): Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future (Review). *Molecular Medicine Reports* 3: 895-901.
291. SRPS ISO 5492: 2002 E: Senzorne analize - Rečnik.
292. Stajčić, S.M., Tepić, A.N., Djilas, S.M., Šumić, J.M., Čandanović-Brunet, J.M., Četković, G.S., Vulić, J.J., Tumbas, V.T. (2012): Chemical composition and antioxidant activity of berry fruits. *Acta Periodica Tehnologica* 43: 93-105.
293. Stewart, D. (2004): Identification and assessment of nutritional relevance of antioxidant compounds from soft fruit species. *Jugoslovensko voćarstvo* 38(145-146): 73-80.
294. Stój, A., Malik, A., Targoński, Z. (2006a): Comparative analysis of anthocyanin composition of juices obtained from selected species of berry fruits. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 15/56 (4): 401-407.
295. Stój, A., Targoński, Z., Malik, A. (2006b): Use of anthocyanin analysis for detection of berry juice adulterations. *ACTA Scientiarum Polonorum - Technologia Alimentaria* 5(1): 73-85.

296. Stojanović, R., Belščak-Cvitanović, A., Manojlović, V., Komes, D., Nedović, V., Bugarski, B. (2012): Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium-alginate beads. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92: 685-696.
297. Stojanović, B.T. (2014): Hemijski sastav i antioksidativna aktivnost metanolnih i acetonskih ekstrakata pulpe i kore odabranih vrsta voća sa područja jugoistočne Srbije. Doktorska disertacija. Prirodno-matematički fakultet, Niš.
298. Szajdek, A., Borowska, E.J. (2008): Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits. *Plant Foods for Human Nutrition* 63: 147-156.
299. Tadić, V.M., Dobrić, S., Marković, G.M., Djordjević, S.M., Arsić, I.A., Menković, N.R., Stević, T. (2008): Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 56: 7700-7709.
300. Tasić, S., Šavikin, K., Menković, N. (2009): Vodič kroz lekovito bilje. Samostalno izdanje, Beograd.
301. Tatefuji, T., Izumi, N., Ohta, T., Arai, S., Ikeda, M., Kurimoto, M. (1996): Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis which enhance macrophage spreading and mobility, *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 19: 966- 970.
302. Tester, J. (2015): Elderberry in food--review of antioxidant and health benefits. *Australian Journal of Herbal Medicine* 27(2), pp. 76.
303. Törrönen, R., McDougall, G. J., Dobson, G., Stewart, D., Hellström, J., Mattila, P., Pihlava, J.M., Koskela, A., Karjalainen, R. (2012): Fortification of blackcurrant juice with crowberry: Impact on polyphenol composition, urinary phenolic metabolites, and postprandial glycemic response in healthy subjects. *Journal of functional foods* 4: 746-756.
304. Toydemir, G., Capanoglu, E., Boyacioglu, D., Beekwilder, J., de Vos, R.C.H., Hall, R.D. (2014): Sour cherry (*Prunus cerasus* L.) anthocyanins: effects of juice processing on phenolic compounds and bioavailability. *Acta Horticulturae* 1017: 387-398.
305. Tucakov, J. (1996): Lečenje biljem, Fitoterapija. Rad, Beograd.

306. Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., De Vos, C.H.R., Capanoglu, E., Bovy, A., Battino, M. (2008): Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (3): 696-704.
307. Tumbas, V.T., Mandić, A.I., Četković, G.S., Djilas, S.M., Čanadanović-Brunet, J.M. (2004): HPLC analysis of phenolic acids in mountain germander (*Teucrium montanum* L.) extracts. *Acta Periodica Technologica* 35: 265-73.
308. Tumbas, V. (2010): Antiradikalska i antiproliferativna aktivnost ekstrakta odabranih biljaka iz familija *Rosaceae* i *Ericaceae*. Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
309. Upton, R., DAYu, R.H. (2013): Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. *Journal of Herbal Medicine* 3(1): 9-38.
310. Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. (2004): Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* 266: 37-56.
311. Vatter, D.A., Shetty, K. (2005): Biological functionality of ellagic acid: a review. *Journal of Food Biochemistry* 29: 234-266.
312. Veberic, R., Stampar, F., Schmitzer, V., Cunja, V., Zupan, A., Koron, D., Mikulic-Petkovsek, M. (2014): Changes in the contents of anthocyanins and other compounds in blackberry fruits due to freezing and long-term frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 6926-6935.
313. Veličković, M. (2000): Jagodasto voće. Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun.
314. Veličković, J. (2013): Hemijska analiza i antioksidativna aktivnost ekstrakata odabranih biljnih vrsta bogatih fenolnim jedinjenjima. Doktorska disertacija. Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu, Srbija.
315. Vereš, M. (2004): Principi konzervisanja namirnica, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
316. Viljevac, M., Dugalić, K., Jurković, V., Mihaljević, I., Tomaš, V., Puškar, B., Lepeduš, H., Sudar, R., Jurković, Z. (2012): Relation between polyphenols content and skin colour in sour cherry fruits. *Journal of Agricultural Sciences* 57(2): 57-67.

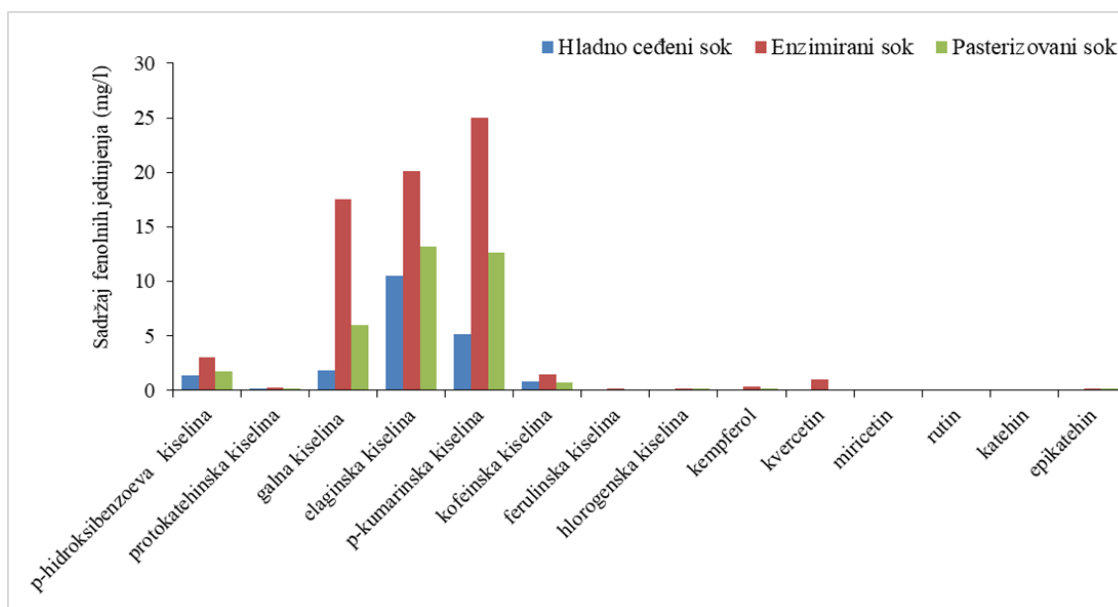
317. Villaño, D., Fernandez-Pachón, M.S., Moyá, M.L., Troncoso, A.M., Garcia-Parrilla, M.C. (2007): Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 71(1): 230-235.
318. Vukosavljević, P. (2006): Bistrenje soka maline primenom ultrafiltracije i mikrofiltracije. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
319. Vukosavljević, P., Bukvić, B., Janković, M., Mašović, S. (2003): Change of anthocyanins content during raspberry extraction. *Journal of Agricultural Sciences* 48: 85-102.
320. Vukosavljević, P., Bukvić, B., Janković, M., Petrović, T., Mašović, S. (2006): Određivanje promene boje maline pri preradi u sok i koncentrat. *Journal of Agricultural Sciences* 51(1): 99-115.
321. Vladislavljević, G.T., Vukosavljević, P., Veljović, M.S. (2013): Clarification of red raspberry juice using microfiltration with gas backwashing: a viable strategy to maximize permeate flux and minimize a loss of anthocyanins. *Food and Bioproducts Processing* 91(4): 473-480.
322. Vukosavljević, P., Veljović, M. (2013): Tehnologija voćnih sokova i osvežavajućih bezalkoholnih pića, Praktikum, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
323. Vuković, N., Milošević, T., Sukdolak, S., Solujić, S. (2007): Antimicrobial activities of essential oil and methanol extract of *Teucrium montanum*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 4: 17-20.
324. Walle, T., Browning, A.M., Steed, L.L., Reed, S.G., Walle, U.K. (2005): Flavonoid glucosides are hydrolyzed and thus activated in the oral cavity in humans. *Journal of Nutrition* 135: 48-52.
325. Wang, H., Cao, G., Prior, R.L. (1997): Oxygen radicalabsorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 304-309.
326. Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G.M., Chang, Y.-C., Boore, A.M., Gra, J.I., DeWitt, D. (1999): Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglucon, cyaniding, from tart cherries. *Journal of Natural products* 62(2): 294-296.
327. Wang, S.Y., Lin, H.S. (2000): Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(2): 140-146.

328. Willats, W.G.T., McCartney, L., Mackie, W., Knox, J.P. (2001): Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology* 47: 9-27.
329. Williams, R.J., Spencer, J.P., Rice-Evans, C. (2004): Flavonoids: Antioxidants or signaling molecules? *Free Radical Biology and Medicine* 36: 838-849.
330. Winkel-Shirley, B. (2001): Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology, *Plant Physiology* 12: 485-493.
331. Wiseman, H., Halliwell, B. (1996): Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal* 313: 17-29.
332. Wojtyniak, K., Szymański, M., Matławska, I. (2012): *Leonurus cardiaca* L. (Motherwort): A Review of its Phytochemistry and Pharmacology. *Phytotherapy Research*: 27(8): 1115-1120.
333. Wootton-Beard, P.C., Ryan, L. (2011): Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research International* 44(10): 3135-3148.
334. World Health Organization (2001): WHO monographs on selected medicinal plants 2, Geneva, pp. 180-186.
335. Wu, X., Prior, R.L. (2005): Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: Fruits and berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(7): 2589-2599.
336. Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Beecher, G., Prior, R.L. (2004a): Development of a Database for Total Antioxidant Capacity of foods: a preliminary study. *Journal of Food Composition and Analysis* 17: 407-422.
337. Wu, X., Gu, L., Prior, R.L., McKay, S. (2004b): Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and their antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7846- 7856.
338. Yang, B., Kortessniemi, M. (2015): Clinical evidence on potential health benefits of berries. *Current Opinion in Food Science* 2: 36-42.

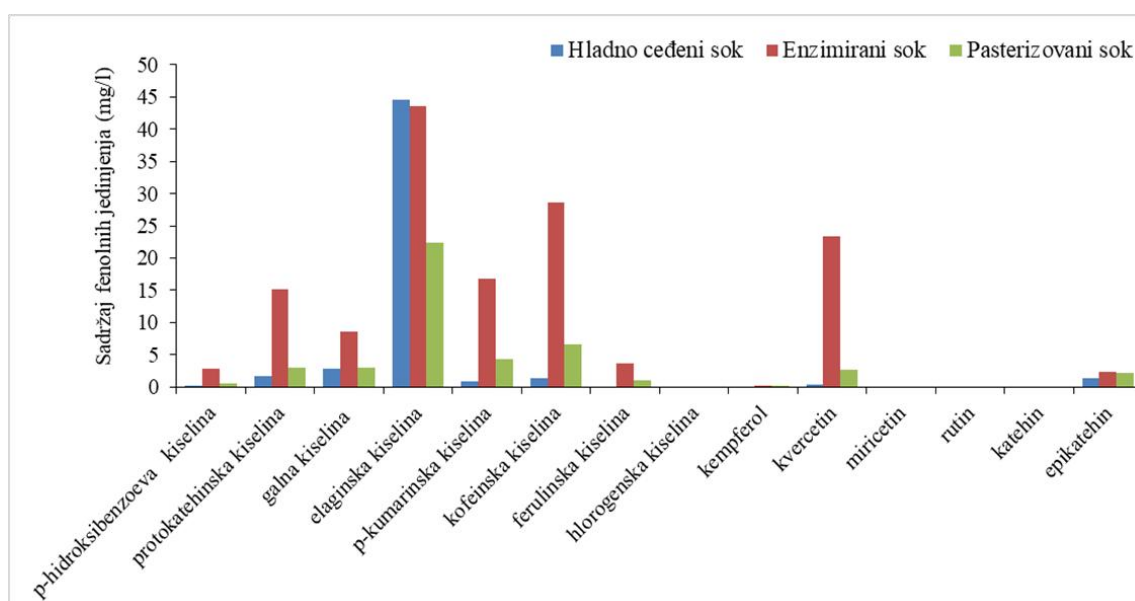
339. Yang, J., Paulino R., Janke-Stedronsky, S., Abawi, F. (2007): Free radical scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chemistry* 102: 302-308.
340. Young, I.S., Woodside, J.V. (2001): Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 54: 176-186.
341. Zadernowski, R., Naczka, M., Nesterowicz, J. (2005): Phenolic acid profiles in some small berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(6): 2118-2124.
342. Zhao, Y., Wang, J., Balleve, O., Luo, H., Zhang, W. (2012): Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. *Hypertension Research* 35: 370-374.
343. Zhao, Y. (2007): Berry fruit. Value-added products for health promotion. CRS Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida, USA.
344. Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999): The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.
345. Zlatković, B. (2003): Tehnologija prerade i čuvanja voća. Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun.

## PRILOZI

## PRILOG 1

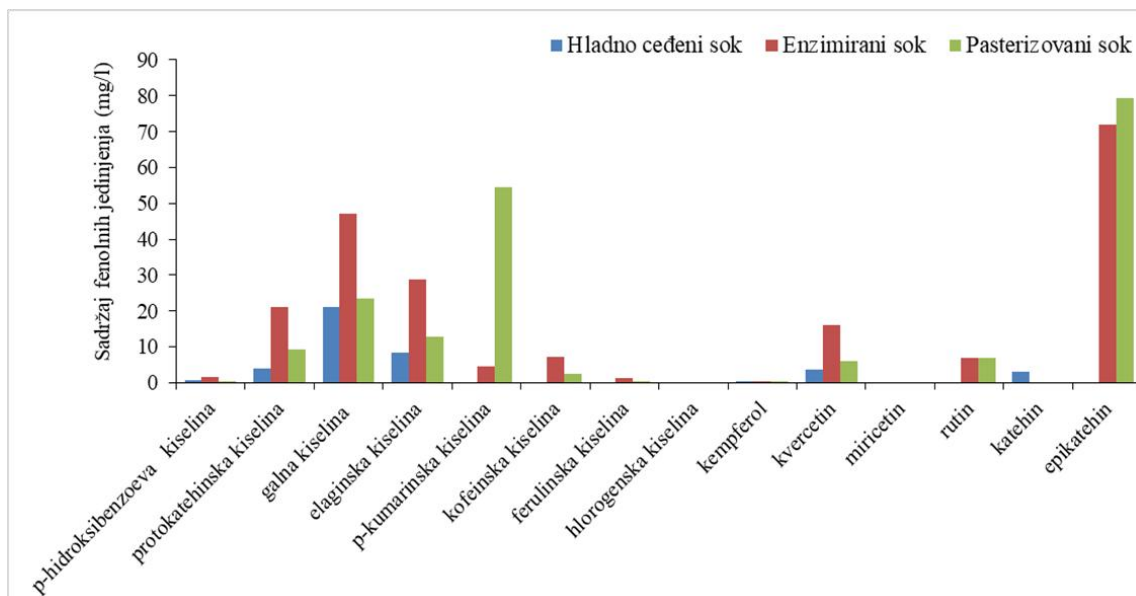


Slika 1.1 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima sokova jagode

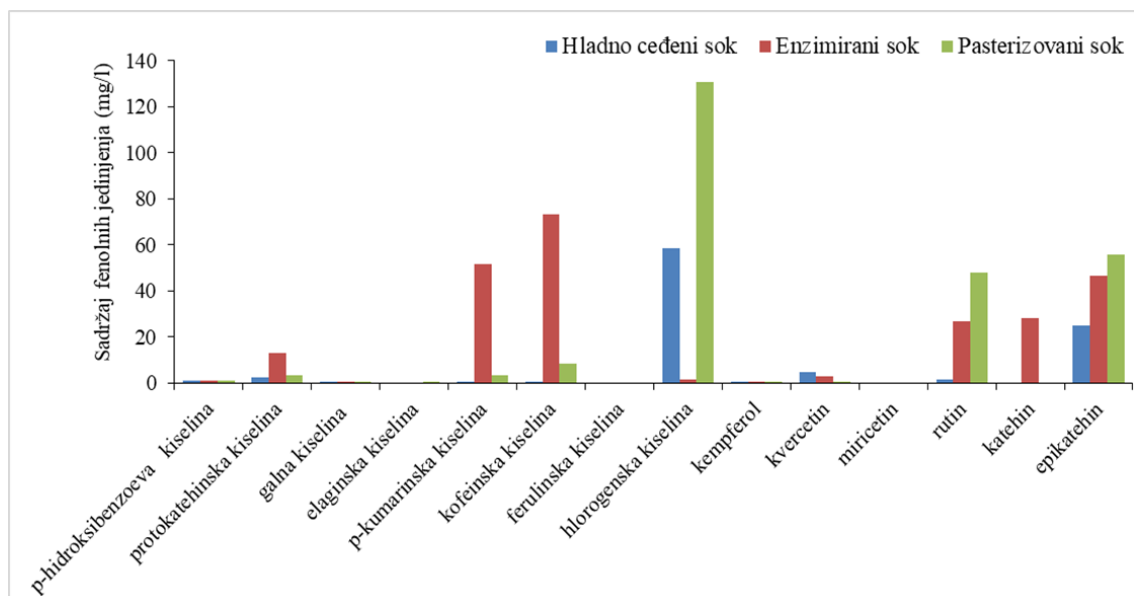


Slika 1.2 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima sokova maline

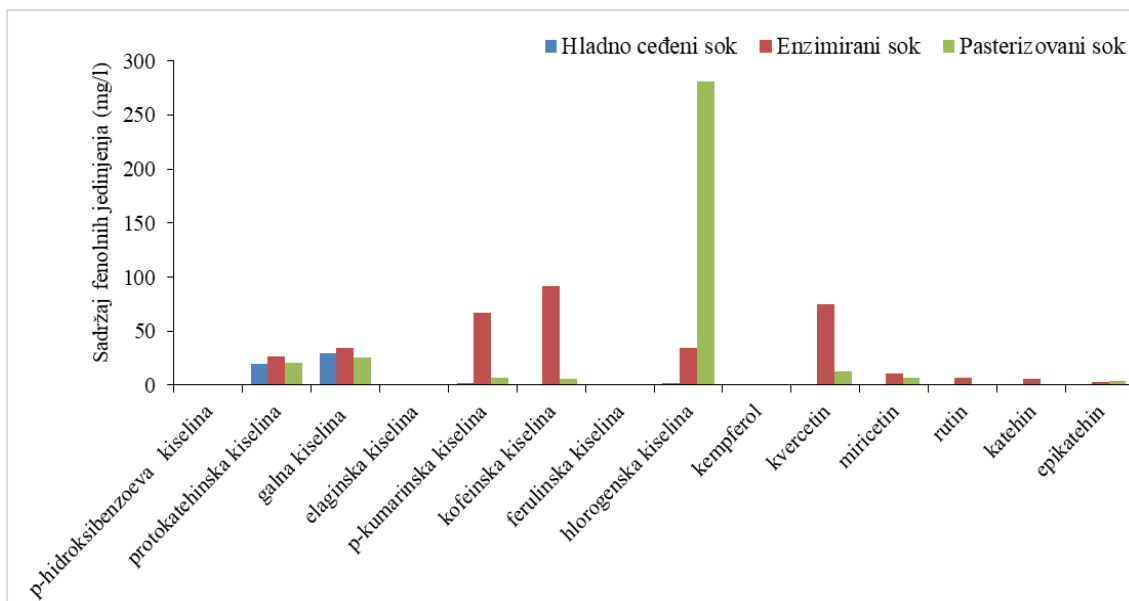




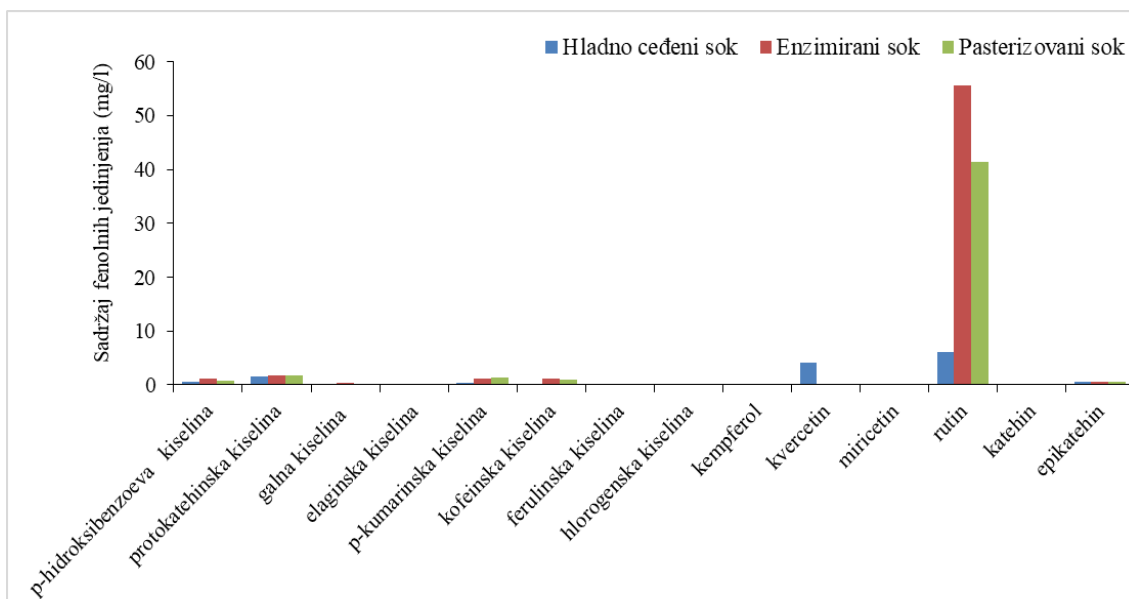
Slika 1.3 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima sokova kupine



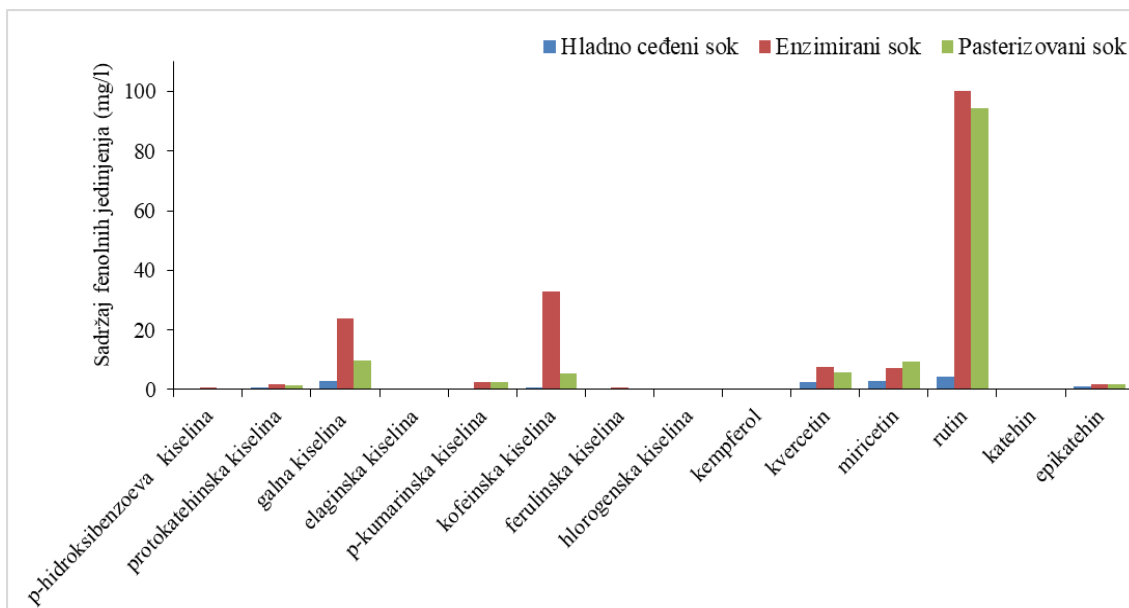
Slika 1.4 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima sokova višnje



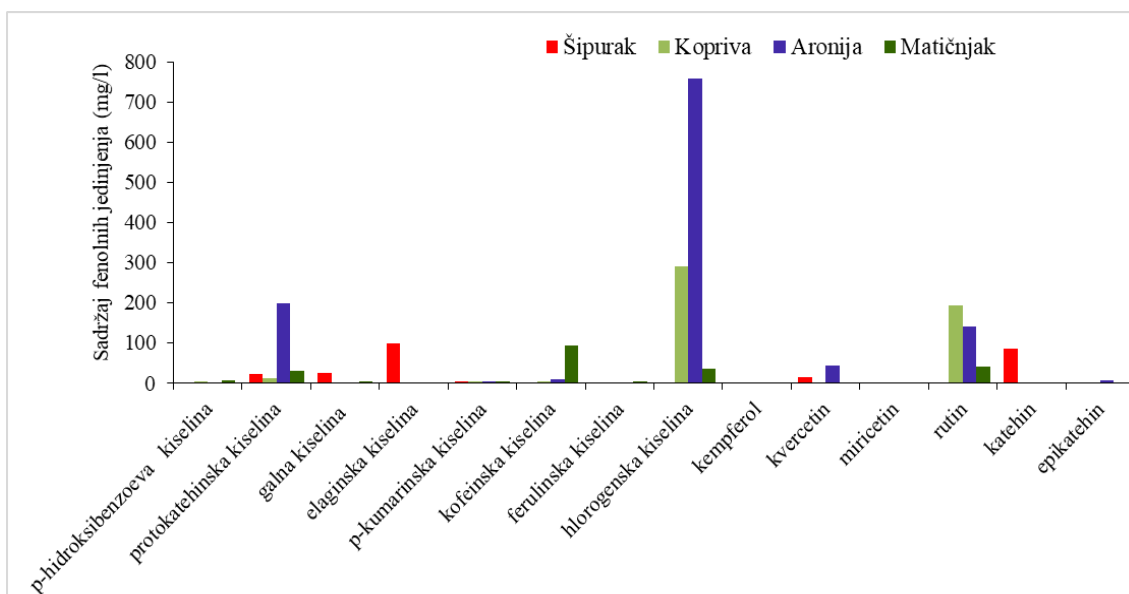
Slika 1.5 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima sokova borovnice



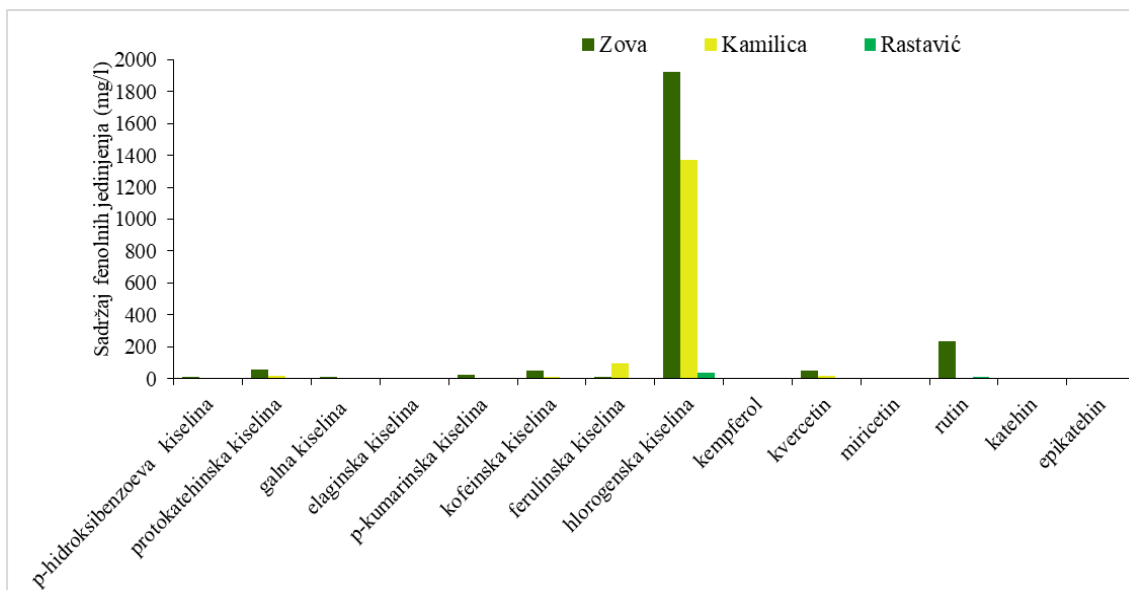
Slika 1.6 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima sokova crvene ribizle



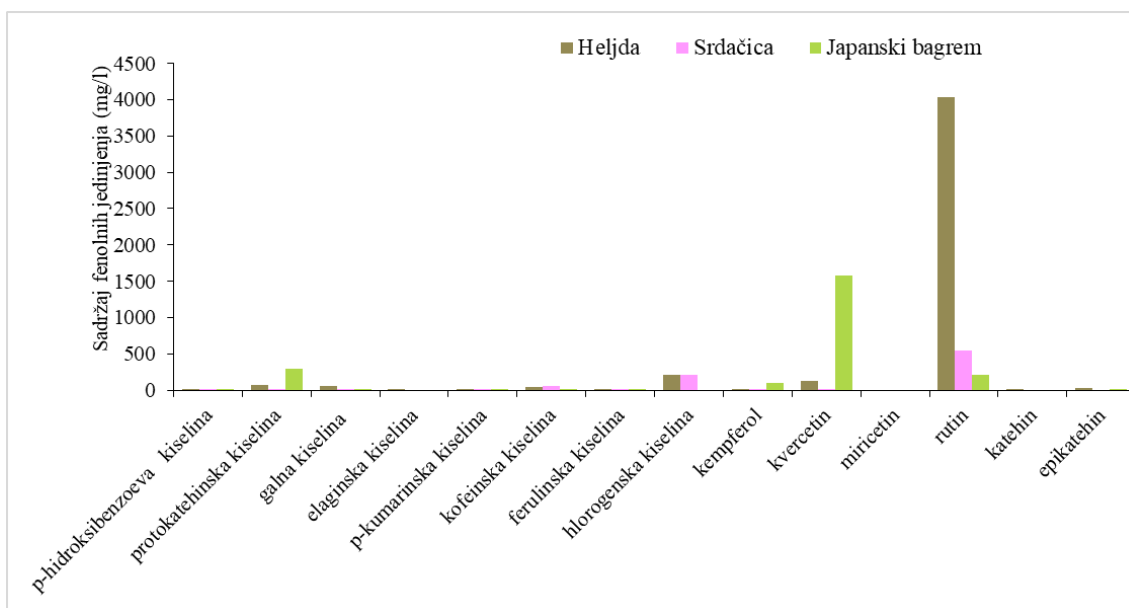
Slika 1.7 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u uzorcima sokova crne ribizle



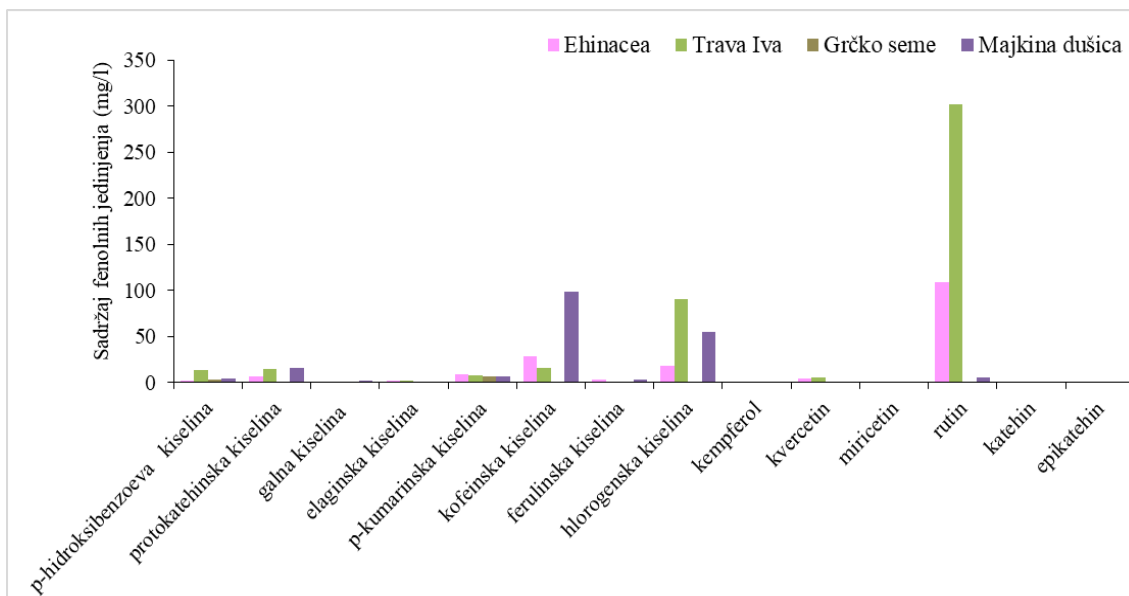
Slika 1.8 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u ekstraktima šipurka, koprive, aronije i matičnjaka



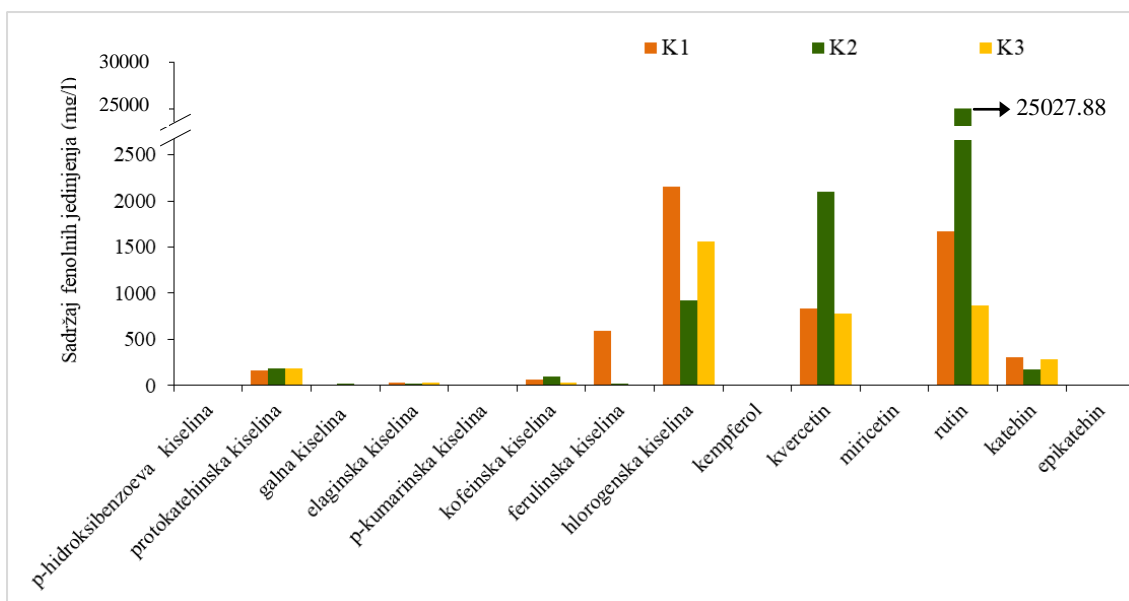
Slika 1.9 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u ekstraktima zove, kamilice i rastavića



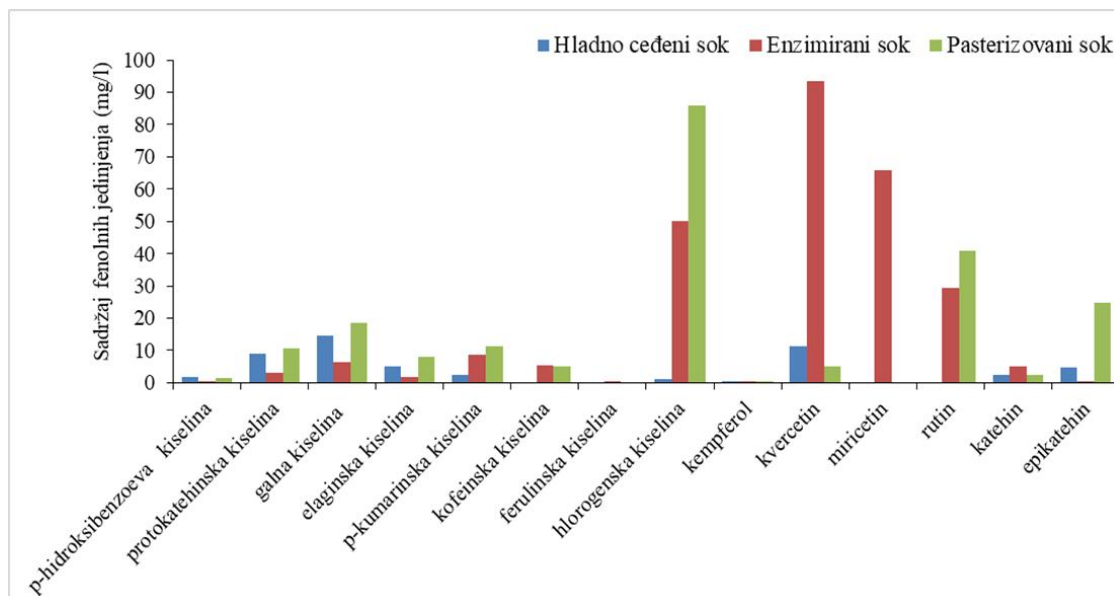
Slika 1.10 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u ekstraktima heljde, srdačice i japanskog bagrema



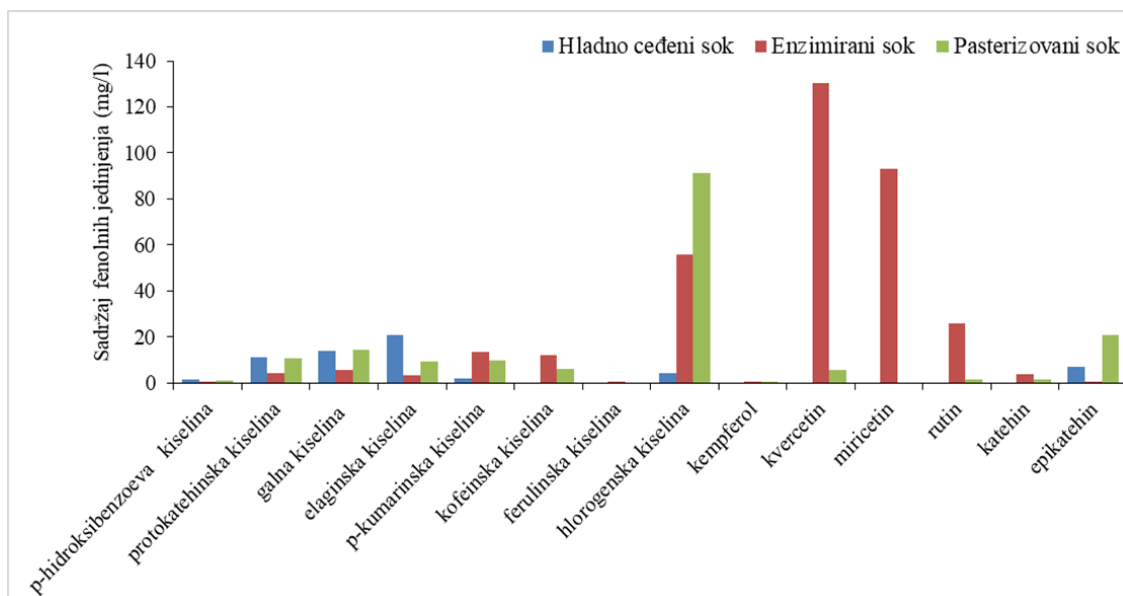
Slika 1.11 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u ekstraktima ehinacee, trave ive, grčkog semena i majkine dušice



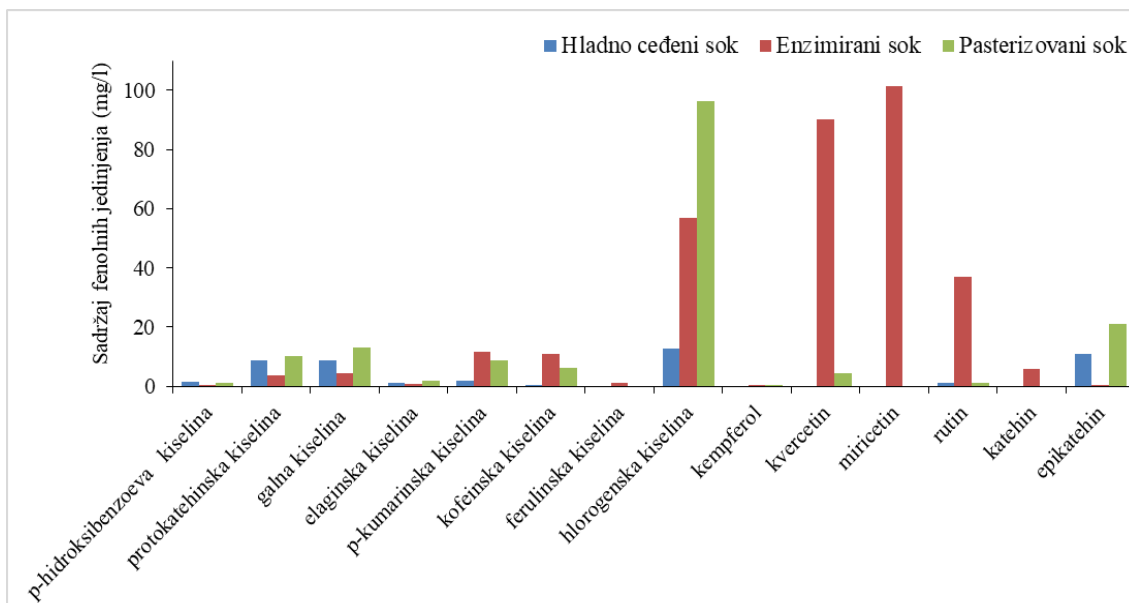
Slika 1.12 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u ekstraktima K1, K2 i K3



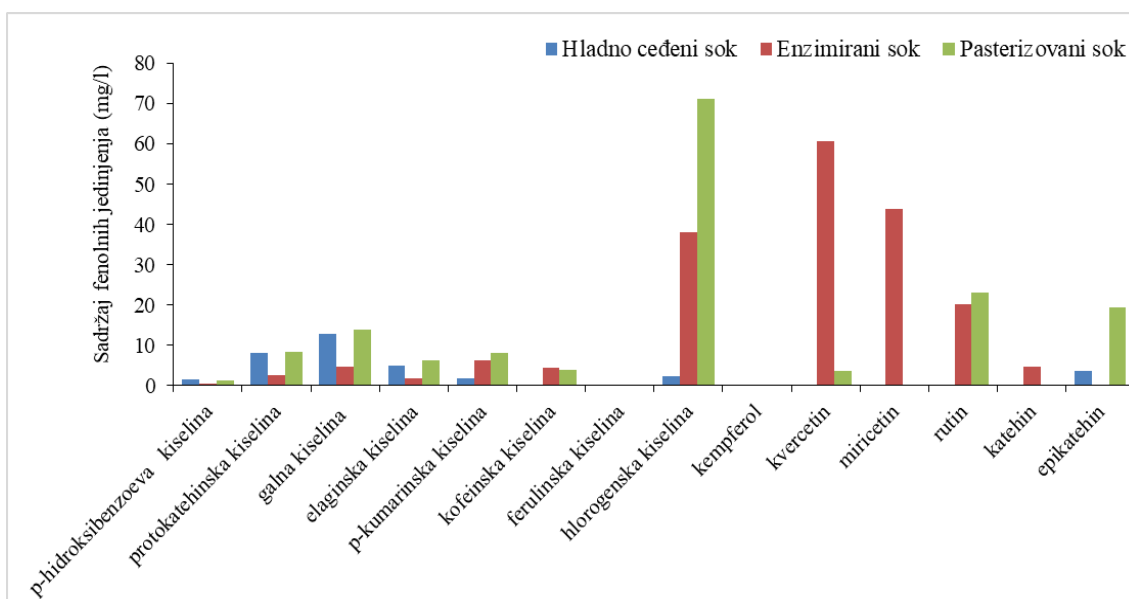
Slika 1.13 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u mešavinama sokova D1



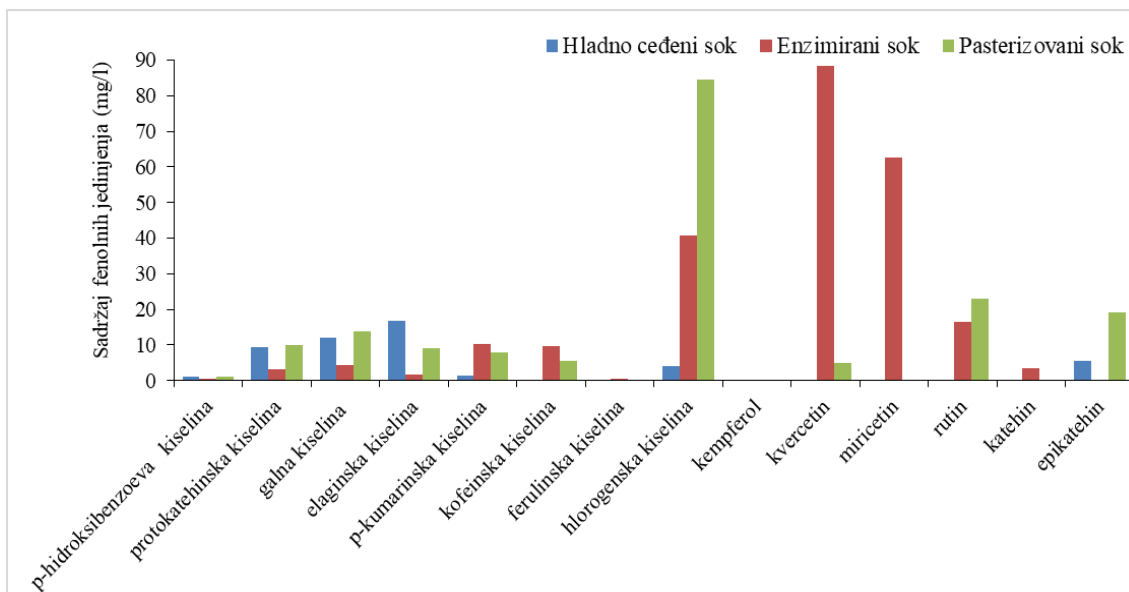
Slika 1.14 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u mešavinama sokova D2



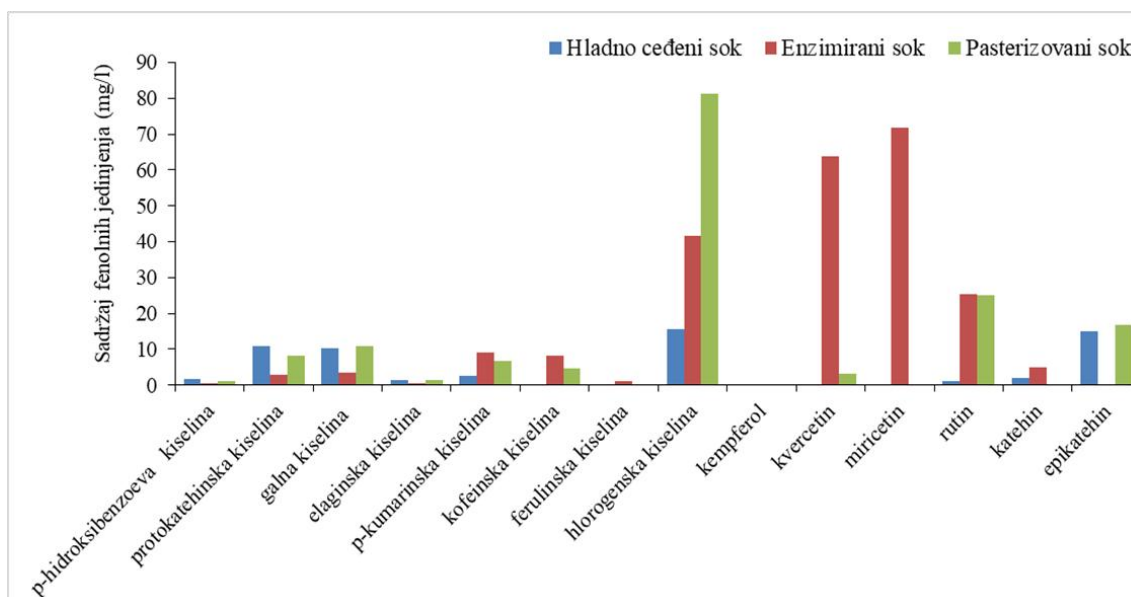
Slika 1.15 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u mešavinama sokova D3



Slika 1.16 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u mešavinama sokova JD1

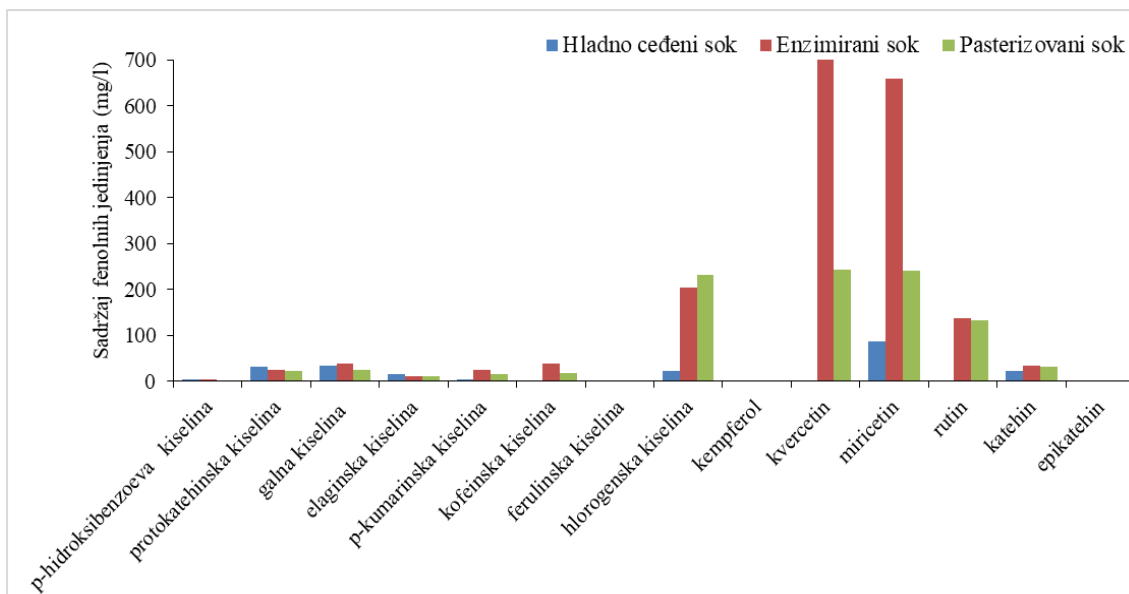


Slika 1.17 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u mešavinama sokova JD2

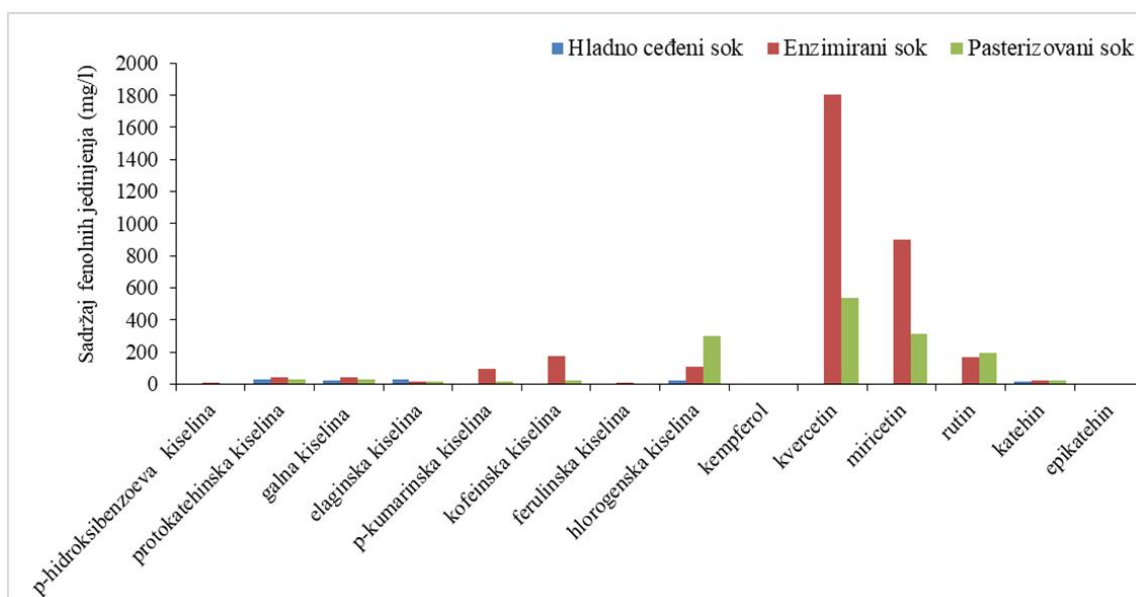


Slika 1.18 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u mešavinama sokova JD3

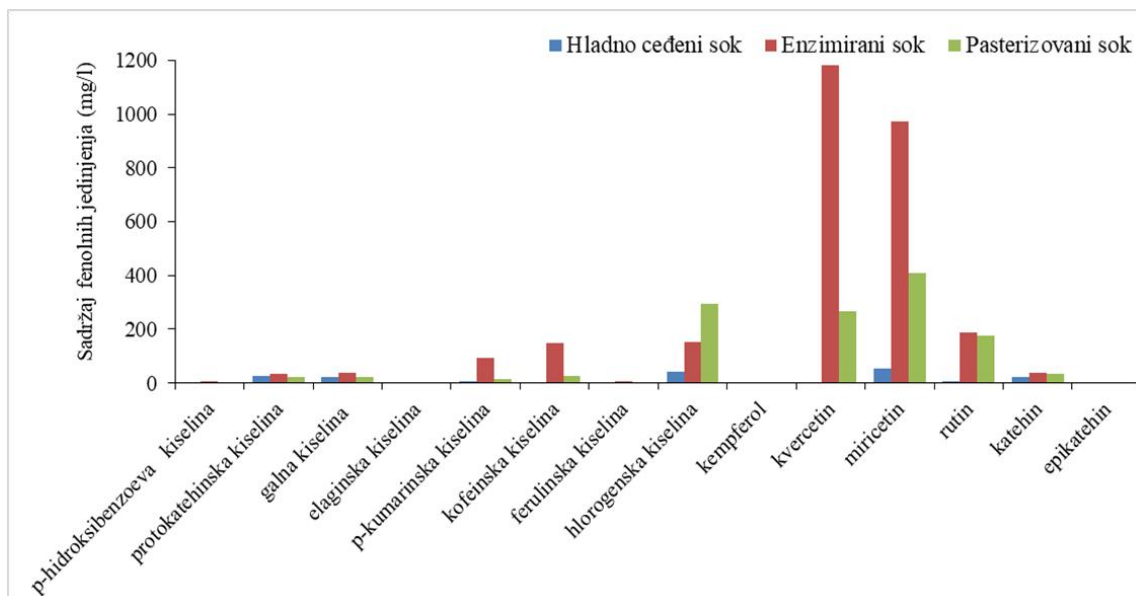




Slika 1.19 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u bezalkoholnim pićima KD1



Slika 1.20 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u bezalkoholnim pićima KD2



Slika 1.21 - Sadržaj fenolnih kiselina i flavonoida u bezalkoholnim pićima KD3

## BIOGRAFIJA AUTORA

Jasmina Rajić rođena je 29.07.1980. godine u Jagodini, Republika Srbija. Osnovnu školu završila je u Rekovcu, a srednju školu (Gimnazija, prirodno-matematički smer) u Jagodini. Diplomirala je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2005. godine sa prosečnom ocenom u toku studija 8.67. Diplomski rad pod nazivom „Aromatizovanje piva ekstraktima lekovitih i aromatičnih trava i mogućnost korigovanja senzornih svojstava aromatizovanih piva dodatkom ekstrakta lipe (*Tilia sp.*)” odbranila je sa ocenom 10. Doktorske studije upisala je na istom fakultetu, na smeru Prehrambena tehnologija školske 2007/08. godine.

U periodu od 2006-2009. i od 2010-2011. godine bila je stipendista Ministarstva nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. U periodu od 2006. godine imala je angažovanje na projektima: TR-7049B, III 20049, III 46010 i III 46001. U periodu od 2009-2010. godine bila zaposlena je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, kao saradnik u nastavi, a od 2013-2017. godine kao istraživač saradnik na projektu „Razvoj i primena novih i tradicionalnih tehnologija u proizvodnji konkurentnih prehrambenih proizvoda sa dodatom vrednošću za evropsko i svetsko tržište - STVORIMO BOGATSTVO IZ BOGATSTVA SRBIJE“, III 46001, na istom fakultetu. Od 2006-2015. godine uključena je u izvođenje laboratorijskih vežbi iz predmeta „Ambalaža i pakovanje hrane“ i „Principi konzervisanja hrane“. Autor je ili koautor 17 naučnih radova. Od 2017. godine je kao nastavnik zaposlena u Visokoj inženjerskoj školi strukovnih studija - Tehnikum Taurunum u Zemunu. Udata je i majka Viktora i Alekse.

**Prilog 1.**

**Izjava o autorstvu**

Ime i prezime autora: Jasmina Rajić

Broj indeksa: 07/24

**Izjavljujem**

da je doktorska disertacija pod naslovom:

“Antioksidativnost bezalkoholnih pića na bazi voćnih sokova i ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis autora**

U Beogradu, 2018. godine

\_\_\_\_\_

**Prilog 2.**

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije  
doktorskog rada**

Ime i prezime autora: Jasmina Rajić

Broj indeksa: 07/24

Studijski program: Prehrambena tehnologija

Naslov rada: “Antioksidativnost bezalkoholnih pića na bazi voćnih sokova i ekstrakata  
lekovitog i aromatičnog bilja”

Mentor: dr Tanja Petrović, vanredni profesor;

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjena u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu.**

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu, 2018. godine

\_\_\_\_\_

### Prilog 3.

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

“Antioksidativnost bezalkoholnih pića na bazi voćnih sokova i ekstrakata lekovitog i aromatičnog bilja”

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerada
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

**Potpis autora**

U Beogradu, 2018. godine

\_\_\_\_\_

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.